

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLAR ANABİLİM DALI  
Prof. Dr. EMEL FETİL

**KUTAN LUPUS ERİTEMATOZUS  
DERİ LEZYONLARINDA MATRİKS  
METALLOPROTEİNAZ-9 DÜZEYLERİ**

Dr. GÖKŞEN YÜCEL

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Şebnem Aktan

İZMİR 2010

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLAR ANABİLİM DALI  
Prof. Dr. EMEL FETİL

**KUTAN LUPUS ERİTEMATOZUS  
DERİ LEZYONLARINDA MATRİKS  
METALLOPROTEİNAZ-9 DÜZEYLERİ**

Dr. GÖKŞEN YÜCEL

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Şebnem Aktan

## **TEŞEKKÜR**

Tez danışmanlığımı yapan ve tezimin her aşamasında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Şebnem Aktan'a, uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum sayın hocalarım Prof. Dr. Emel Fetil, Prof. Dr. Ali Tahsin Güneş, Prof. Dr. Oktay Avcı, Prof. Dr. Şebnem Özkan, Doç Dr. Turna İlkur'a, sayın uzmanlarım Uzm. Dr. Sevgi Akarsu ve Uzm. Dr. Ergün Kuşku' ya ve tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca uzmanlık tezimin biyokimyasal incelemelerini gerçekleştiren sayın Didem Keleş ve Prof. Dr. Gülgün Oktay'a teşekkürlerimi sunarım. Son olarak tez çalışmamda yardımlarından ötürü kardeşim Teoman Yücel'e, tüm eğitim hayatım boyunca bana destek olan babam Cahit Yücel, annem Serpil Yücel ve ablam Selcen Yücel'e sevgilerimle.

Şubat 2010

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
RESİM LİSTESİ	viii
ÖZET VE ANAHTAR SÖZCÜKLER	1
ABSTRACT – KEY WORDS	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1 . Lupus Eritematozus	6
2.1.1 Tarihçe	6
2.1.2 Tanım	6
2.1.3 Epidemiyoloji	6
2.1.4 Etyopatogenez	7
2.1.5 Sınıflama Kriterleri	14
2.1.6 Klinik Belirtiler	15
2.1.7 Aktivite İndeksleri	25
2.1.8 Serolojik Testler	27
2.1.9 Sağaltım	28
2.1.10 Prognoz	34

2.2 . Ekstrasellüler Matriks ve Matriks Metalloproteinazları	36
Önemi	
2.2.1 Gelatinazlar	36
2.2.2 MMP'lerin Yapısı	37
2.2.3 MMP Aktivitesinin Düzenlenmesi	37
2.2.4 MMP-9	38
2.2.5 Lupus ve MMP-9	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM	44
3.1. Biyokimyasal Analizler İçin Doku Örneklerinin Hazırlanması	44
3.2. MMP-9 Aktivitesinin Gelatin Zimografi ile Belirlenmesi	45
3.3. TIMP-1 ELİSA Yöntemiyle Tayini	47
3.4. İstatistiksel Analiz	49
4. BULGULAR	50
4.1. Demografik ve Klinik Özellikler	50
4.2. KLE'de Lezyonel ve Perilezyonel Normal Deride MMP-2 MMP-9 Aktivite ve TIMP-1 Düzeyleri	54
4.3. MMP-2, MMP-9 Aktivite ve TIMP-1 Düzeylerinin Klinik ve Laboratuar Parametrelerle İlişkisi	57
4.4. MMP-2, MMP-9 Aktivite ve TIMP-1 Düzeylerinin ANA ve KLAŞİ ile Korelasyonu	59

4.5.	MMP-2 ve MMP-9 Aktivite ve TIMP-1 Düzeylerinin Sigara Kullanımı ve KLAŞI ile İlişkisi	61
5.	TARTIŞMA	63
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	71
7.	KAYNAKLAR	73

## KISALTMALAR LİSTESİ

LE:	Lupus eritematozus
SLE:	Sistemik lupus eritematozus
DLE:	Diskoid lupus eritematozus
KLE:	Kutan lupus eritematozus
AKLE:	Akut kutan lupus eritematozus
SKLE:	Subakut kutan lupus eritematozus
ANA:	Antinükleer antikor
KKLE:	Kronik kutan lupus eritematozus
IF:	İmmunflorasan inceleme
DHEA:	Dihidroepiandrosteron
UVR:	Ultraviyole radyasyonu
DH:	Dendritik hücreler
TBR:	” <i>Toll</i> ” benzeri reseptörler
dsDNA:	Çift sarmal DNA
TNF- $\alpha$ :	Tümör nekrozis faktör- $\alpha$
HLA:	İnsan lökosit antijen
LT:	Lupus timidus
LBT:	Lupus bant testi
SLEDAI:	SLE aktivite indeksi
SLAM:	SLE aktivite ölçümü
FDA:	“ <i>Food and Drug Administration</i> ”
SSS:	Santral sinir sistemi

BILAG:	<i>"British Isles Lupus Activity Group"</i>
KLAŞI:	Kutan lupus sayrılık alan ve Şiddet indeksi
G6PD:	Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz
ESM:	Ekstrasellüler matriks
MMP:	Matriks metalloproteinaz
TIMP:	Matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri
MT-MMP:	Membran tipi matriks metalloproteinaz
EGF:	Epidermal büyüme faktörü
IL-1:	İnterlökin-1
TGF-β:	Transforme edici büyüme faktörü β
UPA:	Ürokinaz-tip plazminojen aktivatörü
MBP:	<i>"Myelin basic protein"</i>
PKMH:	Periferel kan mononükleer hücreleri
LP:	Liken planus
HRKL:	Hidroksiklorokin
EBV:	Epstein-Barr virus
BCA:	Biçinkoninik Asit
BSA:	Sığır serum albumin
ELISA:	<i>"Enzim-Linked-İmmün Sorbent Assay"</i>
SPSS:	<i>"Statistical Package for Social Science"</i>



## **TABLO LİSTESİ**

**Tablo 1:** Kutan lupus alan ve şiddet indeks (KLAŞİ)

**Tablo 2:** KLE sağaltımı

**Tablo 3:** MMP'lerin sınıflandırması

**Tablo 4:** MMP-9'u uyaran ve baskılayan faktörler

**Tablo 5:** MMP-9 regülatörleri

**Tablo 6:** Lezyon KLAŞİ değerlendirilmesi

**Tablo 7:** BSA standart grafiği

**Tablo 8:** TIMP-1 standart grafiği

**Tablo 9:** KLE'li olguların klinik özellikleri

**Tablo 10:** Olguların lezyon ve total KLAŞİ değerleri

**Tablo 11:** Lezyonel deri ve perilezyonel normal deride aktif ve pro MMP-2, aktif ve pro MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri

**Tablo 12:** Lezyonel deri ve perilezyonel normal deride aktif/pro MMP-2, aktif/pro MMP-9 ve aktif MMP-9/TIMP-1 oranları

**Tablo 13:** Olguların klinik ve laboratuvar özellikleri ile aktif, pro MMP-2, aktif, pro MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri arasındaki ilişki

**Tablo 14:** MMP-2, MMP-9 aktivite ve TIMP-1 düzeylerinin KLAŞİ ve ANA ile ilişkisi

**Tablo 15:** Kutan lupuslu olgularda sigara kullanımı KLAŞİ ilişkisi

**Tablo 16:** MMP-2, MMP-9 aktivite ve TIMP-1 Düzeylerinin KLAŞİ ile ilişkisi

**Tablo 17:** MMP-2, MMP-9 aktivite ve TIMP-1 Düzeylerinin toplam hasar ile ilişkisi

## **RESİM LİSTESİ**

**Resim 1:** Dört olguda lezyonlu deride(A) ve perilezyonel normal deride(B) MMP-9, MMP-2'nin aktif ve pro formlarının gelatin zimografi görüntüsü

**Resim 2:** Klasik DLE'li bir olgunun yüz lezyonları

**Resim 3:** SKLE'li bir olgunun gövde lezyonları

**Resim4:** SLE'li bir olguda ait sikatrissiyel saçlı deri lezyonları

## **ŞEKİL LİSTESİ**

**Şekil 1:** MMP aktivitesinin düzenlenmesi

**Şekil 2:** Lezyonel ve perilezyonel deri aktif ve pro MMP-9 düzeyleri grafiği

**Şekil 3:** Lezyonel ve perilezyonel deri aktif ve pro MMP-2 düzeyleri grafiği

**Şekil 4:** Lezyonel ve perilezyonel deri TIMP-1 düzey grafiği

## ÖZET

### **Kutan Lupus Eritematozus Deri Lezyonlarında Matriks Metalloproteinaz-9 Düzeyleri**

Dr. Gökşen Yücel,

Deri ve Zührevi Hastalıklar AD, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnciraltı/İZMİR

Lupus eritematozus (LE), genetik, hormonal ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıkan, aktivasyon ve remisyon dönemleriyle seyreden kronik autoimmün bir sayrılıktır. Matriks metalloproteinazlar(MMP) hücre-matriks oluşumunu düzenleyen, proteolitik aktiviteleri sırasında çinko kullanan büyük bir enzim grubudur. Birçok normal biyolojik işlemde gerekli olmalarının yanı sıra inflamasyon ve artrit gibi patolojik olaylarda da rol oynarlar. MMP ailesinin en kompleks ve en büyük elemanı olan MMP-9, keratinosit ve monosit, doku makrofajları, polimorfonükleer lökositler ve bir grup malin hücre tarafından salgınır; özgün doku inhibitörlerinden TIMP-1 tarafından inhibe edilir. Bazal membranın önemli bir bileşeni olan tip IV kollajeni ayıran MMP-9, limfosit ve diğer lökositlerin kan ve limf dolaşımına girip çıkmasına olanak sağlar; ayrıca myelin bileşiklerini parçalayarak autoimmüniteyi başlatan epitoplara ortaya çıkmasına neden olur. Sistemik LE (SLE) patogenezinde MMP-9'un rol oynadığı ileri sürülmektedir. Kutan LE (KLE) patogenezinde ise MMP ve TIMP'in rolü tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar kliniğinde kutan lupus tanısı ile izlenen olguların lezyonel ve perilezyonel deri biyopsilerinde MMP-9, MMP-2 aktivite düzeyleri ve TIMP-1 düzeyleri ölçüldü. MMP-2 ve MMP-9 aktivite düzeyleri ve TIMP-1 düzeylerinin klinik, laboratuvar bulgular ve kutan LE klinik şiddeti ile ilişkisi araştırıldı.

Olguların lezyonel deri örneklerinde, normal deri ile karşılaştırıldığında MMP-2, MMP-9 ve pro MMP-9 aktiviteleri ve TIMP-1 düzeyleri anlamlı derecede yüksek olarak belirlendi(p=0,002; p=0,003; p=0,046). Kadın olgularda aktif/pro MMP-9 oranı erkek olgulara göre anlamlı olarak yüksek idi(p=0,038). Sigara kullanan olgularda kullanmayanlara göre aktif/pro MMP-9 oranı anlamlı derecede yüksek idi(p=0,026). Yaşı ortalamasının üzerinde olan olgularda aktif MMP-9 ve aktif/pro MMP-9 oranı genç olgulara göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı(p=0,014; p=0,003). Lezyon klinik şiddeti ile ANA pozitifliği, aktif/pro

MMP-2 ve aktif/pro MMP-9 oranları arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı( $p=0,04$ ;  $p=0,027$ ;  $p=0,015$ ).

Sonuç olarak bu veriler ışığında KLE patogenezinde MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerindeki artışın rol oynadığı ve MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerinin kutan sayrılık şiddetiyle ilişkili olduğu düşünülebilir. Ancak KLE patogenezinde MMP'ların tam olarak yerini ve kaynağını ortaya koyacak ileri çalışmalara gerek bulunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Kutan lupus eritematozus, matriks metalloproteinaz-9, matriks metalloproteinaz-2, matriks metalloproteinaz özgün doku inhibitörleri (TIMP-1)

## **SUMMARY**

### **Matrix Metalloproteinase-9 Levels in Cutaneous Lupus Erythematosus Lesions**

GÖKŞEN YÜCEL MD,

Department of Dermatology and Venereology, University of Dokuz Eylül, İnciraltı/İZMİR

Lupus erythematosus (LE), a chronic autoimmune disease that progress with remissions and exacerbations is believed to result from the interplay of hormonal, environmental and genetic factors. Matrix metalloproteinases are a major group of enzymes that regulates cell-matrix composition by using zinc for their proteolytic activities. They are essential for various normal biological processes. Besides, they also play a role in pathological processes such as inflammation and arthritis. MMP-9 is the largest and most complex member of the MMP family and it is produced by selected cell types including keratinocytes, monocytes, tissue macrophages, polymorphonuclear leukocytes, and by a variety of malignant cells, while it is inhibited by specific tissue proteins-the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP). It cleaves type IV collagen which is the major component of the basal membranes; thus helps lymphocytes and other leukocytes to enter and leave the blood and lymph circulations. In addition, MMP-9 also cleaves myelin compounds leading to remnant epitopes that can generate autoimmunity. MMP-9 has been implied to participate in the pathogenesis of systemic LE. The role of MMP and TIMP in the pathogenesis of cutaneous LE (CLE) is elusive. Lesional and perilesional skin biopsies were obtained from 22 patients with CLE who had been followed by Dokuz Eylül University Department of Dermatology and Venerology clinic and concentrations of MMP-2, MMP-9 activity levels and TIMP-1 levels were investigated in skin biopsy specimens. The correlations between clinical, laboratory parameters and cutaneous disease severity with MMP-2, MMP-9 activity levels TIMP-1 levels were explored.

In the lesional skin samples, MMP-2, MMP-9, pro MMP-9 and TIMP-1 levels were found to be significantly higher than that of the normal skin samples ( $p=0,002$ ;  $p=0,003$ ;  $p=0,046$ ). Active/pro MMP-9 rate was significantly higher in female patients than the male patients( $p=0,038$ ). Active MMP-9 level and active/pro MMP-9 rate was significantly higher in patients who smoke ( $p=0,026$ ). The patients with ages higher than the median level had significantly higher active MMP-9 and active/pro MMP-9

rate levels than younger patients ( $p=0,014$ ;  $p=0,003$ ). There was also a significantly positive correlation between lesional cutaneous disease severity and ANA positivity, active/pro MMP-2 and active/pro MMP-9 rates ( $p=0,04$ ;  $p=0,027$ ;  $p=0,015$ ).

In conclusion, the results of our study suggest that MMP-2 and MMP-9 activities play a role in the pathogenesis of CLE and the activities of skin MMP-2 and MMP-9 are correlated with cutaneous disease severity. Further studies are needed to confirm the exact role and source of MMP's in cutaneous lupus erythematosus.

**Key Words:** Cutaneous lupus erythematosus, matrix metalloproteinase-9, matrix metalloproteinase-2, the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP)

## **1. GİRİŞ ve AMAC**

Lupus eritematozus (LE) , genetik yatkınlığı olan bireylerde hormonal ve çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkan, aktivasyon ve remisyon dönemleriyle seyreden, autoantikor ve immun kompleks üretimi ve anormal bir immun yanıt ile ilişkili olan heterojen kronik bir autoimmün sayrılıktır(1, 2). LE olgularının %85'inde kutan lezyonlar görülür; yaklaşık %20 olguda da sayrılık kutan bulgularla başlar(2).

Matriks metalloproteinazları (MMP), proteolitik aktiviteleri için çinkoyu kullanarak hücre-matriks yapısını düzenleyen önemli bir enzim grubudur. Embriyonik gelişim ve morfogenez gibi birçok normal biyolojik işlemde gerekli olmalarının yanı sıra inflamasyon, artrit, kardiyovasküler sayrılık, pulmoner sayrılık ve kanser gibi patolojik olaylarda da rol oynarlar(3, 4). MMP ailesinin en kompleks ve en büyük elemanı olan MMP-9, keratinosit, monosit, doku makrofajları, polimorfonükleer lökositler ve bir grup malin hücre tarafından salgınır; özgün doku inhibitörlerinden TIMP-1 tarafından inhibe edilir. Bazal membranın önemli bir bileşeni olan tip IV kollajeni ayıran MMP-9, limfosit ve diğer lökositlerin kan ve limf dolaşımına girip çıkmasına olanak sağlar. Ayrıca myelin bileşiklerini parçalayarak autoimmüniteyi başlatan epitoplara ortaya çıkmasına neden olur(3, 5). MMP-9, autoimmün sayrılıklarda da birincil veya ikincil rol oynamakta; birçok regülatuar molekül tarafından indüklenmekte veya baskılanmaktadır. Bu özellik de MMP-9'u birçok autoimmün sayrılığın sağaltımında olası hedeflerden biri yapmaktadır(3).

Sistemik LE (SLE) patogeneğinde MMP-9'un rol oynadığı ileri sürülmektedir. Kutan LE (KLE) etyopatogeneğinde ise MMP ve TIMP'in rolü tam olarak bilinmemektedir. Literatürde kutan LE lezyonel deri biyopsilerinde MMP ve TIMP düzeylerinin immünohistokimyasal olarak araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır(3, 6, 7). Ancak kutan LE' de deri lezyonlarında MMP-9, MMP-2 aktivite düzeyleri ve TIMP-1 düzeyleri ile ilgili veri bulunmamaktadır.

Bu çalışmada KLE'li olguların lezyonlu deri ve perilezyonel normal deri örneklerinde zimografi ile MMP-2 ve MMP-9'un aktif ve pro formları ve TIMP-1 düzeyleri ölçülmüş ve bu enzim düzeyleri ile kutan LE klinik şiddeti ve diğer klinik özellikler arasındaki olası ilişki araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar kliniğinde kutan lupus tanısı ile izlenen olguların lezyonel ve perilezyonel deri biyopsilerinde

MMP-9, MMP-2 aktivite düzeyleri ve MMP-9'un dokuya spesifik inhibitörü olan TIMP-1 düzeyleri ölçülmüş ve MMP-2 ve MMP-9 aktivite düzeyleri ve TIMP-1 düzeylerinin klinik ve laboratuvar bulgular ve kutan LE klinik şiddeti ile ilişkisi değerlendirilmiştir.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1.1. Tarihçe**

On dokuzuncu yüzyılda hiperemik ve atrofik özellikte bir grup sayrılık, lezyonların bir kurt tarafından kemirilmiş görünümünden dolayı Latince kurt anlamındaki lupus'dan esinlenilerek LE olarak adlandırılmıştır(8). Cazenave 1851 yılında ilk kez '*Lupus erythemateaux*' terimini kullanmış ve bir kutan tuberküloz varyantı olan lupus vulgaris ile lupus eritematozus arasındaki farkın anlaşılabilmesine öncülük etmiştir (8, 9). Hebra SLE ile birlikte görülen yüzdeki lezyonları tanımlamış, Kaposi ise Hebra tarafından tanımlanan bu yüz lezyonları için ilk kez kelebek şeklinde betimlemesini kullanmıştır. Daha sonra Dubois, kutan lezyonlardan hayatı tehdit edici iç hastalığa kadar değişen spektrumda olabilen lupus hastalığı kavramını geliştirmiştir(9, 10). Lupusun deri lezyonları olmaksızın da sistemik tutulum yapabileceği 1936 yılından sonra anlaşılmıştır(8).

### **2.1.2. Tanım**

LE, klinik olarak lokalize kutan tutulumdan sinir sistemi hastalığı veya vaskülit gibi mortalite riski olan sistemik tutulumu kadar değişkenlik gösteren, başlıca nukleozomlar ve ribonukleoproteinlere karşı otoimmünite gelişimi ile karakterize bir sayrılıklar spektrumudur(10). KLE tanımlanması ve sınıflandırılması ilk olarak J.N. Gilliam tarafından yapılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre lupus eritematozusun deri bulguları histopatolojik olarak lupus eritematozusa özgün olan ve olmayan olarak ikiye ayrılarak sınıflandırılmıştır(8, 10, 11).

### **2.1.3. Epidemiyoloji**

LE'de deri tutulumu eklem tutulumundan sonra en sık görülen klinik belirtidir ve hastaların yaklaşık yarısında farklı derecelerde iş yaşamında güçlükler neden olmaktadır(10).

Lupus eritematozusta malar veya kelebek "*rash*" %20-60 oranında bildirilmiştir(10) Akut kutan lupus eritematozus (AKLE), kadınlarda daha siktir (8:1). Tüm ırklarda görülebilmekle beraber koyu deri rengine sahip hastalarda gözden kaçabilir(10).



Diskoid lupus eritematozus (DLE) kronik kutan lupus eritematozusun (KKLE) en sık görülen formudur. Kadınlarda erkeklerden daha sık görülmektedir, oran 2:1 ila 4:1 arasında değişmektedir. Sıklığı siyah kadınlarda 1:200'den fazladır. Sayrılık tipik olarak 20-40 yaş arası genç kadınları etkilemektedir(2, 8, 10). Lokalize DLE hastalarının yaklaşık %5'inde sonradan SLE gelişebilmektedir(8, 10). SLE hastalarının %15-30'unda ise klasik DLE lezyonu bulunmaktadır(10).

Subakut kutan lupus eritematozus (SKLE), DLE veya SLE'den daha seyrek görülmektedir. SKLE'de DLE veya SLE'deki kadın üstünlüğü izlenmemektedir. SKLE, sıklıkla 30-40 yaşlarında başlar, ancak ilaçla tetiklenen olguların 1/3'ünde başlangıç 60 yaş sonrasında görülebilmektedir(2).

SLE kadınların sayrılığıdır; erkek kadın oranı 10:1 şeklindedir(2, 8). Çocuk ve adolesanlarda bu oranı 1:4,4 olarak bildirilmiştir(2, 8). SLE insidansı yılda 1,5-7,5/ 100000 olup, başlangıç yaşı genç erişkinlikte(2, 8). İnsidansı farklı etnik gruplar ve topluluklarda belirgin farklılıklar göstermektedir(9, 12). Cinsiyete göre SLE insidansı beyaz erkeklerde %0,4-0,6; beyaz kadınlarda %3,5-4,6; Afrika kökenli Amerikalı erkeklerde %0,7; Afrika kökenli Amerikalı kadınlarda %9,2 şeklinde değişmektedir(9, 12).

SLE'li erişkin hastalarda 10 yıllık sağkalım oranı %85-92'dir. Genel mortalite oranının sosyoekonomik düzey, kişinin sağlık hizmetlerine ulaşabilmesi, eğitim durumu, ırksal ve etnik durum, endemik infeksiyon oranları, sayrılık aktivitesi, renal ve santral sinir sistemi tutulumu ile değiştiği bildirilmiştir(12).

#### **2.1.4. Etyopatogenez**

LE'de özgün deri sayrılığında sorumlu patogenetik mekanizmalar tam olarak anlaşılammışsa da, kutan LE patogenezi SLE patogenezi ile örtüşmektedir(1, 10). Güncel teoriler genetik yatkınlık, autoimmün tetiklenme ve sonrasında gelişen immün sistem hasarı arasındaki ilişkiyi ele almaktadır(1). Genetik yatkınlık olasılıkla hücrel reaktivite eşiğini düşüren genlerle bağlantılıdır ve ilk yanıt sonrası sürekli bir immün yanıt oluşmasını sağlamakta, son organ hasarının yaygınlık ve tipini belirlemektedir(1). Self tolerans kaybı konakçı faktörleri (genlerdeki yatkınlık, hormonal durum gibi) ve çevresel faktörlerin (UV radyasyonu, virüsler, ilaçlar) etkileşimi sonucu gelişmekte ve autoimmüniteyi tetiklemektedir(1, 10). Tetikleme mekanizmaları; enfeksiyon ajanları tarafından tetiklenen moleküler benzerlik, insan lökosit antijen (HLA) DR'nin anormal ekspresyonu, timik veya

periferal tolerans bozukluğu ve apoptoz sırasında gizli peptidlerin prezentasyonunu içerir. Genişleme fazı kendini tanıma kapasitesi olan B ve T hücrelerinin anormal autoimmün klonal genişlemesinin artarak gelişimini içerir. Sonuçta hasar fazında klinik sayrılık gelişmektedir. Autoantikorlar ve immün kompleksler, doğrudan hücre ölümü, kompleman sisteminin aktivasyonu, opsonizasyon ve hedef moleküllerin fonksiyon inhibisyonu gibi mekanizmalarla doku hasarına neden olmaktadır(1, 10).

## **Konakçı Faktörleri**

### *Genetik Yatkınlık*

LE'de genetik yatkınlığı kardeşlerde görülen risk artışı (20 kat) ve monozigot ikizlerde sayrılık uyumluluğundaki artış desteklemektedir. LE, farklı genetik anormalliklerin sayrılığın farklı klinik fenotiplerine yatkınlık oluşturduğu poligenik, heterogen bir sayrılıktır(10, 13).

İnsanlarda LE özgün deri hastalığı ve serolojik olarak saptanan MHC klas II DR arasındaki genetik ilişki bilinmektedir. Örneğin SKLE ve Sjögren sendromu birlikteliğinde HLA-DR3, DQA1\*,DQB1\* haplotipleri daha sık gözlenmektedir. DLE'li olgularda ise HLA-B7, -B8, -DR3' de belirgin artış, -DQA ve HLA-A2' de belirgin azalma bildirilmiştir. HLA-DR3, HLA- DQA102 ve HLA-B7 birlikteliği DLE için maksimum riski oluşturmaktadır. MHC allellerinin T hücre birikimini şekillendirerek yatkınlık geni olarak rol oynadığı düşünülmekle birlikte, HLA klas II allellerinin özgün otoantikorlar ve hastalığın klinik tipleriyle daha sıkı bir ilişkisi olduğu bilinmektedir(1, 10, 14).

MHC bölgesi dışındaki diğer yatkınlık genleri IL-1 reseptör antagonisti ve TNF- $\alpha$ 'dır. SKLE'li olgularda TNF- $\alpha$  promotor polimorfizminin sıklığında önemli miktarda artış saptanmıştır. Ayrıca TNF- $\alpha$  -308 promotor transkripsiyon induksiyonunda UVB ile ışıkla indüklenen bir sitokin olan IL-1  $\alpha$  arasında çarpıcı bir sinerji olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu polimorfizmin SKLE hastalarındaki fotoduyarlılığa doğrudan katkıda bulunduğunu desteklemektedir. Diğer bir açıklama ise TNF- $\alpha$ 'nın SKLE gibi autoimmün sayrılıklar ile ilişkili genişletilmiş HLA-A1, B08, DRB1 haplotipi için bir belirteç allel olabileceğidir(10, 15).

Erken kompleman bileşenlerinden C1q, C4 ve daha az derecede C2 genetik yetersizliği olan olgularda lupus gelişimine yatkınlık görülür. C1q'nun kongenital total yetersizliği, lupus gelişimi için belirlenen tek ve en güçlü genetik risk faktörüdür(10, 16).

## *Seks Hormonları*

SLE'nin kadınlarda erkeklere göre dokuz kat fazla görülmesi seks hormonlarının immun sistem üzerindeki olası etkilerine bağlanmaktadır. Yüksek seviyelerdeki östrojen ve progesteron humoral autoreaktiviteyi kolaylaştırmaktadır. Lupus olgularında östrojen metabolizasyonu farklılaşır; sağlıklı kontrollere göre düşük / yüksek potensli östrojen oranı 20 kata kadar artabilir. SLE'li olgularda yüksek düzeydeki östrojen; reaktif limfosit sayısında, CD4/CD8 oranında ve kemik iliğinden self-DNA'ya yüksek affinite gösteren B hücre çıkışında artışa neden olur(10, 17).

Diğer yandan androjenler sitokin profilini yardımcı T hücre 1 aracılı immun yanıtı çevirirler. SLE'li kadın ve erkeklerde testosteron, dihidrotestesteron, dihidroepiandrosteron (DHEA) ve DHEA sülfat kullanılabilirliği azalmıştır. Bu gözlemler araştırmacıları SLE alevlenmelerinin sağaltımında ekzojen DHEA kullanmaya yönlendirmiştir(10, 18). Oral kontraseptiflerin sayırlık alevlenmesine neden olduğu düşünülmüşse de büyük çok merkezli bir çalışmada östrojenlerin güvenli olduğu ve premenopozal ve post menopozal kadınlarda SLE' de kötüleşmeye neden olmadığını gösterilmiştir(10, 19). SLE'li kadınlarda yüksek prolaktin düzeyinin anti- DNA antikor titresindeki artışa eşlik ettiği sapanmıştır; postpartum dönemdeki alevlenmenin laktasyon ile artan prolaktin düzeyi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir(10).

## **Çevresel Faktörler**

### *Ultraviyole Radyasyonu*

Ultraviyole radyasyonu (UV), SLE ve özellikle KLE'nin induksiyon fazında en önemli çevresel faktördür. SLE ve KLE'li olgularda normal deriye uygulanan UVB'nin KLE lezyonlarına neden olduğu gösterilmiştir. Son yıllarda UVA'nın da KLE lezyonlarını uyurabildiği düşünülmektedir(10, 20).

UV, keratinositlerde apoptoza neden olarak tolerans kaybına ve autoimmuniteye yol açar. UVB radyasyonunun, Ro/SS-A ve bununla ilişkili diğer autoantigenler olan La/ SS-B ve "calreticulin" gibi autoantigenlerin epidermal keratinositlerin içindeki normal yerlerinden hücre yüzeyine doğru yer değiştirmesine yol açtığı gösterilmiştir(10, 20).

UV ışığı SLE olgularında immun mediyatörlerin aşırı salınımına neden olur(1, 10, 21). UVB radyasyonunun kutan T hücrelerini çeken kemokin olan CCL27'nin salınımını uyardığı

gösterilmiştir. UV ışığı ayrıca hücre DNA'yı doğrudan değiştirerek induksiyon fazında kritik bir rol oynar(10, 21). IFN- $\alpha$  üreten autoimmün T hücre ve plazmositoid dendritik hücre aktivasyonunun izlendiği bir döngü varsayılmaktadır(1, 21). UV ışığı ayrıca normalde kutan inflamasyonun anormal paternlerinin baskılanmasına yardımcı olan immun regülatuar hücreleri etkileyebilir(10, 21).

### *Sigara Kullanımı*

Son yıllarda sigara içenlerde olasılıkla sigarada içeriğindeki lipogenik aromatik aminlere bağlı, SLE gelişme riskinin sigara içmeyenler ve önceden sigara içmiş olanlara göre artmış olduğu vurgulanmaktadır(10, 22, 25).

### *İlaçlar*

Birçok ilacın SLE'yi uyardığı ileri sürülmüştür. İlaçla tetiklenen LE mekanizmasıyla ilgili olarak uyarıcı ilacın T hücre DNA'sında hipometilasyon oluşturarak DNA onarımında bozulmaya neden olduğu ileri sürülmektedir. DNA metilasyon miktarındaki azalma limfositlerin biyolojik autoreaktivitesindeki artışla korelasyon gösterir. KLE'yi uyanan ilaçlar fotoduyarlandırıcı özellik taşırlar. Bu ilaçların keratinosit apoptozunu artırdığı, hücre içindeki peptidlerin epidermal hücre yüzeyinde sunulmasına neden olduğu ve TNF- $\alpha$  ve IFN- $\alpha$  gibi pro-inflamatif sitokinlerin artışına neden olduğu düşünülmektedir(10, 23).

### *Virüsler*

SLE ve KLE'nin uyarılmasında başta virüsler olmak üzere infeksiyöz ajanların rolü ile ilgili çok sayıda teori öne sürülmüştür. Bütün infeksiyon tiplerinin SLE'yi şiddetlendirdiği uzun zamandır bilinmektedir.  $\alpha$  virusların neden olduğu rubella ve sitomegalovirus infeksiyonlarında virusun apoptozu uyararak hücrelerde Ro/ SS-A ve diğer ilişkili autoantigenlerin hücre yüzeyinde sunulmasını uyarabileceği düşünülmektedir. SLE'li olguların hemen tümünde Epstein-Barr virus (EBV) serokonversiyonu saptanır; olgularda EBV'ye karşı T hücre yanıtında yetersizliğe bağlı latent EBV infeksiyon kontrolünde eksiklik olduğu gösterilmiştir(10, 26).

## **Lupus Patogenezinde Anahtar Unsurlar**

### *Dendritik Hücreler ve İnterferon- $\alpha$*

Dendritik hücreler (DH), antijen tanıma ve immün sistem uyarılmasında anahtar olarak görev yaparlar. Olgulaşmamış DH'ler autoantigenlere karşı periferik toleransın korunmasında temel unsurdur. Etraflarından sürekli örnekler alırlar, normal doku döngüsü (apoptoz) sırasında salınan autoantigenleri yakalarlar ve inflamasyon yokluğunda öncelikle autoantigenleri kontrol altında tutarlar. İnflamasyon veya mikrobiyal etkenlerin varlığında olgunlaşarak antijenleri MHC'ler aracılığıyla T hücelere sunacakları limf nodlarına ilerlerler. Uygun kostimülatör moleküller ile T ve B hücre aktivasyonu gelişir ve adaptif immün yanıt başlar(10, 27)

DH'ler öncü monositlerden gelişirler ve iki farklı tipi vardır. Bunlar ham ve olgunlaşmış DH'lere dönüşen myeloid DH'ler ve plazmositoid DH'lerdir. Plazmositoid DH'ler kemik iliği, dalak, tonsilla ve limf nodları gibi limfoid organlarda bulunurlar ve birçok virus, belli bakterilere yanıt olarak büyük miktarlarda IFN- $\alpha$  üretirler. Son dönemde özgün LE deri lezyonlarında da toplandıkları gösterilmiştir. IFN- $\alpha$  monositlerin dolaşımdaki apoptotik hüceleri yakalayabilen myeloid DH'lere dönüşümünü sağlar. Myeloid DH'ler autoantigenleri reaktif CD-4 T hücelere sunar ve ayrıca B hücre proliferasyon ve farklılaşmasını destekleyerek klinik olarak LE oluşumuna yol açarlar(10, 28).

Son dönem verileri IFN- $\alpha$ 'yı immünolojik anormalliklerin merkezine oturtmaktadır. IFN- $\alpha$  ve IFN- $\alpha$  üreten hüceler yeni potansiyel sağaltım hedefleridir. SLE hastalarında serumda IFN- $\alpha$  seviyelerinde artış tespit edilmiştir. Malignite veya hepatit infeksiyonu sağaltımı amacıyla IFN- $\alpha$  verilen hastalarda SLE uyarılabilir, hatta bir olguda neonatal lupus gelişimi bildirilmiştir(10, 29, 30).

SLE olgularında periferik kanda mononükleer hücelerde ve LE özgün deri lezyonlarında IFN- $\alpha$  ile uyarılabilen genlerde genomik işaret gösterilmiştir. Ek olarak sayırlık alevlenmesinde IFN- $\alpha$ 'nın arttığı gösterilmiştir. Son yapılan çalışmalarda KLE'de tip - I IFN'ların lokal üretimini uyarılan kemokinler aracılığıyla inflamasyonu Th1 yönünde uyardığı ve patojenik T limfositlerin deride toplandığı gösterilmiştir(10, 31). Özetle yapılan birkaç çalışmadan elde edilen verilerin birleştiği nokta IFN- $\alpha$ 'nın lupus patogenezinde anahtar rol oynadığı yönündedir. LE'li olgularda karmaşık genetik eksiklikler veya bir virus gibi devamlı bir uyarım ile sürekli IFN- $\alpha$  üretilmektedir. Sonuçta IFN- $\alpha$  myeloid DH'leri uyarmak yoluyla

adaptif immun sistemi uyarır ve autoantigenlere karşı olan toleransın bozulmasına ve autoreaktif T ve B hücrelerin aktivasyonuna yol açar(10).

### *“Toll” Benzeri Reseptörler*

“Toll” benzeri reseptörlerin (TBR) doğal immunitede önemli rolleri vardır ve yüksek derecede mikroorganizma tanıma kapasiteleri vardır. Bunu bakteriyal DNA’yı tanımak yoluyla yaparlar. Dolaşımdaki DNA, anti-DNA kompleksleri TBR sinyalini tetiklemekte ve böylece autoreaktif B hücre üretimi ve DH’lerden IFN- $\alpha$  sekresyonu uyarılmaktadır. Lupuslu farelerde TBR9 yokluğunda çift sarmal DNA’ya (dsDNA) karşı autoantikor üretilmemiştir. Bu nedenle TBR’lerin durdurulmasının lupusta terapötik çıkarımları olabileceği düşünülmektedir(10).

### *Apoptoz ve Kompleman*

SLE’de in vitro perifer kan mononükleer hücrelerinin apoptoz hızı artmıştır. KLE’de ek olarak özellikle UV’ye yanıt olarak apoptotik keratinositlerde artış vardır(32). Düzenlenmiş hücre ölümü DNA’da endonükleaz degradasyonu ile tamamlanır, buna uygun olarak apoptotik hücreler ölürken bütünlüklerini korurlar. Eğer apoptotik materyalin temizlenmesi çabuk olmazsa, apoptotik hücreler nekrotik özellik kazanırlar; hücre zarı çözünür ve ribonükleoproteinler, dsDNA, Ro/SS-A antigenleri gibi hücre içi bileşenleri ortama salınırlar. Lupuslu hastalarda hem apoptozda hem de apoptotik hücrenin temizlenmesinde bozukluk vardır. Normalde kompleman proteinleri apoptotik hücrelere bağlanır ve bunlar sonrasında temizleyici makrofajlar tarafından yok edilirler. Lupuslu olgulardaki gibi kompleman proteinlerinde eksiklik olduğunda, komplemansız apoptotik hücreler DH’ler tarafından tanınarak adaptif immun yanıtı uyarabilirler. Bu DH’ler apoptotik hücreleri işleyerek antigeni sunarlar ve bozulan autotolerans da immun kaskadı aktive eder(10, 33).

### *Tumor Nekrozis Faktör- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )*

TNF- $\alpha$ ’nın da kutan lupus patogenezinde yeri olduğu düşünülmektedir. TNF FAS-ilişkili etki alanı yoluyla apoptozu uyarır. TNF- $\alpha$ ’nın UV’ye maruz kalan keratinositler tarafından salındığı gösterilmiştir. TNF- $\alpha$ , keratinositlerde HLA-DR ekspresyonunu uyarır ve adaptif immun yanıtın uyarılmasına neden olur. Aynı zamanda nükleer faktör  $\kappa$ B salınımını uyararak proinflamatif adezyon moleküllerinin artışına neden olur. SKLE’li hastaların epidermal keratinositlerinden büyük miktarlarda TNF üretilir(10). Bununla beraber anti TNF-

$\alpha$  sağaltımı alanlarda kutan lupus geliştiği veya kütüleştiği bildirilmiştir(34, 35). Etanercept ve infliximab gibi ilaçlarla anti-dsDNA antikoru gelişimi ve lupus benzeri sindrom gelişimi tanımlanmıştır. TNF- $\alpha$ 'nın invitro plazmositoid DH'lerin oluşumunu inhibe ederek IFN- $\alpha$  üretimini arttırdığı gösterilmiştir(10, 34).

### *T Hücreleri*

T hücreleri SLE induksiyon ve yayılma fazlarında anahtar rol oynarlar. T hücreleri hem santral hem de periferik toleransta yer alır. Autoantigenler DH'lerce reaktif T hücrelere sunulur; T hücre reseptörü gibi hücre yüzeyindeki sinyal moleküllerine bağlanmaları sonucu T hücre aktivasyonu gelişir. SLE ve KLE'de T hücrelerinde aktivite belirteçleri ve DR<sup>+</sup> antigenlerini arttırmıştır(36, 37). T hücreleri aynı bilgiyi reaktif B hücrelerine de sunarak autoantikor üretimine yol açarlar. Örneğin SLE olgularında T hücre bağımlı IgG anti dsDNA antikoru üretimi arttırmıştır. Sonunda T hücreleri hedef organlardaki doku hasarını kolaylaştırırlar. Son yıllarda araştırmacılar SLE ve DLE'deki doku hasarında sitotoksik limfositlerin önemini vurgulamaktadırlar. DLE'de sikatriks oluşturan deri lezyonlarında sitotoksik limfositlerin sayısında artış olduğu ve bunun IFN- $\alpha$  ile uyarılan protein MxA ekspresyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir(36).

### *B Hücreleri*

B hücreleri LE patogenezinin yayılma fazında etkilidir, antigenleri reaktif T hücrelerine sunarak T hücre aktivasyonunu daha da artırır. B hücrelerince nükleer antigenlere karşı autoantikor üretimi SLE için ayırıcı bir özelliktir. Bu autoantikorların birkaçının (dsDNA ve Ro/ SS-A) direkt olarak patogenik olduğu düşünölmektedir. Bu autoantikorlar olasılıkla LE hasar fazında doğrudan rol oynamaktadır. İmmunkompleksler oluşturarak hücre ölümlü, hücre aktivasyon, opsonizasyon ve hedef molekül fonksiyonunun blokajı ile doku hasarı yapabilirler. KLE'de B hücrelerinin rolünün daha az olduğu düşünölmektedir. Rituximab gibi anti-B hücre sağaltımlarının KLE'de daha az etkili olmasının nedeni bu olabilir(10).

### 2.1.5. SLE'de ARA(“American Collage of Rhematology”) Sınıflama Kriterleri

1. Malar dökü: malar çıkıntılar üzerinde nazolabial kıvrımı tutmayan düz veya kabarık eritem
2. Diskoid dökü: hiperemik kabarık plaklar üzerinde yapışık keratotik skuamlar ve foliküler tıkaçlar: eski lezyonlarda atrofik sikatriks
3. Fotoduyarlılık: hastanın öyküsünde tanımladığı ve doktorun gözlemlediği güneşe karşı reaksiyon olarak gelişmiş deri döküsü
4. Oral ülserler: genellikle ağrısız, doktorun gözlemlediği oral veya nazofaringeal ülserasyon
5. Artrit: hassasiyet, şişlik veya effüzyonla karakterize  $\geq 2$  periferel eklemi tutan noneroziv artrit
6. Serozit: a)pleurit: pleuritik ağrı öyküsü veya doktorun duyduğu “rub” veya saptanan plevral effüzyon b)perikardit: EKG veya “rub” veya saptanmış perikardiyal effüzyon
7. Renal bozukluk: a) persistan proteinüri ( $>0.5$  g/gün veya  $> 3+$ ) b) hücresel silindirler (eritrosit, hemoglobin, granuler, tubuler veya mikst)
8. Nörolojik bozukluk a)konvülziyon: tetikleyici ilaç veya metabolik bozukluklar (üremi, ketoasidoz, elektrolit dengesizliği vb) olmamalı
9. Hematolojik bozukluk a)hemolitik anemi ve retikülositoz veya b)lökopeni en az 2 kez  $<4000/mm^3$  veya c)lenfopeni en az 2 kez  $<1500/mm^3$  veya d)trombositopeni  $<100000/mm^3$  (ilaçlar dışlanacak)
10. İmmunolojik bozukluk a) anti-DNA: anormal titrede nativ DNAYA karşı ab veya b) anti-Sm veya c) antifosfolipid ab pozitifliği: i)anormal antikardiyolipin IgG veya IgM abları ii)standart metotla lupus antikoagülan test pozitifliği iii) Treponema pallidum immobilizasyon testi veya FTABs testi ile doğrulanmış en az 6 ay süreyle devam eden sifiliz yalancı serolojik test pozitifliği;
11. ANA. IF veya eşdeğer bir tetkikle bakılan antinükleer ab titresinin anormal düzeyde olması; ilaçla indüklenen lupusla ilişkili olabilecek ilaçların dışlanması(2, 10)



ARA ölçütlerinin SLE için duyarlılığının ve özgünlüğünün yüksek olduğu 213 SLE ve 212 kontrol olgusu içeren bir çalışmada sırasıyla %93 ve %88 olarak saptanmıştır(38). Ancak yine de bu ölçütlerde çeşitli kısıtlılıklar söz konusudur. Sadece kutan LE'si olan olguların da SLE tanısı alması söz konusu olmaktadır. SKLE, ARA ölçütleri arasında yer almamaktadır. SKLE'li olguların yaklaşık %50'si ARA ölçütlerine göre SLE tanısı alırken aynı oran KKLE'de %5'tir. SKLE'li olguların sadece %10'unda hayatı tehdit eden şiddetli SLE görülmektedir. Bu nedenle bu deri bulgusunun ölçütlere alınması SLE duyarlılığını arttırmakla beraber öte yandan özgünlüğünü azaltacaktır. ARA ölçütlerindeki diğer bir sorun bazılarının tanımının tam yapılmamış olmasıdır. Örneğin fotoduyarlılığın tanımı kesin değildir; "Hastanın öyküsünde tanımladığı veya doktorun gözlemlediği güneş ışığı reaksiyonu sonucu gelişen deri döküsü" olarak tanımlanmıştır. Bazı çalışmalarda olgularda fotoduyarlılık öyküsü ile fototest arasında uyum saptanmamıştır(39). Diğer net olmayan ölçüt ise oral ülserlerin "oral veya nazofaringeal ülserasyon" olarak tanımlanmış olmasıdır. Oral mukozit ve ülserasyon aynı fenomenin farklı belirtileri olabilir(40).

#### **2.1.6. Klinik Belirtiler**

SLE ağırlıklı olarak 20-30 yaşlarında kadınlarda gözlenirken çocuklarda ve daha yaşlı kişilerde de görülebilmektedir. SLE'nin seyri sırasında olguların %85'inde kutan belirtiler gözlenirken kas-iskelet sistemi anormallikleri yaklaşık %95 oranında gözlenmektedir(41). Yani eklem ve deri belirtileri SLE'li olguların hemen hepsinde gözlenmektedir. Sonradan gelişen alevlenmelerde sayrılık başlangıçtaki belirtileri taklit etme eğilimindedir(1).

SLE aktif periyodu süresince yorgunluk hemen her olguda bulunur. Ateş tanısı sırasında hastalarda yaklaşık %80 oranında mevcuttur. Kilo kaybı da tanı esnasında nefrotik sendromu olmayan % 85 oranında olguda gözlenmektedir(1).

#### *Kutan Belirtiler*

Lupus Eritematozusa eşlik eden deri bulguları (Geliştirilmiş Gilliam Sınıflandırması)

- I. Lupus eritematozusa özgün deri sayrılığı
  - A. Kronik Kutan Lupus Eritematozus
    1. Klasik Diskoid LE
      - i. Lokalize DLE
      - ii. Generalize DLE
    2. Hipertrofik/ verrukoz LE

3. Lupus Profundus/Lupus pannikuliti
  4. Mukozal DLE
    - i. Oral DLE
    - ii. Konjunktival DLE
  5. LE tumidus(papulomusinoz LE)
  6. “*Chilblain*” LE
  7. Likenoid LE(LE/ Liken planus örtüşme)
- B. Subakut Kutan Lupus Eritematozus
1. Annuler SKLE
  2. Papuloskuamoz/ psoriyaziform
- C. Akut Kutan Lupus Eritematozus
- a. Lokalize Akut Kutan LE (“*Malar rash*”)
  - b. Generalize Akut Kutan LE
- II. Lupus eritematozusa özgün olmayan deri belirtileri
- A. Kutan Vaskuler SAYRILIK
1. Vaskulit
  2. Vaskulopati
  3. Periungual teleangiektazi
  4. Livedo retikularis
  5. Tromboflebit
  6. Raynaud fenomeni
  7. Eritromelalgi
- B. Nonsikatriyel alopesi
- C. Sklerodaktili
- D. Romatoid noduller
- E. Kalsinozis kutis
- F. LE-özgün olmayan bulloz lezyonlar
- G. Ürtiker
- H. Papulonodular musinoz
- İ. Kutis laksa / anetoderma
- J. Akantozis nigrikans
- K. Eritema multiforme
- L. Bacak ülserleri
- M. Liken planus(11)

## **Kutan Klinik Karakteristik Özellikler**

Kutan LE deri belirtileri LE'ye özgün histolojik belirtiler gösteren (LE özgün deri sayrılığı) ve lupus ve diğer sayrılıklarda gözlenebilen belirtiler (LE özgün olmayan deri sayrılığı) olmak üzere ikiye ayırmıştır(42). LE özgün deri sayrılığının karakteristik histopatolojik özellikleri hiperkeratoz, epidermal atrofi, epidermal bazal likefaksiyon dejenerasyonu ve perivasküler, perifoliküler, dermo-epidermal bileşke, perivasküler alanlar, perifoliküler alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonudur. Diğer karakteristik değişiklikler epidermal bazal membran kalınlaşması ve melanin pigment inkontinansıdır. Bu özelliklerin değişen mozaikleri LE-özgün sayrılıkta 3 ana kategoride görülür: Akut kutan LE (AKLE), subakut kutan LE (SKLE) ve kronik kutan LE (KKLE)(1).

### **Akut Kutan LE**

Akut kutan LE lokalize AKLE ve generalize AKLE olarak ayrılır. Lokalize AKLE yüzde malar alanlarda ve burun sırtında eritem ile karakterizedir. Nazolabiyal çizgiler tipik olarak korunmuştur. Bu yayılım kelebek şeklini andırır. AKLE sıklıkla aktif SLE ile ilişkilidir. Dökü yüzeyinde ince skuam olabilir. Şiddetli olduğunda AKLE'de vezikulobulöz deri değişiklikleri gelişebilir. Kelebek “*rash*” SLE hastalarının %52'sinde tanı esnasında bulunur. AKLE klinik aktivitesi tipik olarak altta yatan SLE aktivitesi ile paralellik gösterir. AKLE sıklıkla güneş ışığına maruziyet veya yapay UV ışık kaynakları ile ilişkilidir. Lezyonlar tipik olarak iz bırakmadan iyileşir. Koyu renkli hastalarda AKLE'nin kırmızı inflammatif bileşeni geriledikten sonra postinflamatif hiper veya hipopigmentasyon kalabilir. AKLE, seboreik ekzema veya rozase ile karışabilir. Seboreik ekzemada nazolabial kıvrımlar tutulurken, rozasede yüzde eritemli zeminde papula ve pustulalar gözlenir ki SLE'de sekonder infeksiyon olmaksızın papula, pustula gözlenmez(1, 10).

Generalize AKLE viral ekzantem veya ilaç erupsiyonuna benzer şekilde yüz, üst gövde veya ekstremitelerde görülür. Bir çalışmada SLE olgularının %35'inde generalize AKLE bildirilmiştir(43). Lezyonlar hızlı gelişir ve saatler, günler içinde sonlanır. Generalize AKLE döküsü sistemik sayrılık aktivitesi ile paraleldir ve sıklıkla güneş maruziyeti ile ilişkilidir. Yüz tutulumu şiddetli olabilir. Dermatomiyozitten farkı distal interfalangeal, proksimal interfalangeal ve metakarpofalangeal eklemlerin tutulmamasıdır(1, 10).

## *Histopatoloji*

AKLE histopatolojisi SKLE ve DLE'ye nazaran daha az çarpıcıdır. AKLE'de seyrek dermal hücresele infiltrat, epidermal bazal fokal likefaksiyon dejenerasyonu, ve üst dermiste ödem gözlenir. Şiddetli AKLE formlarında epidermal nekroz gözlenebilir(1, 2, 10).

### **Subakut Kutan Lupus Eritematozus (SKLE)**

SKLE morfolojik varyantları annuler SKLE ve papuloskuamoz SKLE'dir. Annuler SKLE aynı zamanda lupus marginatus, simetrik eritema sentrifigum, autoimmün annuler eritem ve LE giratum repens olarak da adlandırılmıştır(1, 10).

SKLE'li çoğu olguda ağırlıklı olarak tek tip lezyon gelişir, ancak eşzamanlı her iki dökü de gözlenebilir. SKLE'de fotoduyarlılık fazladır. Lezyonlar sıklıkla boyun ve üst gövde V bölgesinde, arka üst kısımlarda, omuzlarda, kol ve önkol ekstansor yüzlerinde ve el sırtlarında görülürler; parmak eklem bölgeleri tipik olarak korunmuştur. İlginç olarak saçlı deri ve yüz daha az sıklıkla tutulur. SKLE nadiren bel aşağısını tutar. SKLE'nin eritema annulare sentrifigum, Rowell sindromunu taklit eden görünümde (La/ SS-B antikörlerinin eşlik ettiği eritema multiforme benzeri lezyonlar) nadir görülen klinik şekilleri vardır. Annuler SKLE lezyonlarının ilerlemesi ile vezikula ve krusta gelişimi görülebilir. SKLE'de nadiren toksik epidermal nekroliz benzeri klinik tablo gelişimi bildirilmiştir. SKLE'nin diğer nadir varyantları ekzantamatoz, pitriyaziform, folliküler eritematoz, akral annuler ve eksfoliyatif eritroderma şeklindedir. Lezyonlar sikatriks bırakmadan gerilerler ancak uzunca bir sürede gerileyebilen hatta kalıcı olabilen vitiligo benzeri leukoderma gelişebilir(1, 10).

Fenitoin, diltiazem, tiyazidler, TNF- $\alpha$  inhibitörleri, terbinafin, antihistaminikler gibi birçok ilacın SKLE'yi tetiklediği bildirilmiştir. İlginç olarak SLE sağaltımında kullanılan sistemik ilaçlardan hidrosiklorokin ve klorokin de bu ilaçlar arasındadır. Kan ve dokuda eozinofili, histolojik olarak akrosiringium içine limfosit göçü ile beraber interstisyumda palizatlaşan granulomatoz reaksiyon bulunması ilaçla tetiklenen lupusu düşündürülen olası bulgulardır(1, 44). Tetikleyici ilacın kesilmesi her zaman lezyonların gerilemesiyle sonuçlanmaz(11).

SKLE'li olgularda sıklıkla kutan bulgularla ilişkili olarak hafif sistemik sayrılık aktivitesi görülür. Bu sistemik aktivite en sık kas-iskelet sistemindedir ve beraberinde sayrılık aktivitesinin serolojik göstergesi olarak %70 anti-Ro(SS-A) pozitifliği vardır. Anti Ro/ SS-A,

SKLE'li olguların %90'ında fotoduyarlılık ile ilişkilendirilmiştir. SKLE nadiren şiddetli santral sinir sistemi, böbrek tutulumu ve sistemik vaskülite eşlik eder(1, 10).

### *Histopatoloji*

SKLE'de fokal likefaksiyon dejenerasyonu, dermis üst 1/3 kısmında özellikle perivasküler ve adneksiyal alanlarda seyrek mononükleer infiltrat, dermal ödem ve seyrek epidermal nekroz gözlenir. Epidermis hafif atrofik olabilir ve aktif sınırdaki vezikular değişiklikler görülebilir. Tipik olarak SKLE lezyonları DLE lezyonlarıyla karşılaştırıldıklarında daha az oranda folliküler tıkaç, hiperkeratoz, adneksiyal mononükleer hücre infiltratı ve dermal melanofaj gösterirler(1, 2, 10).

### **Kronik Kutan Lupus Eritematozus**

Klasik DLE, KKLE'nin en sık görülen tipidir ve SLE'li hastaların %20'sinde görülür(1). Sıklıkla boyun yukarısında kalan güneş gören alanlarda lokalize şekilde görülmektedir(11). Yüzeyinde skuam gösteren keskin sınırlı kırmızı-mor renkli papulalar boyutça büyüyerek para şeklinde veya inflamasyona ikincil olarak periferik hiperpigmentasyon gösteren diskoid, plaklara dönüşürler. Dilate kıl folliküllerine doğru uzanan kabarık yapışkan skuamalar vardır. Lezyon merkezi sikatriks oluşturarak çöker; depigmentasyon ve teleangiektaziler gelişir. Bazı olgularda plaklar komşu plaklara doğru yayılır ve geniş şekilsiz lezyonlar oluştururlar(1, 2, 10).

Kıl folikülü kalın skuamalarla tıkanır. DLE lezyonunun skuamı kaldırıldığında alt yüzeyden dışarı doğru çıkıntı yapan keratotik ince uzantılar meydana gelebilir. Bu belirti "Behçet'in çivi belirtisi" olarak adlandırılmaktadır. Foliküler tutulumun ilerlemesi sonucu sikatriyel alopesi gelişebilir(1, 2).

DLE lezyonları sıklıkla saçlı deri, yüz, kulaklar, boyun V bölgesi ve kol ekstansör yüzlerde bulunurlar. AKLE gibi DLE'de nazolabiyal kıvrımları tutmaz. DLE lezyonları nadiren güneş ışığına maruz kalmayan herhangi bir vücut alanında gelişebilir. Saçlı deri, dış kulak yolu ve kulak deliği DLE'nin güneş ışığına maruz kalmayan sık görülen yerleşimleridir(1, 10).

DLE olgularında saçlı deri tutulumu %60 oranında görülür; %10 olguda tek tutulum alanıdır. Foliküler hasara bağlı kalıcı sikatriyel alopesi oranı bir çalışmada %34 olarak

saptanmıştır(1, 45). Generalize DLE'de lezyonların boyun altında kalan vücut bölgelerine de yayılımı söz konusudur ve SLE gelişme riski bu olgularda daha fazladır(1).

DLE'de tırnak tutulumu siktir; tırnak plağında distrofi görülebilir. Çukurcuklar, leukonişi striata, onikoliz, çomak parmak, tırnak yatağında eritem ve teleangiektazi kutan lupus tiplerine sekonder görülebilen diğer tırnak tutulumlarıdır(1, 10).

DLE varyantları palmoplantar ve foliküler DLE'dir. Tanı koyulması zor, ağırlı palmoplantar DLE lezyonları olan eroziv bir varyanttır. Foliküler DLE ise daha çok dirsek bölgesinde yer alan yaklaşık 1 cm'lik papulalar ile karakterizedir(1).

Kutan LE hastalarında Koebner fenomeni gözlenmektedir. Travma, UV, soğuk, X ışınları, infeksiyon; diyatermi; kimyasal yanık, ekzema, sikatriksler DLE lezyonlarını ortaya çıkaran tetikleyiciler olarak bildirilmiştir. Kutan LE lezyonlarının gelişebilmesi için travmadan sonra 4 haftalık bir latent periyod gerektiği bildirilmiştir(1, 46). Güneş ışığı AKLE ve SKLE lezyonları için olduğu gibi belirgin olmamakla beraber DLE lezyonları için de tetikleyici bir faktördür(1, 47).

*Hipertrofik veya verruköz DLE* varyantlarında hiperkeratotik özellikler baskındır. Lezyonlar daha sıklıkla yüz, arka üst kısımlar, kol ekstansor kısımlar ve aynı zamanda palmar ve plantar alanlarda izlenmektedir. Lupus planus, hipertrofik LE ve liken planus bulgularının örtüştüğü lezyonu tanımlamak için kullanılmaktadır. Ek olarak nadir bir varyant olan hipertrofik formda viyole-kırmızı, kalın, kenarları yuvarlak ve merkezi belirgin atrofik lezyonlar izlenir(1).

*LE profundus*, olguda sadece subkutan tutulum olduğu zaman LE pannikuliti olarak da adlandırılır. KKLE'nin nadir görülen bu varyantı kutan LE olgularının %1-3'ünü tutar. Derin dermis ve subkutan yağ dokusunda sert ve hareketli olan 1-3 cm çaplı nodular lezyonlar üzerindeki deriyle bağlantılıdır ve deri yüzeyinde çöküntü meydana getirirler(48, 49). En sık görülen yerleşim baş, gövde, göğüsler, üst ekstremiteler ve kalçalardır. Lupus pannikuliti olan olguların yaklaşık %50'sinde lezyon üzeri deride klasik DLE deri değişiklikleri veya başka herhangi bir yerde klasik DLE lezyonları bulunur(1). LE profundus tanısı diğer lezyonları taklit edebilmesi nedeniyle zorlayıcı olabilmektedir. Subkutan pannikulit benzeri T hücreli limfomadan histopatoloji ile ayrılabilir(48). Belirgin yüz tutulumu lipoatrofiyi taklit edebilir(1). Lupus eritematozus pannikulitinin meme dokusundaki lezyonları klinik ve

radyografik olarak meme kanserine benzeyebilir. Bu lupus mastiti olarak adlandırılmaktadır(48, 50).

*Mukoza DLE* oral, nazal, konjunktival veya genital mukozada hiperemik papulaların kronik plağa ilerlemesi şeklinde görülür. Oral mukozada en sık bukkal tutulum görülür. Kronik plaklarda düzensiz beyaz keskin sınır özelliği, etrafında ise teleangiektazi ve beyaz yayılan strialar izlenir. Lezyonlar liken planusu taklit edebilir. Yüzeysel palatal lezyonlarda balpeteği görünümü olabilir. Ağrılı ülserasyon, spinalyomaya dönüşüm gibi komplikasyonlar oluşabilir(1).

*Lupus tumidus*, kutan LE'nin urtikaryal plak varyantıdır; hiperemik, yüzey değişikliği az olan, iri ve indurasyon gösteren papular dökü şeklinde görülür. Histopatolojik olarak artmış musin birikimi ve yüzeysel periadneksiyal ve perivasküler alanlarda inflamasyon gözlenir(51, 52).

“*Chillblain lupus*” KKLE'nin nem ve soğuğa yanıt olarak kırmızı-mor renkli papula ve plaklarla karakterize perniyo benzeri varyantıdır. Zamanla sikatriks gelişimi ile atrofik ve teleangiektazi gösteren plaklar kronik DLE lezyonlarından ayırt edilemezler. Lezyonlar tipik olarak el, ayak parmakları ve yüzde gelişmektedir. Bu lezyonlar klinik ve histopatolojik olarak idiyopatik perniyoya benzemektedir(1).

### *Histopatoloji*

Klasik DLE hiperkeratoz ve foliküler tıkaç gösterir. Bazal epidermis organizasyonunda kayıp izlenirken spinoz tabaka atrofik olabilir. Epidermal bazal tabakadaki diğer değişiklikler ödem, likefaksiyon dejenerasyonu, epidermal bazal membran kalınlaşması, melanin pigment oluşumunda artış ve melanin inkontinansı şeklindedir. Dermal makrofaj ve T hücrelerinin olduğu mononükleer hücre infiltrasyonu ve kronik lezyonlarda plazma hücreleri ile bazen belirgin musin birikimi gözlenir. AKLE, SKLE lezyonlarıyla karşılaştırıldığında inflamatif infiltrat daha derine retiküler dermis içine doğru uzanmaktadır(1, 10).

## Lupus Eritematozus-Özgün Olmayan Deri Sayrılığı

LE özgün olmayan deri sayrılığı çoğu kez LE ile beraber görülen ancak histopatolojik olarak özgün olmayan deri değişikliklerini içermektedir.

*Sikatrisyel olmayan alopesi* LE'nin farklı formlarında gelişebilmektedir. Lupus saçları periferdeki saçlı deri alanlarında sayrılık aktivitesi sırasında görülen ince saçlar ve sikatrisyel olmayan alopesiyi tanımlamaktadır. Telogen effluvium, SLE kapsamında geçici olarak görülebilir ve aynı zamanda LE alevlenmesi sırasında artış gösterir. LE ile beraber alopesi areata gelişimi çok daha nadirdir. LE sağaltımında kullanılan metotreksat, siklofosfomid gibi ilaçlarla da sikatrisyel olmayan alopesi görülebilmektedir(1).

*Vaskülit lezyonları* klinik olarak palpabl purpura veya urtikaryal vaskülit şeklinde görülür; histopatolojik olarak küçük damar lökositoklastik vaskülit izlenir. Daha nadiren derin dermis ve subkutan dokudaki daha büyük damarlar etkilenir ve periarteritis nodoza benzeri ülserasyon gösterebilen nodular lezyonlar görülür. Kutan vaskülit SLE'li olgularda %20-%70 oranında bildirilmiştir(1). Diğer vasküler lezyonlar olan Degos hastalığı benzeri lezyonlar, livedo retikularis ve sekonder atrofi "*blanche*" antifosfolipid antikor sindromuyla ilişkili olarak gelişebilmektedir(53). Dermatomiyozit ve sistemik sklerozda daha sık ve belirgin gözlenen periungual teleangiektazi SLE hastalarında %10-15 oranında gözlenmektedir. Raynaud fenomeni SLE'li hastalarda %18-46 oranında bildirilmiştir(1, 10).

LE ile ilişkili olduğu bilinen diğer bulgular romatoid nodul, sklerodaktili, bulloz lezyonlar, kalsinozis kutis, tromboflebit, urtikarya, eritromelalgi, papulonodular musinoz, kutis laksa/ anetoderma, akantozis nigrikans, eritema multiforme, bacak ülseri ve liken planustur(1, 10).

Kutan belirtiler antifosfolipid sindrom ile de ilişkilendirilmiştir. Antifosfolipid sindrom antifosfolipid antikorların varlığı ile hiperkoagulabilite sindromu arasındaki klinik ilişkiyi tanımlamaktadır. Sindrom belirli infeksiyöz sayrılıklarda veya başka bir sayrılık olmaksızın SLE hastalarında gelişebilir. Hiperkoagulabilite arteriyal ve venöz trombozlar ile sonuçlanır. Aynı zamanda gebeliğin 10. haftasından sonra artmış oranda gebelik kayıpları görülebilmektedir. Livedo retikularis SLE'li hastalarda antifosfolipid antikor sindromu ile beraber veya tek başına görülebilir. Livedo retikularis antifosfolipid sindromlu olgularda %11-22 oranında görülebilmektedir. Splinter hemoraji, bacak ülserleri, mavi ayak parmağı



sindromu ve deri infarktları görülebilmektedir. Patolojide gerçek vaskülit görülmez, trombotik mikroangiopati vardır(1).

### **İmmunpatoloji/ Lupus bant testi (LBT)**

İlk kez LE lezyonal deri biyopsi örneklerinde dermo-epidermal bileşkede immunoglobulinler ve kompleman proteinleri saptanmış ve buna lupus band adı verilmiştir. Başlangıçta LE için özgün olduğu düşünülse de, LBT pozitifliği başka deri sayrılıklarında da saptanmıştır(1). Lezyonlu ve lezyonsuz deride dermoepidermal bileşkede IgG, IgA, IgM ve kompleman komponentlerinin (C3,C4,C1q,properdin,faktörB,C5b-C9) birikimi saptanabilmektedir. AKLE'de %60-100 oranında, SKLE'li olgularda yaklaşık %60 oranında LBT lezyonlu deride pozitif olarak saptanmaktadır. DLE'de ise baş,boyun ve kollarda %80, gövde lezyonlarında ise %20 oranında lezyonda LBT pozitif olarak saptanabilmektedir(10). Biyopsi örneklerinde direkt immünfloresan testte sürekli granüler veya lineer band benzeri birikim görülmesi SLE tanısını doğrulamakla birlikte testin negatif olması lupus tanısını dışlamamaktadır(1, 10). Lezyonsuz deride LBT pozitifliği daha çok SLE'de görülmektedir. DLE'nin eşlik ettiği lezyonları bulunan SLE olgularının %25'inde lezyon bulunmayan deride pozitif LBT bulguları saptandığı bildirilmiştir. Lezyonel olmayan LBT'nin tanısal özgünlüğü tartışmalıdır. Güneş gören lezyonsuz deride LBT'nin yanlış pozitif olabileceğinin bilinmesi önemlidir. Güneş görmeyen deride üç veya daha fazla immun reaktan varlığı en yüksek özgünlüğü sağlamaktadır(1, 10). Lezyonsuz deride LBT pozitifliği renal tutulum riskini artırmaktadır(10). Güneşten korunmuş lezyonsuz deride yapılan LBT'nin sayrılık şiddetinin belirlenmesinde iyi bir gösterge olabileceği ileri sürülmüştür(10, 54).

### **Diğer Klinik Bulgular**

#### **Kas-İskelet Sistem Belirtileri**

SLE'de en sık görülen belirti kas-iskelet sistemine aittir. Hareketle ağrı gelişmesi, hassasiyet, effüzyon veya eklem etrafındaki yumuşak dokuda şişlik artrit objektiv göstergeleridir ve tanı esnasında olguların %88'inde görülmektedir. Olguların %95'i artralji veya artrit belirtileri göstermektedir(1). Bazı olgularda multisistem sayrılık başlangıç artralji veya artrit şeklinde yıllarca devam edebilir(1). Femur başı aseptik nekrozu bir diğer iskelet sistemi komplikasyonudur(1, 2).

**Serozit:** Olguların %50'sinde serozal problemler vardır. Genç bir kadında steril perikardit, pleurit veya özellikle de ikisi birlikte bulunuyorsa SLE'den şüphe edilmelidir. Steril peritonit de görülebilir. Klasik senaryo ağrı nedeni ile pulmoner emboliden şüphelenilmesidir(1, 2).

**Böbrek tutulumu:** Olguların %40-50'sinde renal tutulum vardır. Hemen her olguda orta derecede proteinüri ve hematüri bulunur. Lupus nefritinin şiddeti sayrılığın prognozunu belirleyen en önemli faktördür. Nefrit tipinin sınıflandırılması böbrek biyopsisi ile yapılmaktadır. Sessiz lupus nefritinde sediment ve diğer laboratuvar bulgular normal iken renal biyopsi anormal saptanır(1, 2).

**Santral Sinir Sistemi tutulumu(SSS):** SSS tutulumları çok çeşitlidir. Organik SSS sayrılığı %20 olguda görülebilmektedir. Konsantrasyon bozukluğu, apati, entellektüel fonksiyonlarda azalma, ajitasyon, demans, deliryum, migren benzeri ataklar, periferik nöropati görülebilmektedir. Fokal serebral hasar inmeye neden olabilir. Şizofreni benzeri bulgular ve depresyon görülebilir. SLE'deki psikotik süreçlerin yüksek doz kortikoid kullanımı veya SSS fırsatçı infeksiyonlarından ayırımı oldukça güçtür(1, 2).

**Hematolojik bozukluklar:** Çeşitli autoantikorlar otoimmün sitopenilere yol açmaktadır. Olguların %50'sinde kronik sayrılık anemisine bağlı anemi gözlenir; hemolitik anemi nadirdir. Lökositopeni sıktır ve beyaz küre sayısı genellikle 2000-4000/mm<sup>3</sup> arasındadır. Aynı zamanda limfosit sayısı da düşüktür; 1500/mm<sup>3</sup> altındaki değerlerde LE'den şüphelenilmelidir. Trombosit sayısı genellikle 100.000 /mm<sup>3</sup> altındadır(1, 2).

**Kardiyak tutulum:** Olguların %30-50'sinde başta perikardit olmak üzere kardiyak tutulum görülür. Miyokardial infarktüs riski dokuz kat artmıştır. Miyokardit ile ilişkili kardiyak aritmiler ve kardiyak yetmezlik görülebilir. Kapaklarda ve endokardiyumda verrüköz vegetasyonlarla seyreden Libman–Sacks endokarditi oldukça nadirdir(1, 2).

**Diğer organlar:** Ek olarak pleurezi, pnemoni, akciğer volüm kaybı, ARDS ve intraalvolar hemoraji görülebilir. Olguların %25'inde hepatosplenomegali görülebilir. Olguların %20'sinde özafajit, gastrit veya barsak tutulumu olabilir. Oküler bulgular içinde pamuk ipliği şeklinde retinal hemorajiler, üveit, episklerit ve optik nörit bulunmaktadır. Olguların %15-20'si göz kuruluğu ve diğer özellikleri ile Sjögren sendromu ile örtüşmektedir(1, 2). Doku nekrozunu tetikleyip nükleer antijenlerin salınımına neden olabilecek cerrahi veya herhangi bir travma SLE alevlenmesine neden olabilir(1).

## 2.1.7. Aktivite İndeksleri

### Sistemik Lupus Eritematozus Aktivite Ölçümü

Genel sayrılık aktivitesinin ölçümünde en başarılı aracın “*British Isles Lupus Activity Group*” (BILAG) olduğu sonucuna varılmıştır. Sayrılığın 86 farklı yönünü ele alan BILAG, FDA (“*Food and Drug Administration*”) tarafından herhangi diğer bir ölçekle birlikte kullanımı önerilen bir aktivite indeksidir. Diğer ölçekler arasında SLE Aktivite İndeksi (SLEDAI), SLE Aktivite Ölçümü (SLAM) ve Avrupa Lupus Aktivite Ölçeği de vardır(55). Bu ölçümlerde sistemik aktivite ölçümü ön planda olup deri bulguları sadece var ve yok şeklinde geçmektedir. LE kutan bulgularına dar bir bakış açısı ile yaklaşan SLAM, KLE’li olgulara uygulanmış ve bu olguların değerlendirilmesinde ve izleminde güvenilir ancak yetersiz olarak değerlendirilmiştir(56).

### Kutan Aktivite İndeksleri

Şiddetli kalıcı organ hasarı yapabilen sayrılıklarda, aktivite ve hasarın ayrı değerlendirilmesinin önemli olduğu göz önüne alınarak kutan lupus şiddet ölçümünde Kutan Lupus Alan ve Şiddet İndeks (KLAŞİ) ortaya konmuştur KLAŞİ’de aktivite farklı anatomik lokalizasyonlarda eritem, skuam/hipertrofi, mukoza tutulumu, akut saç kaybı veya nonsikatriyel alopesi değerlendirilerek ölçülmektedir. Eritem 0-3 arasında (0: yok; 1: pembe; 2: kırmızı; 3: koyu kırmızı; mor/viyole/krustalı/hemoragik), skuam 0-2 arasında (0: yok; 1: skuam; 2: verrukoz/hipertrofik) skorlanır. Alopesi değerlendirilmesinde saçlı deri sağ-sol orta hat ve frontal-okspital olarak dört kadranda 1-3 puan arası değerlendirilir ( 1: olgunun son 30 gün içinde tanımladığı saç kaybı, sikatriks içermeyen alopesi veya diffuz inflamatuvar olmayan alopesi; 2: bir kadranda fokal alopesi; 3 puan: birden fazla kadranda fokal alopesi). Mukoza tutulumu yoksa 0, lezyon veya ülserasyon var ise 1 puan olarak skorlanır. Sayrılık hasarının belirlenmesinde ise farklı anatomik lokalizasyonlarda dispigmentasyon ve sikatriks/sikatriyel alopesi değerlendirilmektedir. Her bir anatomik lokalizasyonda 12 aydan uzun süren dispigmentasyon (1 puan) ve sikatriyel alopesi ( 0: yok; 3: bir kadranda sikatriks; 4: iki kadranda sikatriks; 5: üç kadranda sikatriks, 6: tüm saçlı deride sikatriks) skorlanmaktadır. Pigmentasyon bozukluğunun KLE lezyonlarının üzerinde gelişip gelişmediği ve süresi (12 aydan uzun süredir kalıcı) önemlidir. Her bir deri semptomu için tutulum şiddeti, o alan içindeki en kötü olan lezyona bakılarak belgelenir. Ayrıca olguların tanımladığı pruritus, ağrı ve yorgunluk gibi bulgular 0-10 arasında VAS ile değerlendirilmektedir(57).

**Tablo 1:** Kutan Lupus Alan ve Şiddet İndeks (KLAŞI)

Lokalizasyon	KUTAN TUTULUM			
	AKTİVİTE		HASAR	
	Eritem (0-3) 0 yok 1 pembe 2 kırmızı 3koyu /mor/krustal/hemoragik kırmızı	Skvam (0-2) 0 yok 1 skuam 2verrukoz hipertrofik	Pigmentasyon (Hipo ve/veya Hiper) (0-1) 0 yok 1 var	Sikatriks Atrofi Pannikulit(0-2) 0 yok 1 sikatriks 2 şiddetli atrofik sikatris pannikuülit
Saçlı deri				
Kulak				
Yüzün diğer bölümleri				
Boyun V bölgesi				
Boyun arka kısım+omuz				
Göğüs				
Karın				
Sırt				
Kollar				
Eller				
Bacaklar				
Ayaklar				
	MUKOZA TUTULUMU (0-1) 0 yok 1 lezyon/ulserasyon		DİSPİGMENTASYON (0-1) 0: 12 aydan kısa süreli 1: 12 aydan uzun süreli dispigmentas	
	NONSİKATRİSYEL ALOPESİ		SİKATRİSYEL ALOPESİ	
	Son 1 ayda saç dökülmesi (0 yok -1 var)		(0-6) 0 yok; 3 bir kadranda; 4 iki kadranda; 5 üç kadranda; 6 tüm saçlı deri	
	SİKATRİKSİZ ALOPESİ 0; yok 1; diffuz noninflam- 2; bir kadranda fokal 3; ≥1 kadranda fokal			
TOPLAM	AKTİVİTE Eritem + Skvam + Mukoza tutulumu + Alopesi		HASAR Dispigmentasyon + Sikatriks +Sikatrisyel alopesi	

Ancak KLAŞI'nin lezyonel indurasyonu değerlendirmedeği nodular lezyonları göz önüne almadığı da dikkati çekmiş ve sayrılık aktivitesi için eritem, skuam yanında indurasyonun da değerlendirilmesi önerilmiştir(58).

### 2.1.8. Serolojik Testler

Hastaların %90'ından fazlasında immunflorasan inceleme (IF) ile ANA pozitifliği saptanır. IF boyanma paterni homojen, membranöz, benekli, nukleer veya sentromerik olarak tanımlanır(2). Sentromerik patern Raynaud ve sınırlı Skleroderma ile ilişkilidir; homojen patern anti-histone ile oluşur. Anti-RNP, anti-Sm, anti-Ro ve anti-La nukleer benekli patern oluştururken, anti-dsDNA periferik ve anti-ribozomal P antikoru ise sitoplazmik veya nukleolar patern oluşturmaktadır. SLE'li olguların %5'inde, diğer konnektif doku sayrılıkları olan olgularda ise çoğunlukla nukleolar ANA paterni izlenir(59).

ANA 1:160 ve daha üst titrelerde negatifse SLE olasılığı düşüktür. Pozitif ANA, bir kişide autoimmün sayrılık olduğunu göstermez ancak klinik korelasyonun gerekli olduğunu gösterir(59). Sağlıklı kişilerin yaklaşık %30'unda 1/40 pozitiflik saptanabilmektedir(1). ANA pozitif saptandığında serum, standart titrelerle mevcut antikor miktarını bulmak için dilue edilir. Titreler sıklıkla sayrılık aktivitesi hakkında nadiren fikir vermektedir. Buna karşın anti-dsDNA titreleri ve anti histon antikoru özellikle sistemik immün aktivasyonun miktarındaki azalmada, böbrek sayrılığında ve ilaç ilişkili LE'nin izleminde kullanılır(2). Pozitif ANA SLE'li olguların %95'inde bulunur, geri kalan %5'inde ise ANA negatif ancak anti-Ro (SSA) pozitifdir. Yani ANA ve anti-Ro negatifse SLE dışlanabilir. ANA makul bir titrede pozitif ve 3 nesnel ARA kriteri (eklem şişliği, perikardit, nefrit gibi) varsa SLE tanısı konabilir(2). Tiroid sayrılıkları (Graves, Hashimoto) ve diğer sayrılıklarda da pozitif ANA saptanabilir. Yaşla da yanlış pozitiflik oranı artmaktadır. Anti nativ dsDNA antikoru SLE için özgün antikordur ancak olguların %40-90'ında saptanırlar(59). Tek sarmallı DNA'ya karşı oluşan antikoru ise özgün değildir (2).

Anti-Sm antikoru olguların %10-30'unda bulunur ve ciddi renal ve SSS tutulumu ile ilişkilidir(2). SLE için özgündür ancak düşük titrede başka sayrılıklarda da pozitif olabilir. Anti-Sm antikoru, anti-RNP olmaksızın nadiren tek başına bulunur. Normal bireylerde çok nadir bulunur ve SLE tanısından yaklaşık 1,5 yıl önce ortaya çıkmaktadır(59). Anti-Sm, U1 RNP nukleer antijenin (ENA) bir parçasıdır. Anti-U1-RNP mikso konnektif doku sayrılığı için

bir belirteçtir (2). Anti-RNP, SLE için daha az spesifiktir ve düzeyi sayrılık aktivitesi ile paralel değildir(59).

Ro ve La nükleer ve sitoplazmik kaynaklı proteinler olup hücre yüzeyinden ekspresse edilebilir. Anti-Ro SLE'de %50; sistemik sklerozda %90, SKLE'de %60 pozitifdir. Anti-La hastaların %40-60'ında bulunur ve genellikle SKLE veya renal ve SSS tutulumu olmayan hafif seyirli SLE de görülür(2, 59). Her ikisi de SLE için özgün değildir ancak anti-dsDNA yokluğunda çok yararlıdır (59).

Anti-Ro veya Anti-La, anti-dsDNA veya anti Sm ile kombine olarak bulunabilir ve bu durum ciddi sayrılıkla ilişkilidir, bu nedenle antikorların kombinasyonları dikkate alınmalıdır (2). Anti-Ro SLE başlangıcından ortalama 3.7 yıl önce ortaya çıkmaktadır (59). Anti Ro antikorları pozitif olan SLE'li hastanın bebeğinde kongenital kalp bloğu veya kongenital SLE gelişebilir(2).

SLE olgularının %70'inde, ilaçla ilişkili LE'lerin hemen hepsinde histonlara karşı antikorlar bulunmaktadır(2). Titreleleri sayrılık aktivitesini yansıtabilir ancak SLE'ye özgün değildir, ilaca bağlı lupusla idiyopatik SLE'nin ayırımında faydalıdır(59). Anti-Ku, SLE ve polimiyozit binişimini düşündürürken, Anti-rRNP ise SSS sayrılığı ile ilişkilidir(2). Antifosfolipid antikorlar SLE olgularının %30-40'ında bulunur, tromboz ve anti fosfolipid sendromu için risk faktörüdür (59).

C1q antikorları SLE'li olgularının %90'ında pozitifdir. Sebati eden düşük C3 düzeyleri kronik renal sayrılıkla ilişkilidir (59). C3 ve C4 sıklıkla aktif sayrılık periyodu boyunca düşüktür ve sayrılık remisyonları sırasında normale döner(1).

### **2.1.9. Sağaltım**

KLE ile ilgili en önemli sorun kozmetiktir ve sağaltımda ana amaç deforme edici sikatriks, atrofi ve dispigmentasyon gelişiminin önlenmesidir. İnaktif sikatriksiyel lezyonlar eksize edilebilir; ancak bazı olgularda Koebner fenomeni ile reaktivasyon gelişebilmektedir. Tetikleyici ilaç açısından olgunun kullanmakta olduğu tüm ilaçlar listelenmelidir. Sigara içenlerde sayrılığın daha şiddetli seyredebildiği hastaya belirtilmelidir. Fotoduyarlılık KLE'li hastaların önemli bir özelliğidir; SLE'li olgularının %57-73'ünde, SKLE'li olgularının %70-90'ında, DLE'li olgularının %50'sinde fotoduyarlılık öyküsü bulunur bu nedenle gün örtüsü sağaltımda çok önemlidir(60).

## **Sistemik Sağaltım:**

Standart sistemik sağaltım antimalaryaller ile olmaktadır(2). Antimalaryallerin "toll" reseptör 7, 8 ve 9'un ekspresyonunu bloke ettiği saptanmıştır. Ayrıca bu ajanların bazı sitokin ve hücre yüzey reseptörlerinin aktivasyonunu bloke ettiği bilinmektedir. Antimalaryaller daha nadir lupus formları olan lupus pannikuliti, lupus tumidus, hipertrofik LE ve "chillblain" lupusta ayrıca mukozal lezyonların sağaltımında da yararlıdır. Klorokin ve kinakrinde etki başlama süresi birkaç hafta, hidroksiklorokinde (HRKL) ise 2 aydır. Bu nedenle genel olarak antimalaryaller en az 2 ay kullanılmalıdır(61). Antimalaryallerle sağaltım aylarca sürdürülmeli, deri lezyonları geriledikten sonra da birkaç ay daha devam edip sonra doz yavaş azaltılarak sayrılığı kontrol edebilecek minimal doza düşülmelidir. KLE'de antimalaryallerle diğer ilaçların kombinasyonu ile ilgili veri bulunmamaktadır ancak SLE'de antimalaryaller diğer ajanlarla kombine kullanılabilir. Yapılan bir çalışmada DLE ve SKLE sağaltımında sigara kullanımının antimalaryallerin etkinliğini bozduğu gösterilmiştir(24, 25, 62). Antimalaryallerin fotokoruyucu etkileri de vardır. LE'de vaskülitik lezyonlar genellikle antimalaryallere dirençlidir; dapson, sistemik kortikoid ve/veya siklofosfamid gibi ajanlara daha iyi yanıt vermektedir. Buloz lezyonlarda sistemik kortikoid ve dapson etkilidir. Yine antimalaryaller lupusta sağ kaybını önleyebilir ancak sikatrisyel alopeside etkisizdir(61). HRKL yan etkilerinin daha az olması nedeniyle daha çok tercih edilmektedir(2, 61). HRKL, klorokinden daha az oküler toksisiteye yol açmakla birlikte daha az etkilidir. İki ay HRKL sağaltımına yanıt alınmadığında klorokin tercih edilebilmektedir(61). Klorokin için 4 mg/kg/gün, HRKL için ise 6,5 mg/kg/gün dozu aşılmamalıdır(2, 61). Kinakrin diğerleriyle kombine olarak kullanılabilir; oküler toksisitesi yoktur ancak başka yan etkileri vardır (63). Gebelikte lupus alevlenmesinde HRKL kullanılabilir ve klorokinden daha güvenlidir; plasentadan daha az geçer, dokulara daha az bağlanır ve aynı zamanda gebelikte antifosfolipid sindromunun sağaltımında ek yararları vardır ancak emzirirken güvenilirliği belirsizdir(61). HRKL'in SLE'de kutan lezyonların gelişimini inhibe ettiği, alevlenmeleri azalttığı ile ilgili kanıtlar vardır ancak hayatı tehdit eden şiddetli SLE'de monoterapi olarak önerilmemektedir. SLE'de ayrıca yorgunluk, artralji, miyalji ve serozitte de yararlıdır. Sağaltım şeması KLE'de deri lezyonlarının yaygınlığı, hastanın ağırlığı ve antimalaryale toleransına göre değişebilmekle birlikte sıklıkla 200 mg/gün HRKL veya 250 mg/gün klorokin kullanılmaktadır(2, 61). Başlangıç dozu 10-14 gün süreyle günde 2x1, sonrasında 1x1 şeklinde(2). HRKL sağaltımına en az 2 ay, klorokin sağaltımında en az 6 hafta sonra yanıt yoksa, 100 mg/gün kinakrin sağaltımına eklenebilir(2).

Antimalaryal sağaltım yan etkilerinden en 6nemlisi ok6ler toksisite ile ilgilidir (2). HRKL ve klorokin kalıcı retinal hasar yapabildiğinden başlangıçta oftalmolojik muayene yapılmalı, olgular fotofobi ve g6rme problemleri açısından izlenmeli ve her 3-6 ayda bir kontrol edilmelidir(2, 61). 6nceden retinopati, g6rme alanı defektleri veya makulopatili olan olgularda antimalaryaller kontrendikedir. 6 yıldan uzun s6reli HRKL kullananlarda ve renal bozukluğu olanlarda retinal toksisite riski daha fazladır. Klorokin retinopatisi için risk etmenleri g6nl6k doz ve keratopatidir. SLE’de antimalaryallerden bağımsız olarak da retinal lezyonlar g6r6lebilmektedir(61). Antimalaryaller glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) eksikliğinde, gebelikte ve karaciğer sorunlarında kullanılmamalıdır(2). Kinakrin sağaltımı sırasında G6PD eksikliği olanlarda hemoliz gelişebilmektedir. Aplastik anemi de bildirilmiştir(61). Bu nedenle hepatic ve hematolojik parametreler periyodik olarak izlenmelidir(2, 61). Kinakrin 100-200 mg/g6n kullanılabilir; deri, sklera ve v6cut salgılarında sağaltım sonrası gerileyen diffuz sararmaya neden olur(2, 61).

#### **Diğer Alternatif Yaklaşımlar:**

Diğer sağaltım seçenekleri 10-50 mg/g6n asitretin, 0.2-0.5 mg/kg isotretinoin ve 50-150 mg/g6n dapsondur. Bu sağaltımlar dissemine DLE ve SKLE’de primer olarak kullanılabilir(2). Retinoidler 6zellikle anti-SSA pozitif SKLE’de oldukça etkilidir(55). İso-tretinoin ve asitretin 6zellikle hipertrofik ve palmoplantar yerleşimli lezyonlarda yararlı olabilir ancak akne ve psoriyazis dozlarında kalıcı yanıt alınmamıştır(63).

Dapson 25-200 mg/g6n dozda eşlik eden vaskulitik lezyonlar, SKLE lezyonları, bulloz LE ve oral 6lserasyonda verilebilir; lupus pannikulitinde de %25 olgu etkilidir(55, 63). Sistemik kortikoidler etkili olmakla birlikte yan etkileri nedeniyle kronik deri lezyonları için kullanılmasından çoğunlukla kaçınılmaktadır(2). Ancak bazen ciddi alevlenmelerde, dirençli olgularda kısa s6reli sistemik d6ř6k doz (<1 mg/kg) kullanılabilir. Akut fotoduyarlılık lezyonları, “*malar rash*” veya vaskulitik lezyonlarda etkilidir. DLE’de nadiren, SKLE’de kısmen etkilidir(63).

İmmüsupresif ajanlardan azotiyoprin (100-150mg/g6n), metotreksat (10-25 mg/g6n) mutilasyon gelişebilecek sikatriks gelişimini 6nlemek amacıyla şiddetli olgularda kullanılabilir(2). Azotiyoprin kutan LE sağaltımında etkili olmakla birlikte ilacın kesilmesi sonrası relaps g6zlenmektedir(63). Mikofenolat mofetil (2-3 g/g6n) sağaltımı siklofosamid kadar etkilidir; toksisitesi ve tolerabilitesi daha iyidir. Lupus nefrit sağaltımında birinci basamak ajandır. Kutan LE sağaltımında da başarılıdır ancak çalışma sayısı azdır(35).



Talidomid (50-100mg/gün) özellikle mukozal ülserasyonlar ve saçlı deri tutulumunda kutan LE sağaltımında hızlı ve etkilidir(2, 63). Ancak kullanımı ile ilgili teratogenite ve polineuropati gelişimi nedeniyle endişeler bulunmaktadır(2).

Sitarabin, siklosporin, siklofosfamid de kutan LE'de kullanılmıştır. Yüksek doz IVIG küçük serilerde başarılı olarak bulunmuştur. Sitokin sağaltımı da bildirilmiştir. İnfliksımab ve etanersept kutan LE'de etkili olabilir. Ancak etanersept sağaltımı sırasında SKLE ve ilaca bağlı lupus geliştiğine dair bildirimler olmuştur. IFN- $\alpha$  kullanılmış ancak toksik ve uzun süreli remisyona gözlenmemiştir. Şimerik CD4 monoklonal antikor infüzyonu ile sağaltımda dirençli beş kutan LE'li olguda uzun süreli remisyona bildirilmiştir(63).

Oral altın formu olan auranofin de kutan LE'de kullanılmış; 2/3 olguda kısmi yanıt; %15 olguda tam yanıt izlenmiş; en iyi yanıt sikatriksiz kutan LE formlarında saptanmıştır(63).

Fenitoin kutan LE'de günde 300 mg'a kadar kullanılmış; %90 çok iyi yanıt; ancak en az 1/3 olguda relaps bildirilmiştir (63).

### **Topikal Sağaltım:**

Topikal ya da intralezyonel kortikoidler sikatriks gelişmeden önceki erken dönem lezyonlarda etkilidir(2). Topikal retinoidler olan tretinoin ve tazaroten de kullanılabilir. Fasyal lezyonlarda topikal takrolimus faydalı olabilir(62). Saçlı deride DLE'li bir olguda topikal imikuimod başarılı bulunmuştur(63). DLE'de antimalaryallerin etkilerinin başlaması için geçen süre gecikebildiğinden potansiyel sikatriks riski yüzünden başlangıçta kısa süreli, yüksek potensli topikal, intralezyonel veya sistemik kortikoidler de kullanılabilir(61).

Topikal takrolimus ve pimekrolimus ile ilgili çalışmalar devam etmekle birlikte kalsineurin inhibitörlerinin steroidler kadar etkili olmadığı ancak daha güvenilir oldukları bilinmektedir(55). Kortikosteroidlerin aksine günde 2 defa kullanımları gerekmekte, etkilerinin başlaması için en az 4-6 hafta geçmesi gerekmektedir(2).

### **Cerrahi:**

Kriyoterapi özellikle hiperkeratotik lezyonlarda etkilidir. Saç transplantasyonu eğer donor uygunsa ve sayrılık çok uzun dönemdir aktif değilse alopesili olgularda uygulanabilir. Sikatriksler ve pigmentasyon değişikliklerinin lazer terapisiyle sağaltımı yapılabilir(2).

**Profilaksi:**

UVA ve UVB koruma faktörlü gün örtüleri kullanılmalıdır. Hem güneş korumalı hem de fiziksel blok yapan ajanlar daha kullanışlıdır(2). Güneş koruyucular içeren makyaj ürünlerinin kullanılması birçok hastada faydalı olmaktadır(2).

**Diğer Deneysel Sağaltım Seçenekleri:**

**Anti TNF- $\alpha$ :** TNF- $\alpha$ 'ya yönelik biyolojik sağaltımlar LE'de kullanılmış ve bir miktar etkinlik bildirilmiştir. Ancak Kutan LE'nin anti-TNF sağaltımıyla kötüleşebildiği de bilinmektedir(35).

**B hücelere yönelik sağaltım:** B lenfositler autoantikor sekresyonu göz önüne alınmaksızın direkt sayrılığın gelişiminde ve aktivasyonunda rol oynarlar. Bu nedenle B hücrelerinin azaltılması direkt T hücre aktivasyonunu ve makrofajlarca T hücre aktivasyonunu azaltır ve antijen sunucu B hücreleri de ortadan kalkar(35). CD20'ye karşı geliştirilmiş bir şimerik monoklonal antikor olan rituksimab, anti-CD22 monoklonal antikor olan epratuzumab ve B lenfosit stimülatörü olan BLyS ile ilgili çalışmalar sürmektedir.

**Tablo 2: KLE sağaltımı**

	Terapötik ajan	Doz
Hafif/lokalize kutan lupus	*Gün örtüsü *Topikal/intralezyonel kortikoid *Topikal takrolimus / pimekrolimus *Antimalaryal Hidroksiklorokin Klorokin Kinakrin	2x1 / triamsinolon<10 mg/cc    200 mg 2x1 (5-7 mg/kg/g) 250-500 mg 1x1 (4 mg/kg/g) 100-200 mg 1x1
Yaygın kutan lupus	*Retinoidler İsotretinoin Asitretin *Dapson *Talidomid *Klofazimin	40 mg 2x1 20-50 mg 1x1 100 mg 1x1 100-400 mg/g 100-300 mg/g
SLE	*Prednizolon  *Siklofosfamid  *Azotiyoprin *Siklosporin *Mikofenolat mofetil *Metotreksat	Hafif bulgular < 0.125 mg/kg/g Orta < 0.125 – 0.5 mg/kg/g Şiddetli 1-2 mg/kg/g 1 - 5 mg/kg/g; şiddetli nefropati ve vaskülitte 5 - 9 mg/kg/g IV bolus 2 - 2.5 mg/kg/g 2.5 - 5 mg/kg/g 1-2 g/g 7.5-30 mg/hafta

### **2.1.10. Prognoz**

DLE'nin seyrini tahmin edebilmek güçtür. DLE tanısı alan her hasta SLE açısından incelenmelidir, çünkü SLE hastalarının %30 kadarında diskoid lezyonlar bulunmaktadır. Hastalarda iyi bir fizik muayene, rutin kan-idrar testleri, ds DNA antikör ölçümü yapılmalıdır. Eğer tüm bu testler negatifse sayrılığın deriyle sınırlı kaldığı düşünülerek DLE tanısı konulabilir. Hastaların %5-10 kadarında yıllar sonra SLE semptomları gelişebilmektedir. DLE atrofi, sikatriks ve pigmentasyon değişiklikleriyle iyileşmektedir. Ek olarak özellikle kronik ülsere DLE lezyonlarından skuamöz hücreli kanser gelişebilmektedir. Bazen burun ve kulaklarda mutilasyon gelişebilmektedir. Sikatriksyel alopesi belirgindir(2, 10).

SKLE alevlenme ve iyileşme periyotlarıyla seyredir. Hastaların %30-50 kadarı SLE kriterlerini tamamlayabilmekte fakat çoğunun seyri daha hafif olmaktadır. Neonetal LE Ro, La ile ilişkili olduğundan bu olguların doğan çocukları risk altındadır. Renal veya SSS tutulumu gelişen %10-20 olguda sıklıkla lökopeni ve dsDNA antikörleri bulunmaktadır(2, 10).

SLE'nin seyrini tahmin edebilmek güçtür. Sayrılığın erken tanısı, daha özgün ANA testlerinin uygulanması, sistemik kortikosteroid kullanımı, immunsupresif ajanlar, antihipertansifler, diyaliz, böbrek transplantasyonu prognozu iyileştirmiştir. Günümüzde 5 yıllık sağkalım oranı %90'nın üzerindedir(10). İlk 5 yıl seyrini belirleyen kritik faktörler böbrek tutulumunun derecesi ve infeksiyonlardan korunmadır. Çocuklar ve genç erişkinlerde, başlangıç yaşı 50 yaş üzeri olanlara göre daha kötü seyredir. Erkeklerde daha az görülmekle beraber daha kötü seyirlidir. Güneş ışığı, ilaçlar, viral infeksiyonlar ve hormonlar prognozu kötüleştirebilir. Gebelik SLE hastaları için zor bir durumdur. Gebelik SLE'nin alevli döneminde gelişirse ilk trimesterde veya doğumdan sonraki aylarda annenin sağlığında belirgin kötüleşme görülebilir. Remisyon döneminde gebelik gelişirse; gebelik sırasında veya sonrasında alevlenme beklenmemektedir(2).

### **2.2. Ekstrasellüler Matriks ve Matriks Metalloproteinazların Önemi**

Hücre-matriks etkileşimleri ekstrasellüler matriks (ESM) bileşenlerinin hidrolizinden sorumlu olan proteolitik enzimler (ekstrasellüler proteazlar) tarafından düzenlenir. Bu enzimler ESM yapısının bileşimini ve bütünlüğünü düzenleyerek matriks molekülleri tarafından oluşturulan sinyallerin kontrolü, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve ölümünde de temel rol oynar(64, 66). Ekstrasellüler proteazların bu kadar çok fonksiyona sahip olmaları onları potansiyel terapötik hedefler haline getirmektedir(65, 66). Bu enzim sistemlerinin

içinde MMP'ler önemli bir grubu oluşturmaktadır. MMP'ler ESM bileşenlerini yıkıma uğratan  $Zn^{++}$  ve  $Ca^{++}$ 'a bağımlı nötral endopeptidaz ailesi olarak bilinirler. Türlerine göre endotel hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, vasküler düz kas hücreleri, T lenfositler, trombositler, kondrositler, keratinositler, epitelyum hücreleri, mezaşimal hücreler, nötrofiller, trofoblastlar, osteoblastlar gibi oldukça çeşitli hücre tipi tarafından eksprese edilirler(5, 66). Organizmada fizyolojik olayların sürdürülmesinde MMP aktivitesi ile onların özgün endojen doku inhibitörleri (TIMP'ler) arasında sürekli bir denge söz konusudur(66, 67). MMP'ler ve TIMP'ler normal dokularda düşük düzeyde eksprese edilirler ve birçok biyolojik süreçte rol oynarlar. Bunlar arasında kemiğin yeniden modellenmesi, yara iyileşmesi, angiyojenez, inflamasyon, apoptozis, immün cevap gelişimi, embriyonik gelişim, blastosit implantasyonu, organ morfogenezi, sinir hücre gelişimi, ovülasyon, servikal dilatasyon, postpartum uterus involüsyonu, endometriyal siklus ve saç folikülü siklusu sayılabilir(4, 66, 68). MMP ekspresyonu, gen transkripsiyonunu etkileyen faktörlerin etkisi altındaki çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullarda gelişen doku yeniden modellenmesi sırasında artar(69). Bu sırada MMP'lerin üretimi TIMP'lerin üretimini aşabilir. Böylece MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki denge bozulur. Dengenin MMP aktivitesi yönüne kayması matriksin kontrolsüz olarak yıkılmasına ve sonuçta patofizyolojik olayların oluşumuna zemin hazırlar. MMP'lerin rol oynadığı patolojik olaylar arasında kanser ve ateroskleroz başta olmak üzere artrit, nefrit, gastrointestinal ülser, peridontal sayrılık, kornea ülseri, deri ülseri, multipl skleroz, nörolojik sayrılık, Alzheimer sayrılığı, karaciğer fibrozu, fibrotik akciğer sayrılığı, amfizem, kan beyin bariyerinin yıkılmasını sayılabilir(4). Yeni üyelerin katılımı ile sürekli genişleyen bu enzim ailesinin bugüne dek klonlanmış ve sekanslanmış 66'dan fazla üyesi bulunmaktadır(Tablo 3)(4, 66, 70, 71). Bunlardan 23'ünün insanlarda sentez edildiği gösterilmiştir(72). Bu üyeler substrat özgüllüğüne ve yapılarına göre kollagenazlar (MMP-1,-8,-13), gelatinazlar (MMP-2,-9), stromelisinler (MMP-3,-10), membran tipi MMP'ler (MTMMP'ler: MMP-14,-15,-16,-17,-24,-25), matrilisinler (MMP-7,-26) ve diğerleri (MMP-19,-20,-21,-27,-28) olmak üzere 6 alt grupta sınıflandırılmıştır(66, 70, 73, 74). En yaygın olarak kullanılan sınıflandırma şekli "substrat özgüllüğüne göre" yapılan sınıflandırmadır. Bununla birlikte "molekül ağırlıklarına göre" veya "yapılarına göre" yapılan sınıflandırmalar da kullanılmaktadır(66, 72, 75).

**Tablo3: MMP'lerin sınıflandırması(66)**

Grup adı	Tanımlayıcı isim	Numara	Temel substrat
Kollajenazlar	İnterstisyel kollajenaz	MMP-1	Kollajen Tip 1, 2, 3, 7 ve 10, jelatin, PG
	Nötrofil kollajenaz	MMP-8	Kollajen Tip 1, 2, 3, PG
	Kollajenaz 3	MMP-13	Kollajen Tip 1, 2, 3
	Kollajenaz-4	MMP-18	Kollajen 1
Jelatinazlar	Jelatinaz A	MMP-2	Jelatin, kollajen IV, V, VII; X, XI, elastin
	Jelatinaz B	MMP-9	Jelatin, kollajen IV, V, XIV, elastin, PG
Stromelisinler	Stromelisin 1	MMP-3	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 2	MMP-10	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 3	MMP-11	PG, laminin, elastin, entaktin, tenaskin, versikan, jelatin, kollajen III, IV, IX, X
Membran tipi MMP'ler (MT-MMP'ler)	MT1-MMP	MMP-14	Kollajen I, II, III, FN, laminin, VN
	MT2-MMP	MMP-15	Agrekan, FN, laminin, tenaskin
	MT3-MMP	MMP-16	Kollajen III, FN, jelatin
	MT4-MMP	MMP-17	Jelatin
	MT5-MMP	MMP-24	PG
	MT6-MMP	MMP-25	Kollajen IV, fibrin, FN, jelatin
Diğerleri	Matrilisin 1	MMP-7	Serin proteaz inhibitörleri
	Metaloelastaz	MMP-12	Kollajen I, IV, elastin, FN, jelatin, laminin, VN
	RASI-1	MMP-19	Kollajen IV, entaktin, FN, jelatin, laminin, tenaskin
	Enamelisin	MMP-20	Agrekan, amelogenin
	X-MMP	MMP-21	Tanımlanmamıştır
	CA-MMP	MMP-23	Tanımlanmamıştır
	Matrilisin 2	MMP-26	Kollajen IV, FN, jelatin, VN
	CMMP (Horoz)	MMP-27	Tanımlanmamıştır
	Epilisin	MMP-28	Tanımlanmamıştır

PG: Proteoglikan, FN: Fibronektin, VN: Vitronektin.

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2006, 26

### 2.2.1. Gelatinazlar;

Gelatinaz A (MMP-2) ve Gelatinaz B (MMP-9) bu alt gruba aittir. Gelatinaz A'nın latent formu 72 kDa, aktif formu 66 kDa ağırlığındadır. Gelatinaz B'nin ise latent formu 92 kDa, aktif formu 84 kDa ağırlığındadır(76). Her iki enzim de katalitik bölge içinde fibronektin tip II'nin üçlü tekrarını içerir. Benzer proteolitik aktiviteler gösterirler ve denatüre kollagenler, gelatinler ve kollajen tip IV,V,XI, laminin ve "aggrekan" nükleus proteinleri gibi çok sayıda ekstrasellüler matriks moleküllerini parçalarlar. MMP-2 kollajenazlar ile benzer şekilde kollajen tip I, II, III'ü de parçalayabilirken benzer etkiyi MMP-9 yapmaz. Ancak MMP-2'nin kollajenaz aktivitesi MMP-1 ve diğer kollajenazlardan solüsyonda daha zayıftır. Bununla beraber MMP-2 hücre yüzeyine toplandığı için ve membran bağımlı MT-MMP'ler tarafından aktive edildiğinden, hücre etrafında birikebilir ve orta derecede kollajenolitik aktivite gösterebilir. Ayrıca kollajenazlarla kırık kollajeni daha küçük parçalara ayırırken 'işbirlikçi' olarak aktivite gösterebilirler, çünkü bu parçalar vücut ısısı 37 C° iken denatüreler(77).

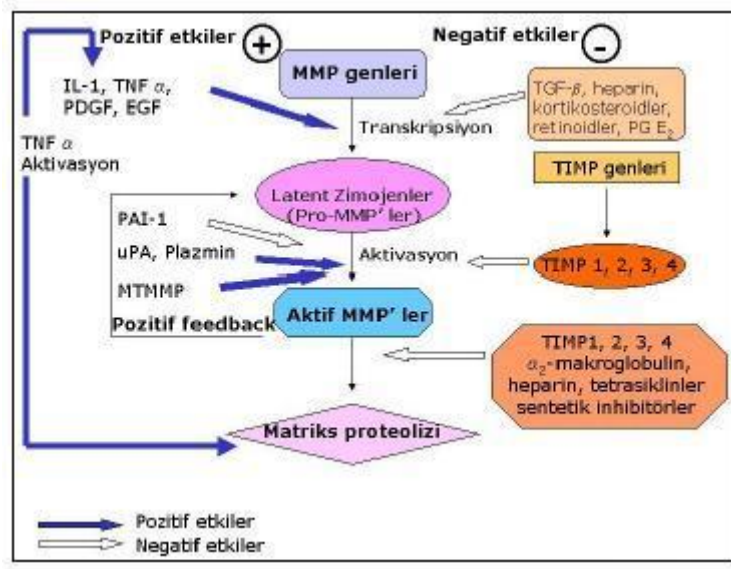
## 2.2.2. MMP'lerin Yapısı

MMP'ler çeşitli ortak yapısal özelliklere sahiptirler. MMP'lerin tümü tipik olarak N terminalinde enzimin lider dizilimi olan sinyal peptid bölgesi ("pre-domain") içerirler(66, 73, 78). Bu lider dizilim enzimi salgılanma için etiketler ve salgılanma sonrası kaybolur. İkinci bölge olan "pro-domain" enzimin latent formda kalmasından sorumludur ve enzim aktivasyonunu takiben kaybolur. Bir sonraki kısım  $Zn^{++}$  bağlayan bölgeyi içeren katalitik "domain"dir(4). Katalitik "domain" ek olarak yapısal bir  $Zn^{++}$  iyonu ve 2-3  $Ca^{++}$  iyonu içerir. Bu bölge stabilite ve enzimatif aktivitenin oluşması için gereklidir(4, 66).

## 2.2.3. MMP Aktivitesinin Düzenlenmesi

MMP'ler vasküler ESM'nin yıkımında esansiyel rol oynarlar. MMP'lerin tümü preenzim olarak sentezlenir ve bunların çoğu inaktif latent zimojen form olan pro-enzim formunda salgılanır. Latent zimojenlerin aktivasyonu hücre içinde, MT-MMP'ler aracılığıyla hücre yüzeyinde, diğer proteazların etkisiyle ekstrasellüler aralıkta ya da "aktivasyon kaskadı" olarak adlandırılan şekilde ya da önceden aktive olmuş MMP'lerin diğerlerini aktive etmesiyle meydana gelebilir(79). MMP'lerin proteolitik aktiviteleri 3 basamakta düzenlenir. Bunlar transkripsiyon, pro-enzimin aktivasyonu ve enzim aktivitesinin inhibisyonudur(66).

Şekil 1: MMP Aktivitesinin Düzenlenmesi(66)



#### 2.2.4. MMP-9

MMP-9 hücre-matriks oluşumunu düzenleyen multi-domain bir enzimdir. MMP gelatinaz alt ailesine bağlıdır ve ana substratı gelatindir. MMP-9 keratinositler, monositler, doku makrofajları, polimorfonükleer lökositler ve çeşitli malin hücreler tarafından üretilmektedir(3).

1. Sinyal Peptid Bölgesi: N terminal parçası MMP'yi endoplazmik retikuluma yöneltir.
2. Pro-domain: MMP'yi inaktif formda tutar. Bu bölümdeki sistein katalitik çinkoyu bağlayarak pro-MMP'nin latent kalmasını sağlar. Bu parça ayrıldığı zaman enzim aktifleşir. Bu sürece sistein anahtarı denir.
3. Katalitik Bölge: Zn bağlayan bölge, bir kalsiyum iyonu ve korunmuş bir methionin içeren katalitik mekanizmayı içerir. Bunlar MMP'nin üç boyutlu yapısı, stabilitesi ve enzimatik aktiviteleri için gereklidir.
4. Hemopeksin benzeri bölge: C terminal bölgesidir. Substrat bağlarken ve/veya TIMP'ler ile etkileşiminde önemli bir rol oynar.
5. Mentеше Bölgesi: Prolinden zengin bir bölgedir. Katalitik bölgeyi hemopeksin benzeri bölgeye bağlayan esnek bir bağlayıcıdır.
6. Fibronektin benzeri gelatin bağlayıcı bölge: Bu özellikli bölge MMP-2 ve MMP-9'da bulunmaktadır. Bunlar üç fibronektin tip 2 tekrarıdır. Gelatin, laminin ve kollajen tip 1- 4'e bağlanmaktan sorumludur.
7. Kollajen benzeri bölge: Serin/prolin/threoninden zengin kollajen tip 5 benzeri bölge, büyük olasılıkla çok sayıda oligosakkarit bağlantısına olanak sağlar(3).

#### MMP-9 Fonksiyonu

MMP-9'un ana fonksiyonu hücre matriks oluşumunun düzenlenmesidir. MMP-9 bazal membranın başlıca bileşeni olan denature kollagen (gelatinler) ve tip IV kollagene yapışır. Bu yapışma limfositler ve diğer lökositlerin kan ve lenf dolaşımından bölgeye gelmelerine yardımcı olur. MMP-9 aynı zamanda "myelin basic protein" (MBP) ve tip 2 gelatin gibi myelin bileşiklerine yapışır. Geri kalan epitoplardan autoimmünite geliştirmesine yol açar. Buna 'REGA modeli autoimmünite' denir(3).



## MMP-9 Regülasyonu

MMP-9'un aktive lenfosit, makrofajlardan ekspresyon ve salgılanımı sitokinler, kemokinler, eikanazoidler ve peptidoglikanlar tarafından sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. MMP-9 gen transkripsiyonu, sentez, salınım, aktivasyon, inhibisyon ve glikolizasyon gibi farklı seviyelerde sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir(3, 66).

**Tablo 4:** MMP-9'u uyaran ve baskılayan faktörler

Uyarıcılar	Baskılayıcılar
IL-1	IL-4
IL-2	IL-6
IL-8	IL-10
NF-kappa B	IFN-b
TNF-a	Elastin
AP-1	TIMPs
Plasmin	alfa-2 makroglobulin

Not. (NF-kappa B):Nükleer faktör kappa B;(AP-1):Aktivatör protein 1

Translasyon: Birçok hücre tipinde MMP-9 transkripsiyonu sitokinler ve hücrel etkileşim ile uyarılabilmektedir. Diğer hücre tiplerinin tersine nötrofiller MMP-9'u maturasyonları esnasında eksprese etmektedirler ve sonrasında ikincil ve üçüncül granüller içinde depo etmektedirler. Bu nedenle olgun nötrofillerin uyarılması MMP-9 up-regülasyonu ile sonuçlanmaz, fakat enzimin degranülasyon ile salınımı uyarılabilmektedir(3).

**Tablo 5:** MMP-9 Regülatörleri

Regülatör	Etki
IL-1, TNF alpha, IL-2	MMP-9 dahil MMP'lerin üretimini uyarır
Endothelial hücreler	ICAM-1/LFA etkileşimi yoluyla monosit ve T hücrelerinde MMP-9 ekspresyonunu direkt olarak artırır
ESM komponentleri ile hücre teması	Jelatinazların ekspresyonunu düzenlerler
IL-8	Nötrofillerden MMP-9 hızlı salınımını uyarır
IL-4, IL-6, IL-10, IFN-beta ve IFN-r	Farklı hücrelerden bazal veya uyarılmış MMP-9 ekspresyonunu azaltıcı etkileri vardır

## MMP-9 Salgilama ve Aktivasyon

Translasyonu takiben enzim normal sekresyon yolağı ile hemen salgılanır. MMP-9 proenzim şeklinde salgılanır, propeptid parçasının proteoliz ile ayrılması ile konformasyonel değişim olur. Zn hidrolitik su molekülü ve substrat için ulaşılabilir olur ve bu da enzim aktifleşmesi ile sonuçlanır. Farklı MMP'ler, stromeysin-1 ve MMP-2 gibi farklı proteazların MMP-9'u aktive edebildiği bilinmektedir. Bazı lökosit tipleri MMP-9'u kimyasal olarak aktive edebilmektedir. Aktive nötrofiller pro MMP-9'u aktive edebilecek önemli miktarda hipoklorik asit üretirler. MMP-9 çoğunlukla değişik miktarlarda özgün inhibitörü yani doku TIMP-1 ile birlikte salgılanır. "*Immunogold*" elektron mikroskopisi sitozolik MMP-9'un TIMP-1'den bağımsız olduğunu oysa salgılanan MMP-9'un TIMP-1'e bağılı olduğunu göstermiştir(3, 66).

Çeşitli hücrelerde eksprese edilen ürokinaz-tip plazminojen aktivatörünün (uPA) aktif formunun plazminojeni plazmine dönüştürdüğü ve oluşan plazminin pro MMP'leri aktive ettiği kabul edilmektedir(80). Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1), uPA üzerinde inhibitör etkilidir ve MMP'lerin plazmin aracılı aktivasyon kaskadı ile zıt yönde etkileşir(69). uPA aracılı aktivasyon kaskadında bir MMP'nin aktivasyonu, diğer bir MMP'nin aktivasyonuna yol açar, aktiflenen enzim bir diğer MMP'yi aktive edecek şekilde pozitif bir döngü oluşturur. MMP-2 ve MMP-9 aktive olmuş doku makrofajları tarafından üretilen serbest radikallerin etkisiyle ESM içinde kendiliğinden aktive olabilir(66, 69).

## MMP-9 İnhibisyon

MMP-9 bir kere aktive olduktan sonra halen  $\alpha$ -2 makroglobülin gibi özgün olmayan inhibitörler ve/veya MMP'lerin özgün doku inhibitörleri olan TIMP'ler ve özellikle TIMP-1 tarafından inhibe edilebilir. MMP-9 latent pro formunda iken, TIMP-1 hemopeksin bölgesinin karboksi ucuna daha düşük bir affinite ile bağlanabilir.

TIMP'ler bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde temel olan proteinlerdir(4). Pek çok dokuda ve vücut sıvılarında bulunurlar. MMP'lere irreversibl ve non-kovalent biçimde bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini de inhibe ederler. Böylece TIMP'ler MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini sıkı kontrol altında tutarlar(67, 81). TIMP'ler ilk olarak kollagenaz inhibitörleri olarak serumda ve fibroblast kültür ortamında saptanmıştır. İnsanlarda 22-29 kDa arasında olmak üzere 4 tip TIMP (TIMP-1,-2,-3,-4) bulunmaktadır. TIMP-1 ve -3 glikoprotein

yapıdayken TIMP-2 ve -4 karbonhidrat içermemektedirler(77). TIMP'ler de MMP'ler gibi vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından sentez edilirler(5, 66, 82). TIMP'ler MMP aktivitesini inhibe etme yönünden benzerlik göstermekle beraber matriksteki lokalizasyonları ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi yönünden aralarında farklar vardır. Ayrıca değişik MMP türlerine göre de özgüllük gösterirler(66).

### **MMP-9 İnhibisyonunun Kaldırılması**

Stromelysin-1 konsantrasyonu, TIMP-1 konsantrasyonundan düşük olduğu zaman stromelysin-1 inhibe olur ve aktivasyon gerçekleşmez. Stromelysin-1 konsantrasyonu TIMP-1 konsantrasyonundan yüksek olursa MMP-9 tam olarak aktive olur, çünkü TIMP-1 MMP-9'dan stromelysin-1'e yer değiştirmektedir(3).

### **Translasyon sonrası Modifikasyon**

Glikolizasyon: N ve O' ya bağlı oligosakkaritler kollagen benzeri bölgeye bağlanırlar. Oligosakkaritler enzimin özel alanlarını parçalanmaya karşı koruyabilmekte ve molekülü stabilize etmektedir.

Dimerizasyon: Diğer bir translasyon sonrası modifikasyonudur, serbest sistein rezidülerine bağlı olarak, gelatinaz B formları kovalent şekilde homodimerlere bağlanır.

Degranülasyon: Nötrofil hücre içinde depolanan oldukça büyük miktardaki MMP-9'un hızlı degranülasyonu çeşitli tiplerde kemotaktik faktörler tarafından indüklenmektedir. Bu MMP-9 aktivitesinin diğer bir aşamasıdır. IL-8 nötrofillerden MMP-9 hızlı degranülasyonunu stimüle eder(3).

### **2.2.5. Lupus ve MMP-9**

SLE çeşitli klinik belirtilerin olduğu böbrek ve diğer organlarda immun kompleks birikimlerini de içeren sistemik autoimmün bir sayrıktır. Nükleer, sitoplazmik ve hücre yüzey antijenlerine karşı olmak üzere geniş bir spektrum autoantikor üretimi yanında B ve T hücre fonksiyonlarında bozukluk gözlenir.

Matriks metalloproteinazları hücre-matriks oluşumunu düzenleyen, proteolitik aktiviteleri sırasında çinko kullanan büyük bir enzim grubudur. MMP ailesinin en kompleks ve en büyük elemanı olan MMP-9, keratinosit ve monosit, doku makrofajları,

polimorfonükleer lökositler ve bir grup malin hücre tarafından salınır; özgün doku inhibitörlerinden TIMP-1 tarafından inhibe edilir. Bazal membranın önemli bir bileşeni olan tip IV kollajeni ayıran MMP-9, limfosit ve diğer lökositlerin kan ve limf dolaşımına girip çıkmasına olanak sağlar; ayrıca myelin bileşiklerini parçalayarak autoimmunitiyi başlatan epitoplara ortaya çıkmasına neden olur(3, 5).

Faber-Elmann ve ark.(83) aktif olan ve aktif olmayan SLE hastalarında patogenez, sayrılığın seyri ve tanısallığı açısından MMP-9 aktivite analizi yapmışlar; 40 SLE'li hasta ve 25 kontrol olgusunda jel zimgrafisi ve aktivite değerlendirme kiti kullanarak SLE'li olgularda sağlıklı kontrollerine göre MMP-9 aktivitesini anlamlı olarak yüksek bulmuşlar, MMP-2 aktivitesinde ise fark saptamamışlar. Bu çalışmada yüksek MMP-9 seviyeleri ile DLE, Raynaud fenomeni, pnemuni, mukozal ülser ve antifosfolipid antikorları arasında pozitif korelasyon saptanmış, ancak MMP-2 ile bu ilişki gözlenmemiştir. Yüksek MMP-9 düzeylerinin kadın olguların aksine erkek olgularda SLE aktivite indeksi ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. SLE'li kadın olgularda MMP-9 aktivite düzeyleri ile sayrılık aktivite belirteçleri arasında ilişkinin bulunmaması MMP-9 aktivite ve üretiminin seks hormonları tarafından düzenlenmesi olasılığına bağlanmıştır. Çalışmadaki erkek olgu sayısının az olmasının da sonuçları etkileyebileceği bildirilmiştir(83). MMP-9'un T hücreleri, nötrofiller, makrofajlar gibi periferik kan hücreleri tarafından salgılandığı gösterilmiştir. Hastalardaki MMP-9 aktivite seviyeleri ile periferik kan hücre sayıları arasında korelasyon olmaması MMP-9'un periferik immün kan hücreleri tarafından salgılanmadığını daha çok böbrekler veya akciğer/plevra gibi SLE'den etkilenen organlar tarafından salgılandığını akla getirmektedir. Pnemonisi olan tüm SLE hastalarında yüksek MMP-9 seviyelerinin gözlenmesi, hastalanan akciğerlerin yüksek MMP-9 seviyelerinin kaynağı olduğu varsayımını desteklemektedir. Bu gözlemler MMP-9'un SLE patogenezinde rolü olabileceğini göstermektedir(3, 83).

Makowski ve Ramsby (84) yaptıkları çalışmada dolaşımdaki MMP-9 konsantrasyonlarını sırasıyla tek ve çift sarmal DNA antikorları ile ve inflammatif artritlik sayrılıklarla ilişkisini araştırmışlardır. Anti-ssDNA ve anti-dsDNA antikor seviyesi ile MMP-9 arasında ters korelasyon gözlenmiştir. SLE alevlenmesi sırasında anti-dsDNA antikorlarının dokuda birikime bağlı düşük saptandığı ve aksine serum MMP-9 konsantrasyonunda artış olduğu belirlenmiştir. Bu durum olasılıkla artmış inflammatif yanıtı göstermektedir ki araştırmacılar serum MMP-9'un SLE sayrılık aktivitesini gösteren bir belirteç olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir(3, 84).

Son yıllarda MMP-9 aktivite düzeyleri ve doku inhibitörü olan TIMP-1 düzeyleri autoimmün birçok sayrılıkta incelenmiştir. Kontinen ve ark.(85) Sjögren sindromunda tükürkte MMP-9 konsantrasyonunda ve aktivitesinde artış bildirmişlerdir. Wan-Uk Kim ve ark.(86) yaptıkları çalışmada Sistemik Sklerozlu olguların serumlarında sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında MMP-9 ve TIMP-1 konsantrasyonlarında artış saptamışlardır. Polimiyozitli olguların kas biyopsilerinde MMP-9 mRNA ekspresyonunda anlamlı yükseklik gösterilmiştir(3).

Sonuç olarak MMP-9 autoimmün sayrılıklar da oluşan çeşitli patolojik yollar ile ilişkili olarak görünmektedir. Bu sayrılıkların patogenezindeki rolünün büyüklüğü ise açık değildir, direkt etyolojik bir faktör olabileceği gibi, sayrılığın durumuna bağlı alternatif yan ürün olarak sınıflandırılabilir. MMP-9 bazal membranın ana bir komponenti olan kollagen tip-4'ü parçalar ki bu hasarlanan dokuya veya hasarlanmak üzere olan dokuya immün sistem hücrelerinin invazyonunu sağlamaktadır. Aynı zamanda MMP-9'un yapışma fonksiyonuyla sayrılığı geliştiren veya patogenezinde katılıp immün yanıtı başlatan çeşitli yeni epitoplara üretilmesi mümkündür. MMP-9 ekspresyon veya aktivitesini azaltan sağaltımların autoimmün sayrılıklar için terapötik bir seçenek olabileceği varsayılmaktadır(3).

### **3. GEREK VE YÖNTEM**

Çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Kliniği'nde izlenen klinik ve histopatolojik olarak KLE tanısı alan 22 olgu alındı. Tüm olgulara çalışma konusunda bilgi verilerek bilgilendirilmiş olur formları imzalatıldı. Olguların sayrılıklarıyla ilgili ayrıntılı öykü, özgeçmiş ve soygeçmiş özellikleri kaydedildi. Deribilimsel bakıları yapılan KLE'li olguların kutan tutulum şiddetini belirlemek için Kutan LE Alan Şiddet İndeksi (KLAŞİ) kullanıldı. KLAŞİ hem biyopsi alınan kutan LE lezyonu için (Tablo 6) hem tüm kutan LE lezyonları için ayrı ayrı hesaplandı. Hastaların fotodökümantasyonları yapıldı ve biri lezyonel diğeri perilezyonel normal deriden olmak üzere 2 adet insizyonel deri biyopsisi alındı. 22 olgunun biyopsi alınan KLE lezyonlarının vücuttaki dağılımı 3'ü yüz, 1'i boyun V bölgesi, 2'si boyun, 10'u saçlı deri, 3'ü gövde ve 3'ü üst ekstremitelerde şeklindeydi. Biyopsi materyalleri herhangi bir çözeltili eklenmeksizin incelemeye alınmaya kadar yaş doku şeklinde -80C°'de saklandı.

**Tablo 6:** Lezyon KLAŞI değerlendirilmesi

Eritem	Skuam	Pigmentasyon(Hipo ve/veya Hiper)	Sikatriks,Atrofi,Pannikulit	TOPLAM
(0-3) 0 yok 1 pembe 2 kırmızı 3 koyu kırmızı /mor/krustalı/hemoragik	0-2) 0 yok 1 skuam 2 verrukoz hipertrofik	(0-1) 0 yok 1 var	(0-2) 0 yok 1 sikatris 2 şiddetli atrofik sikatris pannikulit	

### 3.1. Biyokimyasal Analizler İçin Doku Örneklerinin Hazırlanması:

Doku homojenizasyonuna başlamadan önce tüm dokuların miktarları hassas terazi yardımıyla tartıldı ve kaydedildi. Dokuların üzerine doku miktarının yaklaşık 10 katı olacak şekilde homojenizasyon tamponu konuldu. Daha sonra sonikatör (Sonic & Materials) yardımıyla dokular buz dolu bir kabın içerisinde homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar +4°C’de 10.000g’de 10 dakika santrifüj (Heraeus) edildi. Santrifügasyon sonrası süpernatantlar 0,5ml’lik tüplere alınarak denemelerde kullanılmaya kadar -80 °C’de saklandı.

#### *BCA PROTEİN TAYİNİ*

Gelatin zimografi yöntemi uygulanmadan önce, kuyucuklara yüklenecek protein miktarının belirlenmesi amacıyla, homojenattaki protein konsantrasyonu Biçinkoninik Asit (BCA) yöntemi ile saptandı. Yöntemin prensibi, alkali koşullarda protein tarafından  $Cu^{2+}$  iyonunun  $Cu^{1+}$  iyonuna indirgenmesine ve BCA reaktifi tarafından renk değişimine dayanmaktadır (87).

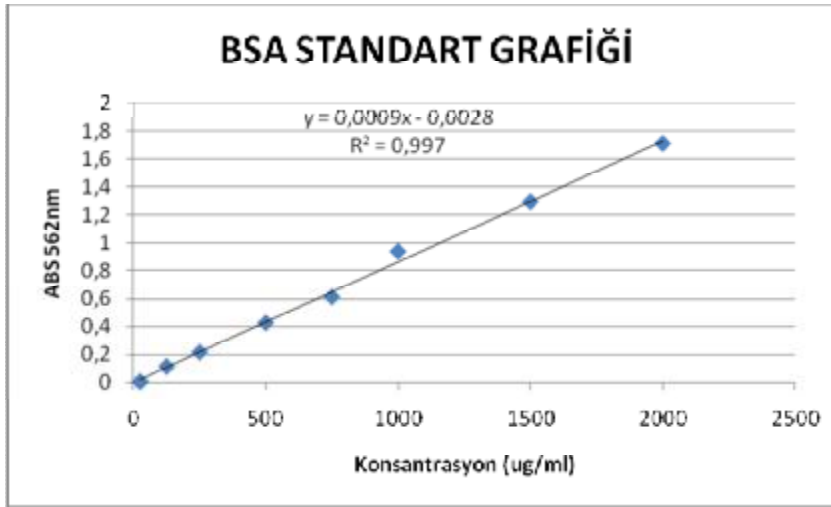
#### *Uygulama Adımları*

Protein tayini Pierce BCA kiti (Thermo - 23225) kullanılarak belirlendi.

1. Standart protein olarak sığır serum albumin (BSA), Kör olarak dH<sub>2</sub>O kullanıldı.
2. Öncelikle farklı konsantrasyonlarda (2000, 1500, 1000, 750, 500, 250, 125, 25 µg/ml) BSA standardı hazırlandı.
3. İçerisinde biçinkoninik asit bulunan BCA A Reaktifi ve % 4 bakır sülfat içeren BCA B Reaktifi 50:1 oranında karıştırılarak “Working Reagent” hazırlandı.

4. 96 kuyucuklu bir mikroplağa standart ve örneklerden 25'er µl eklendi.
5. Her kuyucuğa 200 µl "Working Reagent" eklendi.
6. 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.
7. "Enzim-Linked-İmmün Sorbent Assay"(ELISA) okuyucuda (Bio-Tek) 562 nm'de örnek ve standartların absorbans değerleri okundu.
8. Elde edilen absorbans verilerine karşı standart konsantrasyonu grafiği çizildi ve bu standart grafiğinden yararlanılarak örneklerin total protein konsantrasyonu hesaplandı.

**Tablo 7:** BSA standart grafiği



### 3.2. MMP-9 Aktivitesinin Gelatin Zimografi ile Belirlenmesi

#### GELATİN ZİMOGRAFI

Zimografi, proteazların (özellikle MMP'lerin) aktif ve zimojen formlarını tayin etmede kullanılan basit ve duyarlı bir yöntemdir.

Bu yöntemde öncelikle indirgeyici olmayan koşullarda Sodyum Dodesilsülfat-Poliakrilamid Jel Elektrofrez (SDS-PAGE) ile proteinlerin molekül ağırlıklarına göre ayrımı sağlanır. Ayrımda kullanılan poliakrilamid jel akrilamid ile kopolimerize olmuş spesifik bir substrat (örneğin, gelatin) içerir. Elektrofrez sırasında kullanılan SDS, MMP'leri denatüre ederek inaktif formda olmalarını sağlar.

Elektrofrez sonrası, jeller Triton X-100 ile yıkanır. Triton X-100, jellerden SDS'i uzaklaştırarak enzimlerin aktivitelerini geri kazanmalarını sağlar. Ayrıca pro-MMP'ler herhangi bir parçalanma olmaksızın otoaktive olurlar. Daha sonra poliakrilamid jel, uygun bir aktivasyon tamponunda ve uygun sıcaklıkta inkübe edilir. Bu süreç içerisinde renatüre olan MMP'ler jel içerisinde bulunan substratı parçalarlar.

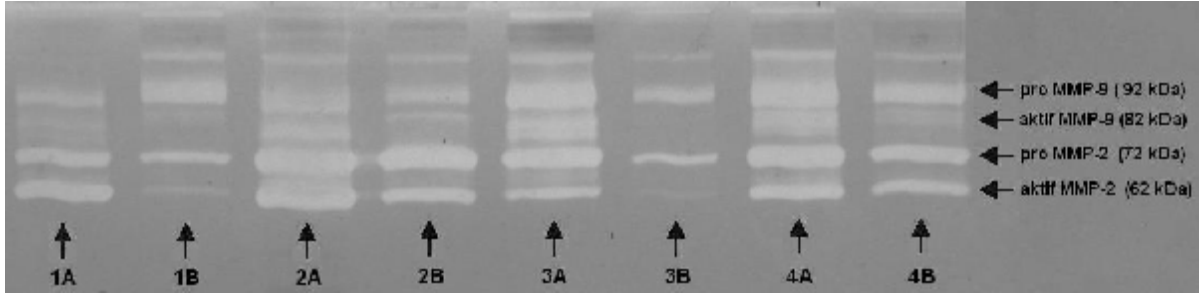
İnkübasyon sonrası jeller Coomassie Blue boyası ile boyandığında, parçalanmamış substrata ait koyu mavi bir arka plana karşılık, MMP aktivitesini gösteren substratın parçalandığı litik beyaz bantlar görülür (88).

#### Uygulama Adımları

1. Öncelikle 1 mg/ml gelatin substrat içeren SDS-PAGE jeli hazırlandı. Bunun için jel hazırlama düzeneği (Biorad) kullanılarak aralarında 0,75 mm boşluk bulunacak şekilde camlar sisteme yerleştirildi.
2. İlk olarak % 10'luk ayırıcı jel hazırlanarak iki cam arasında döküldü ve yaklaşık 30 dakika jelin polimerleşmesi için beklendi.
3. Ardından % 5'lik paketleyici jel hazırlandı ve ayırıcı jel üzerine döküldü ve 0,75mm kalınlığında 10 kuyucuklu taraklar yerleştirildi. Yaklaşık 30 dakika paketleyici jelin polimerleşmesi için beklendi.
4. Hazırlanan jeller Vertikal elektroforez sistemine (Biorad) yerleştirilerek içerisine yürütme tamponu eklendi.
5. Her kuyucukta 25 µg protein olacak şekilde homojenat ve 2X Tris-Gly-SDS örnek yükleme tamponu (Invitrogen - LC2676) karıştırılarak kuyucuklara yüklendi.
6. “*Molecular Weight Marker*” olarak “*SeeBlue Plus 2 Prestained Standart*” (Invitrogen - LC5925) kullanıldı.
7. Sistem kapatılarak sabit 120V'da 60-20 mA/jel +4°C'de yaklaşık 1,5 saat elektroforez işlemi uygulandı.
8. Elektroforezden sonra jeller yarım saat süreyle % 2,5 Triton X-100 renatürasyon tamponu ile yıkandı.
9. Daha sonra jeller, enzimlerin jel içindeki jelatini parçalamaları için 37°C'de bir gece aktivasyon tamponunda inkübe edildi.
10. Jeller, boyama çözeltisi ile 2 saat boyunca boyama yapıldı.
11. Fazla boyadan arındırma amacıyla yıkama tamponu ile yıkama yapıldı.
12. UVP marka jel dökümantasyon cihazı kullanılarak yıkanan jellerin görüntüleri alındı.  
( Resim 1).



**Resim 1:** Dört olguda lezyonlu deride (A) ve perilezyonel normal deride (B) MMP-9, MMP-2'nin aktif ve pro formlarının gelatin zimografi görüntüsü



### 3.3. TIMP-1 KONSANTRASYONUNUN ÖLÇÜLMESİ

#### TIMP 1 ELISA

##### *Yöntemin Prensipleri*

Bu çalışmada katı faz sandviç ELISA olan “*Invitrogen Human*” TIMP-1 kiti (KHC1491) kullanılmıştır. İnsan TIMP-1'ine spesifik bir monoklonal antikor, 96 kuyucuklu plate'in kuyucukları içerisine kaplanmıştır. Bu kuyucuklar içerisine önce TIMP-1 içeriği bilinen standartlar, kontrol örnekleri ve içeriği bilinmeyen örnekler daha sonra biyotinlenmiş monoklonal sekonder antikor pipetlenir. İlk inkübasyon sırasında insan TIMP-1 antijeni eş zamanlı olarak bir yandan immobilize edilmiş olan antikora, diğer yandan çözelti fazında bulunan biyotinlenmiş antikora bağlanır. Fazla sekonder antikorun yıkamayla uzaklaştırılmasının ardından streptavidin-peroksidaz enzimi eklenir. Bu enzim, dört üyeli sandviçi tamamlamak amacıyla biyotinlenmiş antikora bağlanır. İkinci bir inkübasyon ve bağlanmamış enzimi uzaklaştırmak amacıyla yıkama işlemi yapıldıktan sonra enzime bağlanarak renk oluşabilen bir substrat çözeltisi eklenir. Oluşan renklenmiş ürünün yoğunluğu, direkt olarak esas örnekte bulunan TIMP-1 konsantrasyonunun oranıdır.

#### REAKTİFLERİN HAZIRLANMASI

##### *A. İnsan TIMP-1 Standartlarının Hazırlanması*

25ng/ml standart çözeltisinden, aşağıdaki gibi standartlar hazırlandı. Seyreltmeler için Standart Dilüsyon Tamponu kullanıldı.

### *B. Streptavidin-HRP Dilüsyonunun Hazırlanması*

10 µL streptavidin-HRP 100x Konsantre Çözelti, her bir kuyucuk için 1ml streptavidin-HRP dilüenti ile seyreltilir. Oluşan çözelti streptavidin-HRP çalışma çözeltisi olarak kullanılır.

### *C. Yıkama Tamponu Dilüsyonunun Hazırlanması*

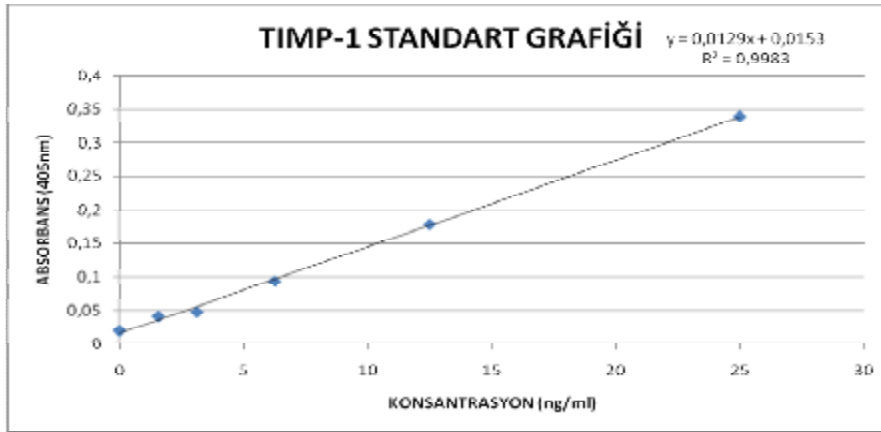
1 hacim 25x yıkama tamponu 24 hacim deiyonize edilmiş su ile seyreltilir (50ml 25x Yıkama Tamponu + 1.25 litre deiyonize edilmiş su). Hazırlanan seyreltilmiş yıkama tamponu buzdolabında saklanır ve 14 gün içerisinde kullanılmalıdır.

## **YÖNTEMİN PROSEDÜRÜ**

1. Yapılan ön denemeler sonucunda örneklerin 1:10 oranında seyreltilmesinin uygun olduğu belirlendi. Bu nedenle örnekler, standart dilüsyon tamponu ile 1:10 oranında seyreltildi.
2. Boş kuyucuklara 50 µl standart dilüsyon tamponu eklenir. Kromojen körü için ayrılan kuyucuk boş bırakılır.
3. Kuyucuklara daha önceden hazırlanmış olan standartlar ve örneklerden 50 µl eklenir.
4. Kör haricindeki diğer kuyucuklara 50 µl biyotinlenmiş anti-TIMP-1 (Biyotin Konjugat) çözeltisi eklenir ve plate hafifçe karıştırılır.
5. Plate kapağı ile plate'in üzeri kapatılır ve oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilir.
6. Kuyucuklardaki çözelti atılır ve daha önce hazırlanmış olan yıkama çözeltisi ile 4 kere yıkanır.
7. Daha sonra kromojen körünün olduğu kuyucuklar hariç tüm kuyucuklara 100 µl streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklenir.
8. Plate kapağı ile plate'in üzeri kapatılır ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilir.
9. Kuyucuklardaki çözelti atılır ve daha önce hazırlanmış olan yıkama çözeltisi ile 4 kere yıkanır.
10. Tüm kuyucuklara 100 µl stabilize edilmiş kromojen eklenir ve kuyucuklardaki sıvı mavi renge dönmeye başlar.

11. 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edilir.
12. İnkübasyon süresi sonunda her kuyucuğa 100 µl durdurma çözeltisi konulur ve hafifçe plate karıştırılır. Kuyucuklardaki çözelti maviden sarıya dönmelidir.
13. Plate okuyucu ile 450nm’de 100 µl Stabilize Edilmiş Kromojen ve 100 µl durdurma çözeltisi içeren kromojen körüne karşı her kuyucuğun absorbansı okundu.
14. Standartların absorbans değerlerine karşı standart konsantrasyonu grafiği çizilir.
15. Bilinmeyen örneklerin ölçülen absorbans değerlerinden standart grafiği kullanılarak örneklerin TIMP-1 konsantrasyonları hesaplanır.

**Tablo 8:** TIMP-1 standart grafiği



### 3.4. İstatistik:

Veriler “Statistical Package for Social Science15.0” (SPSS) programı ile bilgisayar ortamına aktarıldı. 2’li gruplar karşılaştırılırken Mann Whitney U testi, 2’den fazla alt grup karşılaştırılırken Kruskall Wallis testi kullanıldı. Aktif, pro MMP-9,-2, TIMP-1 aktivite düzeylerinin kutan lezyon klinik şiddeti ile ilişkisinin araştırılması için Spearman korelasyon testi kullanıldı. Lezyonel, perilezyonel deri örneklerinde aktivite düzeyleri karşılaştırılırken Wilcoxon işaretli sıralar testi kullanıldı. Verilerin analizinde SPSS 15.0 programı kullanıldı ve  $p < 0.05$  olması anlamlı olarak kabul edildi. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma, ortanca (AD-UD) ve yüzde olarak sunuldu.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik ve Klinik Özellikler

Çalışmaya 22 kutan LE'li olgu alındı. Olguların 16'sı kadın, 6'sı erkek idi. Yaş ortalaması  $50,1 \pm 16,6$  (ortanca değeri 47 (19-77)) yıl idi. Kutan LE'li olguların sayırlık süreleri ortalaması  $49,3 \pm 47,9$  ay ve ortanca değeri 36(4-200) ay idi. Çalışmaya dahil edilen olgular Fitzpatrick deri tipi (DT) açısından değerlendirildiğinde; 2/22'si DT1, 8/22'si DT2, 8/22'si DT3, 3/22'si DT4, 1/22'si DT5 olarak değerlendirildi.

Çalışmaya alınan olguların 7'si kutan LE tipi açısından SKLE, 15'i ise DLE olarak değerlendirildi (Resim 2,3). Çalışmaya dahil edilen KLE'li olgular olası sistemik tutulum açısından eşlik eden sistemik bulgular (kilo kaybı, ateş, halsizlik), fotoduyarlılık, "malar rash", oral-nasal ülser, kas-eklem tutulumu( artrit, artralgi, miyalgi, sinovit), hematolojik tutulum(anemi, sitopeni), periungual eritem, diffüz limfadenopati, gastrointestinal bulgu (hepatomegali, splenomegali), oküler bulgu, pulmoner bulgu (plevral effuzyon, pneumoni), kardiyak bulgu (perikardit, miyokardit, endokardit), nörolojik bulgu (baş ağrısı, nöropati, konvulziyon, hemipleji), renal bulgu (persistan proteinüri) ve ANA, AntidsDNA, ve antifosfolipid antikor pozitiflik oranları açısından ayrıntılı anamnez ve laboratuvar verileri ile irdelendi. Çalışmaya katılan olgulardan 1 tanesi SLE tanısıyla izlenmekteydi (Resim 4). Olguların klinik özelliklerinin dağılımı Tablo 9 da gösterilmiştir.

**Resim 2:** Klasik DLE'li bir olgunun yüz lezyonları



**Resim 3:** SKLE'li bir olgunun gövde lezyonları



**Resim 4:** SLE'li bir olguda sikatrisiyel saçlı deri lezyonları



**Tablo 9:** KLE’li olguların klinik özellikleri

	Hasta Sayısı	%
Toplam	22	%100
Yaş(yıl) Ortanca(AD-UD)	47 (19-77)	–
Cinsiyet(K/E)	16/6	%72,7/ %27,3
Sayırlık süresi(ay) Ortanca(AD-UD)	36ay(4-200)	–
Sigara kullanan	8	%26,4
DLE/SKLE	15/7	%68,2/ %31,8
Çalışma sırasında sağaltım alan	16	%72,7
Sikatrisyel alopesi	12	%55,5
Sikatrisyel olmayan alopesi	4	%18,2
Mukozal tutulum	3	%13,6
Kilo kaybı	7	%31,8
Ateş	1	%4,5
Halsizlik	9	%40,9
“Malar rash”	7	%31,8
Fotoduyarlılık	15	%68,2
Oral ülser öyküsü	4	%18,2
Nasal ülser öyküsü	2	%9,1
Periungual eritem	2	%9,1
Diffuz LAP	1	%4,5
Hepatomegali	1	%4,5
Splenomegali	1	%4,5
Perikardit	1	%4,5
Miyalgi	6	%27,3
Artrit	4	%18,2
Artralgi	11	%50
Kseroftalmi	1	%4,5

	Hasta Sayısı	%
Persistan proteinüri	1	%4,5
Anti Ds DNA	1	%4,8
Antifosfolipid antikor	3	%27,3
ANA	6	%27,3
Lezyon KLAŞI Ortanca(AD-UD)	5(1-8)	-
Toplam KLAŞI Ortanca(AD-UD)	15(4-45)	-

Subjektif yakınmalardan pruritus için ortalama VAS değeri  $3,86 \pm 3,18$  olarak belirlendi.

Hastalarda kutan LE şiddeti Kutan Lupus Alan Şiddet İndeksi (KLAŞI) kullanılarak hem biyopsi alınan lezyon için hem de hastanın tüm vücut lezyonları için ayrı ayrı hesaplandı. Hastalara ait deribilimsel bakı ve hesaplanan KLAŞI değerleri tablo 10'da gösterilmiştir. Biyopsi alınan lezyonların KLAŞI ortalaması  $4,27 \pm 1,4$  idi. Tüm vücut için hesaplanan aktivite toplam ortalaması  $10 \pm 8,6$ , hasar toplam ortalaması  $5,5 \pm 3,9$ , KLAŞI ortalaması ise  $15,5 \pm 10,3$  idi. Biyopsi alınan lezyon KLAŞI değeri, vücut KLAŞI değeri ile anlamlı bir korelasyon göstermekteydi ( $p=0,027$ ).

**Tablo 10:** Olguların lezyon ve total KLAŞI değerleri

	LEZYON ERİTEM	LEZYON SKUAM	LEZYON PİGMENTASYON	LEZYON SKATRİKS	LEZYON KLAŞI	VÜCUT AKTİVİTE TOPLAM	VÜCUT HASAR TOPLAM	VÜCUT KLAŞI
43/E	3	0	0	1	4	3	1	4
62/K	3	2	1	1	7	39	6	45
69/K	2	2	0	1	5	7	6	13
29/E	2	1	0	2	5	3	1	4
72/K	2	2	0	1	5	9	6	15
32/E	1	0	0	0	1	6	0	6
45/K	1	0	0	2	3	1	8	9
47/K	1	1	1	2	5	2	6	8
38/E	2	0	0	0	2	5	1	6
72/K	2	1	0	0	3	13	0	13
63/K	2	1	1	1	5	10	2	12
64/E	2	1	0	0	3	21	6	27
69/K	2,	1	1	1	5	3	5	8
38/K	3	1	0	1	5	11	10	21
19/K	2	1	0	0	3	18	3	21
36/K	2	1	0	1	4	3	6	9
59/K	1	1	0	1	3	2	6	8
53/K	2	1	1	1	5	9	8	17
39/K	3	1	1	1	6	16	15	31
47/K	2	1	1	2	6	16	13	29
30/E	2	1	0	0	3	14	4	18
77/K	2	1	1	2	6	11	8	19

#### 4.2. KLE'de Lezyonel ve Perilezyonel Deride MMP-2, MMP-9 Aktivite ve TIMP-1 Düzeyleri

Kutan LE lezyonel deriden ve perilezyonel normal deri bölgesinden alınan deri biyopsi örneklerinde enzim aktiviteleri pro ve aktif MMP-9, pro ve aktif MMP-2 için aktivite/mikrogram protein cinsinden ölçüldü. Lezyonlu deride aktif MMP-2, aktif MMP-9 ve pro MMP-9 değerleri perilezyonel deridekine göre anlamlı olarak yüksek saptandı. Lezyonlu ve perilezyonel deride pro MMP-2 değerleri benzer olarak belirlendi. Kutan LE lezyonel deri ve perilezyonel normal deri örneklerinde ng/mg yaş doku ağırlığı cinsinden



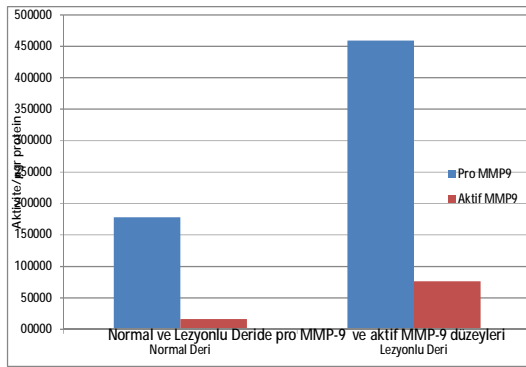
hesaplanan TIMP-1 değerleri de lezyonlu deride anlamlı olarak artmış olarak saptandı. Olguların lezyonel ve perilezyonel derilerinde saptanan aktif ve pro MMP-9, MMP-2 ve TIMP-1 değer ortalamaları Tablo 11’de özetlenmiştir. Bu veriler ayrıca grafik olarak (Şekil2,3,4)’de de gösterilmiştir.

**Tablo 11:** Lezyonel deri ve perilezyonel normal deride aktif ve pro MMP-2, aktif ve pro MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri

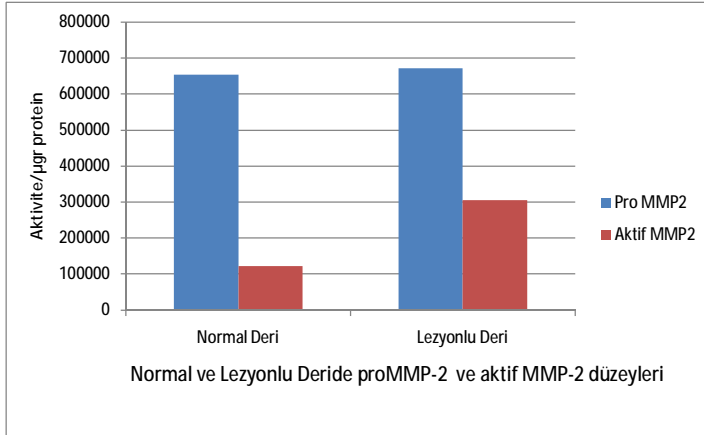
	Lezyonlu Deri ortanca (AD-UD)	Perilezyonel Normal Deri ortanca (AD-UD)	p
Aktif MMP-2	306226,8(61150,1-1065292)	122951,3(22832,9-361928,7)	0,002*
Pro MMP-2	672074(288778,3-1829829)	653834,7(159266,1-1345740)	0,263
Aktif MMP-9	76818,6(2241,9-11159798)	16046,7(0-222072,1)	0,003*
Pro MMP-9	459174,6(37434,5-1471724)	178066,6(19610,1-718712,6)	0,019*
TIMP-1	2,87(0,1-18,7)	2,0(0,1-17,1)	0,046*

Wilcoxon işaretli sıralar testi

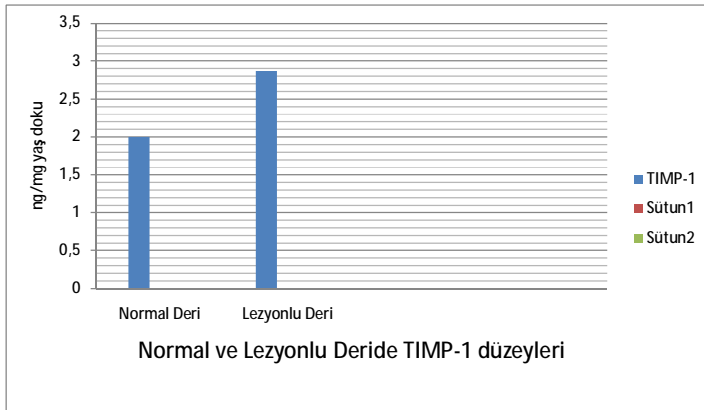
**Şekil 2:** Normal ve lezyonlu deride pro ve aktif MMP-9 düzeyleri



**Şekil 3:** Normal ve lezyonlu deride pro ve aktif MMP-2 düzeyleri



**Şekil 4:** Normal ve lezyonlu deride TIMP-1 düzeyleri



Lezyonel deride aktif/pro MMP-2 oranı perilezyonel normal deriye göre anlamlı derecede yüksek saptandı. Aktif/pro MMP-9 oranı da lezyonel deride perilezyonele göre daha yüksek belirlenmekle beraber aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Lezyonlu deri ve perilezyonel normal deri MMP-9/TIMP-1 oranları arasında ise fark saptanmadı. Olgularda belirlenen aktif/pro MMP-2, aktif/pro MMP-9 ve aktif MMP-9/TIMP-1 oranları Tablo 12’de özetlenmiştir.

**Tablo 12:** Lezyonel deri ve perilezyonel normal deride aktif/pro MMP-2, aktif/pro MMP-9 ve aktif MMP-9/TIMP-1 oranları

	Lezyonlu Deri Ortalama $\pm$ SD	Perilezyonel Normal Deri Ortalama $\pm$ SD	p
Aktif/Pro MMP-2	0,60 $\pm$ 0,481	0,26 $\pm$ 0,200	0,006*
Aktif/Pro MMP-9	1,29 $\pm$ 4,519	0,18 $\pm$ 0,179	0,072
AktifMMP-9/TIMP-1	379546,8 $\pm$ 1353812	22544,48 $\pm$ 26617,13	0,223

Wilcoxon işaretli sıralar testi

### 4.3. MMP-2, MMP-9 Aktivite ve TIMP-1 Düzeylerinin Klinik ve Laboratuvar Bulgularla İlişkisi

Kadın ve erkek olgularda pro ve aktif MMP-9, pro ve aktif MMP-2 ve TIMP-1 değerleri açısından fark saptanmazken, aktif/pro MMP-9 oranı kadınlarda anlamlı olarak yüksek bulundu( $p=0,038$ ).

Fotoduyarlılık, sayrılık süresi,deri tipi ve kutan LE tipi ile pro ve aktif MMP-9, pro ve aktif MMP-2, aktif/pro MMP-2 oranı, aktif/pro MMP-9 oranı ve TIMP-1 değerleri açısından anlamlı bir ilişki saptanmadı.

ANA pozitifliği ile pro ve aktif MMP-9, pro ve aktif MMP-2, aktif/pro MMP-2 oranı, aktif/pro MMP-9 oranı ve TIMP-1 değerleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Sağaltım alan olgularda aktif MMP-2 düzeyi, aktif/pro MMP-2 ve aktif/pro MMP-9 oranları sağaltım almayanlara göre anlamlı olarak yüksek saptandı (sırasıyla  $p=0,015$ ;  $p=0,014$ , $p=0,026$ ).

Sigara içen olgularda aktif/pro MMP-9 düzeyi sigara içmeyenlere göre anlamlı olarak yüksek belirlendi ( $p=0,026$ ).

Ortanca yaşı olan 47 yaşından büyük olgularda aktif MMP-9 ve aktif/pro MMP-9 oranları 47 yaşından genç olgulara göre anlamlı olarak yüksek saptandı( $p=0,014$ ;  $p=0,003$ ). MMP-2, MMP-9 aktivite ve TIMP-1 düzeylerinin klinik ve laboratuvar bulgularla ilişkisi Tablo 13’de özetlenmiştir.

**Tablo 13:** Olguların klinik ve laboratuvar özellikleri ile aktif, pro MMP-2, aktif, pro MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri arasındaki ilişki

		Aktif MMP-2 Ortalama±SD	Pro MMP-2 Ortalama±SD	Aktif MMP-2/Pro MMP-2 Ortalama±SD	Aktif MMP-9 Ortalama±SD	Pro MMP-9 Ortalama±SD	Aktif/Pro MMP-9 Ortalama±SD	TIMP-1 Ortalama±SD
Cinsiyet	Kadın N=16	409974,6±292873,8	806788,9±474225,4	0,59±0,39	812374,6±2761601,0	417556,1±292326,8	1,7±5,2	4,4±2,8
	Erkek N=6	351319,3±379392,7	839442,3±339460,5	0,60±0,70	86475,9±119071,6	617286,3±494873,6	0,1±0,2	4,1±7,3
	p	0,460	0,555	0,507	0,337	0,337	0,038	0,089
Fotoduyarlılık	Var N=15	408239,9±263371,9	827097,6±496685,0	0,6±0,4	860564,1±2851527,3	446267,8±285043,5	1,7±5,4	3,9±2,7
	Yok N:7	363416,0±416460,7	791258,9±287022,8	0,5±0,5	86912,5±110494,0	527228,4±501932,7	0,2±0,2	5,1±6,8
	p	0,275	0,751	0,341	0,245	0,972	0,217	0,503
ANA	Pozitif N=6	382175,4±212267,2	761126,8±626149,8	0,7±0,5	133162,5±121284,9	356554,7±428726,6	0,4±0,2	4,5±4,0
	Negatif N=16	398403,6±345918,8	836157,2±362333,5	0,5±0,4	794867,1±2766256,7	515330,4±331799,1	1,5±5,3	4,2±4,5
	p	0,658	0,269	0,302	0,883	0,210	0,121	0,712
Sağaltım	Alan N=16	481022,1±317612,2	788790,6±490640,4	0,7±0,4	817790,3±2760008,2	425806,2±281157,4	1,7±5,2	3,8±3,2
	Almayan N=6	161859,4±112844,8	887437,8±245268,5	0,1±0,0	72034,0±122715,5	595286,1±523319,7	0,1±01	5,4±6,6
	p	0,015	0,302	0,014	0,055	0,555	0,026	0,883
Sigara	İçen N=8	383502,3±294940,3	881070,6±365413,3	0,5±0,5	129494,3±130449,0	657437,7±490543,3	0,2±0,3	5,9±6,5
	İçmeyen N=14	399963,7±329454,7	778336,6±477634,2	0,6±0,4	891492,5±2957281,9	366079,6±208253,7	1,8±5,6	3,3±2,0
	p	0,891	0,374	0,732	0,945	0,151	0,026	0,882

		Aktif MMP-2  Ortalama±  SD	Pro MMP-2  Ortalama±  SD	Aktif MMP-2/Pro MMP-2  Ortalama±  SD	Aktif MMP-9  Ortalama±  SD	Pro MMP-9  Ortalama±  SD	Aktif/Pro MMP-9  Ortalama±  SD	TIMP-1  Ortalama±  SD
Sayrılık süresi	36ay≤  N=12	387320,6±2 83297,6	900878,0±5 31560,3	0,5±0,4	89287,1±92 612,1	500661,9±4 19759,5	0,2±0,2	3,3±2,7
	37ay>  N=10	401966,3±3 55485,6	713474,1±2 69666,8	0,6±0,5	1244540,4± 3486366,8	437667,2±2 82955,6	2,4±6,6	5,5±5,6
	p	0,741	0,644	0,947	0,262	0,644	0,468	0,391
Yaş	47≤  N=12	470218,9±3 41195,0	834965,1±3 21541,5	0,7±0,5	64692,3±89 413,7	497727,2±3 26519,8	0,1±0,1	4,8±5,5
	47>  N=10	302488,3±2 55456,6	792569,6±5 58478,5	0,4±0,3	1274054,1± 3475330,5	441188,8±4 06911	2,6±6,6	3,6±2,1
	p	0,291	0,322	0,355	0,014	0,428	0,003	0,741
Kutan LE Tipi	SKLE  N=7	384561,4±3 03631,0	1076025,1± 573534,0	0,4±0,4	112347,9±1 15279,9	558876,8±4 79118,9	0,2±0,2	5,6±6,1
	DLE  N=15	398372,0±3 23736,2	694206,7±3 02929,2	0,6±0,5	848694,2±2 854811,5	431498,5±2 95880,1	1,7±5,4	3,7±3,2
	p	0,915	0,148	0,341	0,836	0,597	0,274	0,503

Mann-Whitney U Testi

#### 4.4. MMP-2, MMP-9 Aktivite ve TIMP-1 Düzeylerinin ANA ve KLAŞI ile Korelasyonu

Lezyon KLAŞI değeri ile vücut KLAŞI değeri ve vücut hasar toplam değeri arasında pozitif korelasyon saptandı(p=0,027,p=0,04). Lezyon KLAŞI değeri ile aktif/pro MMP-9 oranı ve aktif/pro MMP-2 oranı arasında da anlamlı pozitif korelasyon saptandı(p=0,015, p=0,027). Lezyon KLAŞI değeri ile aktif MMP-2 arasında da korelasyon saptandı ancak istatistik olarak anlamlı değildi(p=0,07). Vücut KLAŞI ile enzimler ve oranları arasında ise korelasyon belirlenmedi.

Lezyonel KLAŞI değeri ile ANA arasında anlamlı korelasyon saptanırken(p=0,043), vücut KLAŞI değeriyle ANA arasında korelasyon saptanmadı. Lezyonel pro MMP-2 ile pro MMP-9 arasında da anlamlı pozitif korelasyon belirlendi(p=0,000). MMP-2, MMP-9 aktivite ve TIMP-1 düzeylerinin KLAŞI ve ANA ile ilişkisi Tablo 14’de özetlenmiştir.

**Tablo 14:** MMP-2, MMP-9 aktivite ve TIMP-1 düzeylerinin KLAŞI ve ANA ile ilişkisi

	Lezyon KLAŞI	Vücut KLAŞI	ANA	Lezyon Aktif MMP-2	Lezyon Pro MMP-2	Lezyon Aktif/ proMMP-2	Lezyon Aktif MMP-9	Lezyon Pro MMP-9	Lezyon Aktif/ proMMP- 9	Lezyon TIMP-1
Lezyon KLAŞI		r=-0,229 p=0,027*	r=0,433 p=0,04*	r=0,384 p=0,07	r=-0,296 p=0,180	r=0,469 p=0,027*	r=0,341 p=0,119	r=-0,132 p=0,55	r=0,508 p=0,015*	r=0,240 p=0,281
Vücut KLAŞI			r=-0,129 p=0,567	r=0,374 p=0,085	r=-0,032 p=0,886	r=0,263 p=0,236	r=0,345 p=0,115	r=0,152 p=0,497	r=0,293 p=0,184	r=0,245 p=0,271
ANA				r=0,096 p=0,669	r=-0,241 p=0,279	r=0,225 p=0,313	r=0,032 p=0,886	r=-0,273 p=0,218	r=0,337 p=0,124	r=0,080 p=0,721
Lezyon Aktif MMP-2					r=-0,051 p=0,820	r=0,853 p=0,000001*	r=0,060 p=0,789	r=0,095 p=0,672	r=0,005 p=0,982	r=0,047 p=0,832
Lezyon Pro MMP-2						r=-0,522 p=0,012*	r=-0,093 p=0,680	r=0,724 p=0,000*	r=-0,648 p=0,001*	r=0,319 p=0,147
Lezyon Aktif/Pro MMP-2							r=0,088 p=0,694	r=-0,214 p=0,338	r=0,273 p=0,217	r=-0,107 p=0,632
Lezyon Aktif MMP-9								r=0,345 p=0,115	r=0,684 p=0,000*	r=0,029 p=0,894
Lezyon Pro MMP-9									r=-0,361 p=0,097	r=0,078 p=0,728
Lezyon Aktif/Pro MMP-9										r=-0,070 p=0,754

Spearman korelasyon testi ( $p < 0,05$ ), r: korelasyon katsayısı

#### 4.5. MMP-2, MMP-9 Aktivite ve TIMP-1 Düzeylerinin Sigara Kullanımı ve KLAŞI ile İlişkisi

Sigara kullanan hasta grubuyla, sigara kullanmayan grup arasında lezyon KLAŞI, vücut KLAŞI ve vücut hasar toplam değerleri açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Ancak sigara kullanan hasta grubunda vücut aktivite toplam değeri sigara kullanmayanlara göre daha yüksek olarak bulundu, ancak istatistiksel anlamlı fark belirlenmedi ( $p=0,06$ ). Sigara kullanımı KLAŞI ilişkisi Tablo 15’de özetlenmiştir.

**Tablo 15:** Kutan lupuslu olgularda sigara kullanımı KLAŞI ilişkisi

	Sigara kullananlar Ortalama±SD	Sigara kullanmayanlar Ortalama±SD	p
Lezyon KLAŞI	4,0000±2,1381	4,4286±1,0163	0,645
Vücut KLAŞI	20,7500±14,7527	12,6429±5,3437	0,356
Vücut Hasar Toplam	5,7500±5,5997	5,3571±2,8985	0,702
Vücut Aktivite Toplam	15,0000±11,5882	7,2857±5,1055	0,060

Mann-Whitney U testi

Lezyon KLAŞI ortalama değeri 4 olarak saptandı. Lezyon KLAŞI değeri  $\geq 4$  olan grupta( $n=14$ ) aktif/pro MMP-2 oranı anlamlı derecede yüksek olarak saptandı( $p=0,014$ ). Lezyon KLAŞI değeri  $< 4$  olan hasta grubunda( $n=8$ ) pro MMP-2, aktif/pro MMP-9 değerleri anlamlı derecede yüksek olarak saptandı( $p=0,047, p=0,047$ ). MMP-2, MMP-9 aktivite ve TIMP-1 düzeylerinin KLAŞI ile ilişkisi Tablo 16’da özetlenmiştir.

Kadın olgularda lezyon KLAŞI değeri erkek olgulara göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı( $p=0,018$ ), toplam KLAŞI değeri de benzer şekilde kadın olgularda daha yüksek belirlenmekle beraber fark anlamlı değildi( $p=0,065$ ).

**Tablo 16:** MMP-2, MMP-9 Aktivite ve TIMP-1 Düzeylerinin KLAŞI ile ilişkisi

	Lezyon KLAŞI<4 Ortalama±SD	Lezyon KLAŞI≥4 Ortalama±SD	p
Pro MMP-2	1011832,84±389388,03	703615,36±430489,86	0,047**
Aktif MMP-2	296557,79±313743,76	449646,36±305460,11	0,133
Aktif/Pro MP2	0,29±0,29	0,77±0,49	0,014**
Pro MMP-9	604990,36±417397,11	396049,53±308670,48	0,151
Aktif MMP-9	1458803,34±3921125,72	131887,41±116567,02	0,452
Aktif/Pro MMP-9	2,77±7,56	0,44±0,31	0,047**
TIMP-1	4,33±5,97	4,32±3,30	0,412

Mann-Whitney U testi

Toplam Hasar ortalama değeri 5 olarak saptandı. Toplam hasar  $\geq 5$  olan grupta(n=13); aktif MMP-9 değeri anlamlı derecede yüksekti(p=0.041), aktif/pro MMP-9 oranı da benzer şekilde yüksek olarak saptandı, ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı değildi. MMP-2, MMP-9 aktivite ve TIMP-1 düzeylerinin toplam hasar ile ilişkisi Tablo 17’de gösterilmiştir.

**Tablo 17:** MMP-2, MMP-9 Aktivite ve TIMP-1 düzeylerinin toplam hasar ile ilişkisi

	TOPLAM HASAR<5 Ortalama±SD	TOPLAM HASAR≥5 Ortalama±SD	p
Pro MMP-2	991004,61±562758,17	694325,87±281735,10	0,216
Aktif MMP-2	420469,61±370607,49	375637,30±275657,55	0,973
Aktif/Pro MP2	0,59±0,59	0,60±0,42	0,525
Pro MMP-9	394982,81±271393,97	525367,00±408325,11	0,713
Aktif MMP-9	55313,33±408325,11	1001463,88±3054740,42	0,041
Aktif/Pro MP9	0,20±0,20	2,04±5,85	0,057
TIMP-1	4,70±5,75	4,70±3,23	0,815

Mann-Whitney U testi



## 5. TARTIŞMA

MMP'ler normal dokuda ekstrasellüler matriksin yeniden yapılanmasında önemli rol oynayan aynı zamanda bazı patolojik süreçlere katkıda bulunan endoproteinazlardır. Latent prekürsörler olarak salgılanıp daha sonra aktif formlarına dönüşürler. Her ikisi de gelatinaz olan MMP-2 ve MMP-9, tip IV kollagen, denatüre kollagen, tip V, VII, X, XII kollagenler, vitronektin, aggrekan, galektin 3 ve elastini parçalarlar. MMP-2 en sık eksprese edilen MMP iken, MMP-9 MMP ailesinin en kompleks ve en büyük elemanıdır(3, 5). MMP-9 keratinosit, monosit, doku makrofajları, polimorfonükleer lökositler ve bir grup malin hücre tarafından salgınır; özgün doku inhibitörlerinden TIMP-1 tarafından inhibe edilir. Bazal membranın önemli bir bileşeni olan tip IV kollajeni ayıran MMP-9, limfosit ve diğer lökositlerin kan ve limf dolaşımına girip çıkmasına olanak sağlar. Ayrıca myelin bileşiklerini parçalayarak autoimmunitiyi başlatan epitoplarmn ortaya çıkmasına neden olur(3).

Lupus eritematozus (LE), autoantikor ve immun kompleks üretimi ve anormal bir immun yanıt ile ilişkili olan heterogen autoimmün bir sayrılıktır(6). Son yıllarda SLE patogenezinde angienez ve angiogenik faktörlerin rolü üzerinde durulmaktadır. Yeni damar oluşumu ile sonuçlanan çok basamaklı bir süreç olan angienezde büyüme faktörleri ve sitokinlerin yanı sıra MMP'ler de rol oynamaktadır(80). MMP'leri ve bunların inhibitörlerinin LE ve diğer autoimmün sayrılıklarda rol oynadığı düşünülmektedir. Kutan LE'de MMP ve TIMP'in tam rolü bilinmemektedir. Bu çalışmada KLE'de MMP'lerin ekspresyonu ve aktivitelerini araştırmak amacıyla KLE'li olguların lezyonel ve perilezyonel normal deri örneklerinde MMP-2 ve MMP-9'un aktif ve pro formları ve TIMP-1 düzeyleri ölçülmüş ve bu enzim düzeyleri ile kutan LE klinik şiddeti ve diğer klinik özellikler arasındaki olası ilişkiler araştırılmıştır.

Chang ve ark. (89) SLE'li 22 ve RA'lı 44 olgunun serumlarında ELİSA ve zimografik analizle MMP-2 ve MMP-9 seviyelerini incelemişler ve kontrol grubuna göre her ikisinin de serum seviyelerini yüksek olarak saptamışlardır. Sonuç olarak MMP-2 ve MMP-9 düzey ve aktivitelerindeki saptanan anlamlı artışın bu proteinlerin autoimmün sayrılıklardaki rolünü desteklediğini vurgulamışlardır(89). Bizim çalışmamızda KLE'li olguların lezyonel derilerindeki aktif MMP-2, aktif MMP-9, pro MMP-9 düzeyleri ve aktif/pro MMP-2 oranı normal derininkilere göre anlamlı derecede yüksek olarak saptanmıştır.

Jiang ve ark.(90) 44 SLE olgusu ve 31 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışmada lupus nefritli (LN) olgularda MMP-2, -9, TIMP-1 -2 serum düzeylerini ELİSA yöntemiyle

incelemişlerdir. Serum total MMP-9 düzeylerini LN'li olgularda, LN'i olmayan ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek, serum MMP-2 düzeylerini ise SLE'li olgularda kontrollere göre anlamlı olarak yüksek saptamışlardır. TIMP-1 düzeylerini ise tüm gruplar arasında benzer olarak belirlemişlerdir. LN'li olgularda MMP-9/ TIMP-1 oranının LN olmayan lupuslu ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek olarak saptamışlar ancak aynı oranın nefritsiz lupus ve sağlıklı bireyler arasında benzer olduğunu belirlemişlerdir. Aynı zamanda MMP-9/TIMP-1 oranıyla anti-dsDNA titreleri arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Araştırmacılar, MMP-9 ile TIMP-1 arasındaki dengesizliğin LN patogenezinde yeri olduğunu ileri sürmüşlerdir(90). Bizim çalışmamızda ise TIMP-1 düzeyinin lezyonel deride normal deriye göre anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiş ve aktif MMP-9/TIMP-1 oranı lezyonlu ve lezyonsuz deride benzer olarak saptanmış ve KLE'li olgularımızda MMP-9 ile TIMP-1 arasında dengesizlik saptanmamıştır.

Jarvinen ve ark.(6) SLE, SKLE ve DLE'de lezyonel deride MMP ekspresyonu ve bunların apoptoz ve epidermal değişikliklerle ilişkisini araştırmak amacıyla güneş gören lezyonlardan alınan biyopsilerde immunhistokimya ile MMP ve TIMP düzeylerini incelemişlerdir. Farklı KLE formlarındaki doku hasarında mediyatör olarak MMP'lerin rolünün incelendiği çalışmada doku örneklerinin hiç birinde epidermiste MMP-9 ve TIMP-1 saptanmamış ancak stromada makrofajlarda ve bazı nötrofillerde MMP-9 belirlenmiştir. Lupus epitelyum örneklerinde MMP-3,-7,-10,-14 ve -26 görülmüştür. Araştırmacılar TIMP-1'in doku düzeyinde saptanamamasının MMP'lerin deride inhibitörlerinin direnci olmadan işlev göstermesine bağlı olabileceğini ileri sürmüşler, sonuçlarının deri lupus lezyonlarında MMP'lere göre TIMP ekspresyonunun minimal olduğunu bildiren çalışmalarla uyumlu olduğunu belirtmişlerdir. Ancak bu çalışmada MMP ve TIMP protein düzeyinde çalışılmış olup aktive enzim düzeylerine bakılmamıştır; sonuçlar toplam enzim düzeyini göstermekte olup, derideki aktif ve pro enzim düzeyleri ise bilinmemektedir. MMP'lerin zimografi ile değerlendirildiği çalışmamızda lezyonel deride aktif MMP-2, aktif MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri normal deriyle karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek olarak bulunmuştur. Ancak bizim çalışmamızdaki mevcut enzim aktivitelerinin deride hangi lokalizasyonlarda hangi hücreler tarafından gösterildiği bilinmemektedir. MMP-9 keratinositler, monositler, doku makrofajları ve polimorfonükleer lökositler tarafından üretilmektedir(3). TIMP'ler de MMP'ler gibi vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından sentez edilmektedirler(5, 82).

Literatürde farklı dermatozlarda kutan lezyonlarda MMP ekspresyonu ve aktivite değişiklikleri incelenmiştir. Gündüz ve ark.(7) 55 liken planus ve 11 normal deri örneğinde immunhistokimyasal yöntemle MMP-2,-3,-9 ve fibronektin ekspresyonunu araştırmışlar, ayrıca 5 DLE ve 5 kronik dermatit örneğini karşılaştırma amacıyla incelemişlerdir. Çalışmalarında normal deride MMP-9'u epidermiste diffuz olarak ayrıca dermal fibroblast ve damarlarda saptamışlar; MMP-2'yi ise epidermal bazal membran ve dermal damarlarda gözlemişlerdir. Yine liken planus (LP) örneklerinde bazal tabaka hasarı olan alanlar dışındaki bölgede MMP-9'u epidermiste, dermal damarlarda ve inflamatif infiltrasyon hücrelerinde göstermişlerdir. DLE örneklerinde de MMP-9'u LP ile aynı şekilde bazal tabaka hasarı olan alanlar dışındaki bölgede epidermiste diffuz olarak saptamışlar; MMP-2'nin ise vakuoler degenerasyon olan alanlarda bulunmadığını bildirmişlerdir. MMP-2 ve MMP-3'ün LP ve DLE'de benzer dağılım gösterdiklerini saptamışlar ve MMP-2 ve 3'ün "*interface dermatit*" patogenezinde yeri olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda da bu veri ile uyumlu şekilde lezyonlu deride aktif MMP-2 ve aktif/pro MMP-2 oranı yüksek olarak saptanmıştır. KLE'de en fazla DLE'de olmak üzere liken planusa benzer şekilde histopatolojik olarak dermoepidermal bileşkede inflamasyon gözlenmektedir. Kutan LE tipi ile bu enzim aktiviteleri ve TIMP-1 düzeyi açısından ise normal ve lezyonlu deride anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Literatürde birçok çalışmada SLE'li olgularda başlıca serumda MMP-9 düzeyleri araştırılmış ve heterogen sonuçlar bildirilmiştir. Faber-Elmann ve ark.(91) SLE'de MMP-9'un patogenezinde ve süreçteki rolünü ve tanısal değerini araştırmak amacıyla aktif ve inaktif 40 SLE'li olguda ve 25 sağlıklı kontrolde jel zimografi ile aktif MMP-9 ve MMP-2 düzeylerini ölçmüşler ve SLE'li olgularda MMP-9 aktivitesinde anlamlı artış saptamışlardır. Ancak serum aktif MMP-9 düzeyi ile periferik kan hücre sayısının korelasyon göstermemesini MMP-9'un SLE'de hedef organlardan salınımına bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. MMP-2 düzeylerini ise gruplar arasında benzer olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda lezyonel deride aktif MMP-9 düzeyi normal deriye göre anlamlı olarak yüksek bulunmakla birlikte Faber-Elmann ve ark.'nın bulgularından farklı olarak lezyonel deride aktif MMP-2 ve aktif/pro MMP-2 oranı da yüksek olarak saptanmıştır. Buna paralel olarak Gündüz ve ark. LP ve DLE biyopsi örneklerinde immunhistokimya ile MMP-2 ve MMP-3 ekspresyonunu benzer olarak saptamışlar ve bu enzimlerin de değişik kökenli interfaz dermatitlerin patogenezinde rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu bulgular ışığında KLE patogenezinde SLE'de rol

oynadığı düşünölen MMP-9 aktivite artışı ile beraber MMP-2 aktivitesindeki artışın da rol oynadığını düşünmekteyiz.

Matache ve ark. (92) SLE'de periferal kan mononökleer hücrelerinde(PKMH) MMP-9, MMP-9 mRNA ve TIMP-1 seviyelerini ölçmüşler; MMP-9 ekspresyonu ve sekresyonunu yüksek bulmuşlardır. SLE'li olgularda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında PKMH'de MMP-9 aktivitesinde artış saptamışlar ve daha fazla miktarda MMP-9 salgılandığını belirlemişler, TIMP-1'de fark saptamamışlardır. Relaps sayrılıkta MMP-9 aktivitesini inhibe etmek üzere PKMH'den TIMP-1 sekresyonunda artış olabileceğini öne sürmüşlerdir. Sonuçta SLE'de PKMH'de MMP-9 ekspresyon ve sekresyonundaki artışın, MMP-9 ve TIMP-1'in sayrılığın evrelerine göre inflamasyon progresyonunda, doku hasarında ve/veya tamirinde çoklu rolleri olduğunu ileri sürmüşlerdir. Robak ve ark(93), 41 SLE'li ve 20 sağlıklı kontrol grubuyla yaptıkları çalışmalarında olguların serumlarında ELİSA ve florometrik analizle total ve aktif MMP-9 ve TIMP-1 seviyelerini araştırmışlar; SLE'li olgularda serum total ve aktif MMP-9 konsantrasyonunu sağlıklı kişilere göre daha düşük olarak saptamışlardır. Yorum olarak SLE'de periferik kan hücrelerinde ekspresyon ve sekresyonunda artış bildirilen yüksek düzeydeki MMP-9'un kandan hedef dokuya geçmiş olabileceğini ve serum MMP-9 düzeyinin de bu nedenle düşük saptanmış olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Liu ve ark.'nın da SLE olgularının serumlarında MMP-9 ve TIMP-1 seviyelerini araştırdıkları ve SLE'li olgularda serum MMP-9 konsantrasyonunu sağlıklı kişilere göre daha düşük olarak saptadıkları bildirilmiştir(93).

Hitchon ve ark.(94) 15 psoriyatik artritli olguda psoriyazisli deri, perilezyonel normal deri ve sinovyumdan aldıkları örneklerde hem immunohistokimyasal olarak MMP-2, MMP-9, stromelisin, kollagenaz-1, MT1-MMP, MT2-MMP ve regölatörlerinin (TIMP-1,2) ekspresyonunu incelemişler, hem dokuda zimografi tekniğı kullanarak enzim aktivitelerini araştırmışlardır. Araştırmalarında incelenen tüm MMP'ler ve inhibitörlerinin psoriyatik plakta ve normal deride ekspresyonları saptanmış olmakla beraber, psoriyatik plakta MMP-9 ekspresyonu normal deriye göre daha yüksek olarak bulunmuştur(p=0,02). Bu çalışmada psoriyatik deri lezyonlarında MMP-9 düzeyinin yüksek çıkmış olması psoriyaziste tipik olarak epidermiste nötrofil infiltrasyonu gelişmesine bağılı olabilir. Buna karşın aynı çalışmada aktif MMP-9 ve MMP-2 düzeylerinde artış saptanmamıştır. Psoriyatik plakta MMP-9 ve MMP-2 aktivite düzeylerinde normal deriyle karşılaştırıldığında fark saptanmamış olması, ancak bizim çalışmamızda LE deri lezyonlarında aktif MMP-2, aktif/pro MMP-2

oranı, pro ve aktif MMP-9 düzeylerinde artış saptanması kutan LE patogenezinde aktif MMP-2 ve aktif MMP-9'un rolü olabileceğini düşündürmektedir.

SLE'de serum MMP-9 düzeylerinin sayrılık şiddeti ile ilişkisi konusunda da farklı sonuçlar bildirilmiştir. Faber-Elmann ve ark.(83) SLE'de sayrılık aktivite (SLEDAİ) değişikliklerinde serum aktif MMP-9 düzeyinde de değişiklikler bildirmişlerdir. Robak ve ark. (93) ise SLAM skoruyla değerlendirdikleri SLE aktivitesi ile total ve aktif MMP-9 seviyeleri arasında korelasyon saptamamışlardır. Robak ve ark.(93) yine aynı şekilde aktif SLE'li olgularda inaktif dönemdeki olgulara göre MMP-9'u daha düşük konsantrasyonlarda saptamışlardır. Bizim olgularımızda lezyon KLAŞİ değerleri ile aktif/pro MMP-9 oranı ve aktif/pro MMP-2 oranı arasında da anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. Ancak benzer korelasyon toplam KLAŞİ ile MMP-2,-9 aktiviteleri ve aktif/pro MMP-2,-9 oranları arasında saptanmamıştır. Dolayısıyla lezyon aktif/pro MMP-2 ve MMP-9 oranlarındaki artışın kutan LE şiddetini belirlediği düşünülmüştür.

Faber-Elmann ve ark. (83) SLE'de serumdaki yüksek MMP-9 düzeylerinin erkek olgularda SLE aktivite indeksi ile korelasyon gösterdiğini bildirmişler; ancak SLE'li kadın olgularda aynı korelasyonu saptayamamışlardır. Araştırmacılar kadınlarda MMP-9 aktivite düzeyleri ile sayrılık aktivite belirteçleri arasında ilişkinin bulunmamasını MMP-9 aktivite ve üretiminin seks hormonları tarafından düzenlenme olasılığına bağlanmışlardır. Bizim çalışmamızda ise kadınlarda lezyon KLAŞİ değeri erkeklerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek saptandı, toplam KLAŞİ değeri de aynı şekilde kadın olgularda erkeklere oranla daha yüksek saptanmış olmakla beraber değer istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bizim çalışmamız için de Faber Elman ve ark.'nın çalışmasındaki gibi erkek hasta sayısının azlığı söz konusudur. Ancak bizim verilerimiz kutan LE tutulum aktivite ve şiddetinin kadınlarda erkeklere nazaran daha fazla olduğu yönündedir.

Faber-Elmann ve ark.(83) SLE'de artmış MMP-9 düzeylerinin DLE ve Raynaud fenomeni, pneumoni, mukozal ülser ve antifosfolipid antikorları gibi klinik ve laboratuvar parametreler ile korelasyon gösterdiği bildirmişler, ancak MMP-2 ile benzer ilişki saptamamışlardır. Fotoduyarlılık ile MMP-9 aktivite düzeyleri arasında ise ters korelasyon saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise MMP-2 ve MMP-9 aktivite düzeyleri ile fotoduyarlılık arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Robak ve ark.(93) total MMP-9 düzeyini ANA negatif olan olgularda daha yüksek olarak saptamışlar, TIMP düzeyi ile ANA arasında ise herhangi bir korelasyon

saptamamışlardır. Çalışmamızda aktif, pro MMP-2,-9 ve TIMP-1 düzeyleri ile ANA arasında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır.

SLE kadınlarda erkeklere oranla dokuz kat daha sık görülmektedir. DLE'de ise kadın/erkek oranı 2:1 ila 4:1 şeklindedir. SKLE'de ise kadın üstünlüğü SLE ve DLE ile karşılaştırıldığında daha azdır. Bu seksüel dimorfizm muhtemelen seks hormonlarının immun sistem üzerindeki etkilerine bağlıdır(10, 17). Faber Elmann ve ark. MMP-9 aktivite düzeyleri ile cinsiyet arasında herhangi bir ilişki saptamamışlardır. Bizim çalışmamıza aldığımız hastaların 16'sı kadın, 6'sı erkekti. Kadın hastalarda aktif/pro MMP-9 oranı erkek hastalara oranla anlamlı derecede yüksek olarak saptandı. Bu fark hastalığın kadınlara olan eğiliminde MMP-9'un rolü olabileceğini düşündürmekle beraber, çalışmaya katılan erkek hastaların sayısının az olmasının yanılsmaya neden olabileceği düşünüldü.

Bizim çalışmamıza katılan hastaların yaş ortalaması 47 idi. Yaşı ortalamasının üstünde olan hastalarda aktif MMP-9 düzeyleri, yaşları ortalamasının altında kalan hasta grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olarak bulundu. MMP-9 ve MMP-2'nin deri yaşlanmasında rolleri olduğu bildirilmiş olmakla beraber(95) tetikleyici faktörlere yanıt olarak salınan MMP-2,-9 ve aktivitelerinin artan yaş ile ilişkisi olup olmadığı ise tam olarak bilinmemektedir.

Faber Elman ve ark.(83) sayrılık süresiyle MMP-9 düzeyleri arasında korelasyon saptamamışlardır. Bizim çalışmamızda da MMP-2,-9 aktivite düzeyleri ile sayrılık süresi arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır.

Son dönemde yapılan geniş, vaka kontrollü bir çalışmada sigara içenlerin sigara içmeyenler ve önceden sigara içmiş kişilere göre SLE gelişimi açısından büyük risk altında olduğu bildirilmiştir(10, 22, 25). Bizim çalışmamızda kutan LE lezyonlarında sigara içenlerde aktif/pro MMP-9 düzeyi anlamlı derecede yüksek saptanmış olması ( $p=0,026$ ), kutan lupus patogenezinde MMP-9'un yeri olabileceği ve sigaranın MMP-9 salınımı üzerine etkilerine dair bilgileri destekler niteliktedir.

Son yıllarda MMP-9 aktivite düzeyleri ve doku inhibitörü olan TIMP-1 düzeyleri autoimmün birçok sayrılıkta incelenmiştir. Kontinen ve ark.(85) Sjögren sindromunda tükürkte MMP-2 düzeyinde bir değişiklik saptamazken MMP-9 konsantrasyonunda ve aktivitesinde artış bildirmişlerdir. Wan-Uk Kim ve ark.(86) yaptıkları çalışmada Sistemik Sklerozlu olguların serumlarında sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında MMP-9 ve TIMP-1 konsantrasyonlarında artış saptamışlardır. Yine Sistemik Sklerozlu olguda dermal

fibroblastların sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında daha fazla MMP-9 ürettikleri bildirilmiştir. Polimiyozitli olguların kas biyopsilerinde MMP-9 mRNA ekspresyonunda anlamlı yükseklik gösterilmiştir. MMP-9'un bu autoimmun sayrılıklarda ki rolünün miktarındaki değişiklikler ile primer veya sekonder şekilde olabileceği bildirilmiştir(3).

Lökositler ve asıl olarak makrofajlar MMP'lerin ana kaynağını teşkil etmektedirler. Aynı zamanda bu hücrelerin ekstrasvazyonunu ve dokuya penetrasyonunu sağlamaktadırlar. Bu fenomen inflamatuvar ve autoimmün sayrılıkların gelişmesinde anahtar rol oynamaktadır. Lesiak ve ark. SLAM skoruna göre hafif-orta şiddetteki SLE'li olgularda klorokin sağaltımı öncesi ve sağaltımdan 3 ay sonra serum MMP-9, TIMP-1 düzeylerini sağlıklı kontroller ile karşılaştırmışlar ve sayrılık aktivite skorunda sağaltım öncesi ve sonrası değişimi incelemişler. Sağaltım öncesi SLE'li olgularda serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerini sağlıklı kontrollerine göre anlamlı olarak daha yüksek olarak saptamışlar. Sağaltım sonrasında ise total MMP-9 düzeyini anlamlı olarak düşük, TIMP-1 düzeyini ise yüksek olarak saptamışlar. Üç aylık klorokin sağaltımı sonrası SLAM skorunda belirgin düşme saptamışlar( $p<0,001$ ) ve klorokin sağaltımı ile TIMP-1 düzeyinde artış görülmesinin sağaltım ile MMP-9 düzeyinde düşme olması sonucu gelişmiş olabileceğini ileri sürmüşlerdir(96). Bizim çalışmamıza dahil olan olgulardan 6'sı herhangi bir sağaltım almazken, 7'si sistemik hidroklorokin, 9'u topikal kortikosteroid sağaltımı almaktaydı. Olgularımızdan tetkik alındığı sırada sağaltım alan grupta aktif MMP-2, aktif/pro MMP-2 ve aktif/proMMP-9 oranları tetkik alındığı sırada sağaltım almayan gruba göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı. TIMP-1 düzeylerinde anlamlı bir fark saptanmadı. İlk bakışta paradoks görünen bu sonuç çalışmaya alınan kutan LE'li olguların sağaltımlarının henüz başında olmasına ve aktif lezyonları olan hastalar olmasına bağlandı. Aynı olgulardan sağaltım izleminde lezyonların gerilemesi sonrasında kutan LE şiddeti hafiflediği dönemde tekrar enzim aktivite ölçümlerinin yapılmasının daha anlamlı sonuçlar verebileceği düşünülmüştür. Yine aynı olgularda serumda bazal ve sağaltım izlemlerindeki MMP-2,-9 aktiviteleri aktif/pro oranları ve TIMP-1 düzeylerinin araştırılması ve kutan enzim aktivite sonuçlarıyla karşılaştırılmasının yapılması ek veriler sunabilecektir.

Çalışmamızda lezyonlu deride MMP-2 ve MMP-9 aktiviteleri ve TIMP-1 düzeyinde artış saptanmış ve aktif MMP-9/TIMP-1 oranı lezyonel ve normal deride benzer olarak saptanmıştır. Dolayısıyla çalışmamızda MMP-9 ile TIMP-1 arasında dengesizlik saptanmamış ve bulduğumuz sonuçlar ışığında kutan LE patogenezinde MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerindeki artışın yeri olabileceği sonucuna varılmıştır. İleride daha geniş hasta grupları ile kutan ve serum enzim aktivitelerinin sağaltım öncesi ve takipte bakılması ve

immünohistokimyasal olarak enzim aktivitelerinin hücresel kaynaklarının araştırılması bu alanda daha anlamlı veriler sunabilecektir.

Son yıllarda peptid ve non-peptid yapıda sentetik MMP inhibitörleri de üretilmiştir(69, 70, 78, 97, 98). Bu inhibitörler en çok kanser sağaltımında olmak üzere kardiyovasküler sayrılıklar, artrit, psoriyazis, peridontal sayrılık ve makula degenerasyonu gibi farklı sayrılıkların sağaltımında denenmiştir(97-99). Kutan LE'de MMP-2,-9 aktivite düzeylerinde bulunduğumuz artışa dayanarak, ileride kutan LE sağaltımında MMP inhibitörlerinin sistemik ve/veya topikal kullanımıyla sağaltımına dair çalışmalar yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

---



## **6. SONUC VE ÖNERİLER**

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar kliniğinde KLE tanısı ile izlenen olguların lezyonel ve perilezyonel deri biyopsilerinde MMP-2 ve 9 aktivite düzeyleri ve MMP-9'un dokuya spesifik inhibitörü olan TIMP-1 düzeylerinin karşılaştırıldığı, MMP-2 ve -9 aktivite düzeyleri ve TIMP-1 düzeyinin klinik kutan lezyon aktivite şiddet indeksi ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmada aşağıdaki sonuçlara varılmıştır;

- 1) KLE'li olgularda lezyonel deride aktif MMP-9 düzeyi perilezyonel normal deriye göre anlamlı derecede yüksek saptandı(p=0,003).
- 2) KLE'li olgularda lezyonel deride pro MMP-9 düzeyi perilezyonel normal deriye göre anlamlı derecede yüksek saptandı(p=0,019).
- 3) KLE'li olgularda lezyonel deride aktif MMP-2 düzeyi perilezyonel normal deriye göre anlamlı derecede yüksek saptandı(p=0,002).
- 4) KLE'li olgularda lezyonel deri ve perilezyonel normal deride pro MMP-9 düzeyleri ve aktif/pro MMP-9 oranları benzer olarak bulundu.
- 5) KLE'li olgularda lezyonel deride aktif/pro MMP-2 düzeyi perilezyonel normal deriye göre anlamlı derecede yüksek olarak belirlendi(p=0,006).
- 6) KLE'li olgularda lezyonel deride TIMP-1 düzeyi perilezyonel normal deriye göre anlamlı derecede yüksek olarak belirlendi(p=0,046).
- 7) Aktif ve pro MMP-2, aktif ve pro MMP-9 aktiviteleri, TIMP-1 düzeyleri ve aktif/pro MMP-2 oranında kadın ve erkek olgular arasında anlamlı bir fark saptanmazken, aktif/pro MMP-9 oranı kadınlarda anlamlı derecede yüksek olarak bulundu(p=0,038).
- 8) Çalışma olgularının yaş ortancası olan 47 yaşından büyük olan grupta aktif MMP-9 düzeyi ve aktif/pro MMP-9 oranı 47 yaşından küçük olan gruba göre anlamlı olarak yüksek olarak saptandı(p=0,014,p=0,003).
- 9) Kutan LE'li olgularda lezyonel ve perilezyonel deride aktifMMP-9/TIMP-1 oranları benzer olarak belirlendi.

- 10) Aktif ve pro MMP-2, aktif ve pro MMP-9, TIMP-1 ve aktif/pro MMP-2 oranında sigara kullanan ve kullanmayan olgu grupları arasında anlamlı bir fark saptanmazken, sigara kullanan grupta aktif/pro MMP-9 düzeyi anlamlı derecede yüksek olarak saptandı( $p=0,026$ ).
- 11) Aktif ve pro MMP-2, aktif ve pro MMP-9, TIMP-1 düzeyleri ve aktif/pro MMP-2 ve aktif/pro MMP-9 oranları ile fotoduyarlılık, ANA pozitifliği, sağaltım, deri tipi, sayrılık süresi ve kutan LE tipi arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.
- 12) Lezyon KLAŞI değeri ile aktif/pro MMP-9 oranı ve aktif/pro MMP-2 oranı arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı( $p=0,015$ ,  $p=0,027$ ).
- 13) Lezyon KLAŞI değeri ile ANA arasında anlamlı korelasyon saptanırken( $p=0,043$ ), vücut KLAŞI değeriyle ANA arasında ise anlamlı bir korelasyon saptanmadı.
- 14) Lezyonlu deride pro MMP-2 ile pro MMP-9 arasında anlamlı korelasyon saptandı( $p=0,000$ ).
- 15) Kadın olgularda lezyon KLAŞI değeri erkek hastaların KLAŞI değerine göre anlamlı derecede yüksek saptandı( $p=0,018$ ).

Çalışmamızda bulduğumuz sonuçlara göre KLE patogenezinde MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerindeki artışın yeri olabileceği sonucuna varılmıştır. Ancak bizim verilerimize göre kutan LE'de MMP-2,-9 aktiviteleri ile TIMP-1 arasında bir dengesizlikten bahsedilemez. İleride daha geniş hasta grupları ile kutan ve serum enzim aktivitelerinin sağaltım öncesi ve takipte bakılması ve immünohistokimyasal olarak enzim aktivitelerinin hücrel kaynaklarının araştırılması bu alanda daha anlamlı veriler sunabilecektir.

## **7. Kaynaklar:**

- 1.Rothfield N, Sontheimer RD, Bernstein M. Lupus erythematosus: systemic and cutaneous manifestations. *Clin Dermatol* 2006;24: 348-362.
- 2.Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH, Landthaler M. *Lupus Erythematosus*. In Braun-Falco's Dermatology 3th edition. Berlin, Springer Verlag, 2009; 716-731.
- 3.Ram M, Sherer Y, Shoenfeld Y. Matrix metalloproteinase-9 and autoimmune diseases. *J Clin Immunol* 2006; 26: 299-307 .
- 4.Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274: 21491-21494.
- 5.Galis S, Khatr JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002; 90: 251-262.
- 6.Jarvinen TM, Kanninen P, Jeskanen L et al. Matrix metalloproteinases as mediators of tissue injury in different forms of cutaneous lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 2007; 157: 970-980.
- 7.Gunduz K, Demireli P, Inanir I, et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-3, and MMP-9) and fibronectin in lichen planus. *J Cutan Pathol* 2006; 33: 545-550.
- 8.Patel P, Werth V. Cutaneous lupus erythematosus: a review. *Dermatol Clin* 2002; 20: 373-385.
9. Rapini RP. Lupus Erythematosus. In: Bologna JL, Jorizzo J, Rapini RP, eds. *Dermatology*. Second Ed.London: Mosby ( Elsevier Ltd.),2008; 561-574.
- 10.Cotsarelis G, Paus R, Olsen EA, Messenger AG. *Lupus Erythematosus*. In Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. Eds. Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ. 7th New York: Mc Graw-Hill, 2008:1515-1535.
- 11.Werth VP. Clinical manifestations of cutaneous lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2005; 4: 296-302.
- 12.Benseler SM, Silverman ED. Systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am* 2007; 33: 471-498.
- 13.Liu K, Mohan C. What do mouse models teach us about human SLE? *Clin Immunol* 2006; 119: 123-130.
- 14.Nath SK, Namjou B, Kilpatrick J et al. A candidate region on 11p13 for systemic lupus erythematosus: a linkage identified in African-American families. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2004;9: 64-67.

15. Millard TP, Kondeatis E, Cox A et al. A candidate gene analysis of three related photosensitivity disorders: cutaneous lupus erythematosus, polymorphic light eruption and actinic prurigo. *Br J Dermatol* 2001; 145: 229-236.
16. Racila DM, Sontheimer RD. C1q inhibits autoantibody binding to calreticulin. *Lupus* 1999; 8: 300-304.
17. Ackerman LS. Sex hormones and the genesis of autoimmunity. *Arch Dermatol* 2006; 142: 371-376.
18. Lahita RG. Sex hormones and systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am* 2000; 26: 951-968.
19. Petri M, Kim M Y, Kalunian KC et al. Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2005; 353: 2550-2558.
20. Casciola-Rosen L, Rosen A. Ultraviolet light-induced keratinocyte apoptosis: a potential mechanism for the induction of skin lesions and autoantibody production in LE. *Lupus* 1997; 6: 175-180.
21. Meller S, Winterberg F, Gilliet M et al. Ultraviolet radiation-induced injury, chemokines, and leukocyte recruitment: An amplification cycle triggering cutaneous lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1504-1516.
22. Hardy CJ, Palmer BP, Muir KR et al. Smoking history, alcohol consumption, and systemic lupus erythematosus: a case-control study. *Ann Rheum Dis* 1998; 57: 451-455.
23. Yung RL, Quddus J, Chrisp CE et al. Mechanism of drug-induced lupus. I. Cloned Th2 cells modified with DNA methylation inhibitors in vitro cause autoimmunity in vivo. *J Immunol* 1995; 154: 3025-3035.
24. Jewell ML, McCauliffe DP. Patients with cutaneous lupus erythematosus who smoke are less responsive to antimalarial treatment. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42: 983-987.
25. Rahman P, Gladman DD, Urowitz MB. Smoking interferes with efficacy of antimalarial therapy in cutaneous lupus. *J Rheumatol* 1998; 25: 1716-1719.
26. Kang I, Park S H. Infectious complications in SLE after immunosuppressive therapies. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15: 528-534.
27. Gill MA, Blanco P, Arce E et al. Blood dendritic cells and DC-poietins in systemic lupus erythematosus. *Hum Immunol* 2002; 63: 1172-1180.
28. Pascual V, Banchereau J, Palucka AK. The central role of dendritic cells and interferon-alpha in SLE. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15: 548-556.

29. Niewold TB, Swedler WI. Systemic lupus erythematosus arising during interferon-alpha therapy for cryoglobulinemic vasculitis associated with hepatitis C. *Clin Rheumatol* 2005; 24: 178-181.
30. Fritz M, Vats K, Goyal RK. Neonatal lupus and IUGR following alpha-interferon therapy during pregnancy. *J Perinatol* 2005; 25: 552-554.
31. Wenzel J, Worenkamper E, Freutel S et al. Enhanced type I interferon signalling promotes Th1-biased inflammation in cutaneous lupus erythematosus. *J Pathol* 2005; 205: 435-442.
32. Kuhn A, Herrmann M, Kleber S et al. Accumulation of apoptotic cells in the epidermis of patients with cutaneous lupus erythematosus after ultraviolet irradiation. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 939-950.
33. White S, Rosen A. Apoptosis in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15: 557-562.
34. Palucka AK, Blanck JP, Bennett L et al. Cross-regulation of TNF and IFN-alpha in autoimmune diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 3372-3377.
35. Costner MI, Grau RH. Update on connective tissue diseases in dermatology. *Semin Cutan Med Surg* 2006; 25: 207-220.
36. Wenzel J, Uerlich M, Worenkamper E et al. Scarring skin lesions of discoid lupus erythematosus are characterized by high numbers of skin-homing cytotoxic lymphocytes associated with strong expression of the type I interferon-induced protein MxA. *Br J Dermatol* 2005; 153: 1011-1015.
37. Wenzel J, Henze S, Braehler S et al. The expression of human leukocyte antigen-DR and CD25 on circulating T cells in cutaneous lupus erythematosus and correlation with disease activity. *Exp Dermatol* 2005; 14: 454-459.
38. Doria A, Vesco P, Zulian F et al. The 1982 ARA/ACR criteria for the classification of systemic lupus erythematosus in pediatric and adult patients. *Clin Exp Rheumatol* 1994; 12: 689-690.
39. Doria A, Biasinutto C, Ghirardello A et al. Photosensitivity in systemic lupus erythematosus: laboratory testing of ARA/ACR definition. *Lupus* 1996; 5: 263-268
40. Bano S, Bombardieri S, Doria, A et al. Lupus erythematosus and the skin. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24: 26-35.
41. Rothfield NF. The diagnostic features of SLE. *Hosp Pract (Off Ed)* 1989; 24: 37-46
42. Sontheimer RD. The lexicon of cutaneous lupus erythematosus--a review and personal perspective on the nomenclature and classification of the cutaneous manifestations of lupus erythematosus. *Lupus* 1997; 6: 84-95.

43. Cervera R, Khamashta MA, Font J et al. Systemic lupus erythematosus: clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine (Baltimore)* 1993; 72: 113-124
44. Geraminejad P, Stone MS, Sontheimer RD. Antimalarial lichenoid tissue reactions in patients with pre-existing lupus erythematosus. *Lupus* 2004; 13: 473-477.
45. Wilson CL, Burge SM, Dean D et al. Scarring alopecia in discoid lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 1992; 126: 307-314.
46. Ueki H. Koebner phenomenon in lupus erythematosus with special consideration of clinical findings. *Autoimmun Rev* 2005; 4: 219-223.
47. Nived O, Johansen PB, Sturfelt G. Standardized ultraviolet-A exposure provokes skin reaction in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1993; 2: 247-250.
48. Massone C, Kodama K, Salmhofer W et al. Lupus erythematosus panniculitis (lupus profundus): clinical, histopathological, and molecular analysis of nine cases. *J Cutan Pathol* 2005; 32: 396-404.
49. Caproni M, Palleschi GM, Papi C et al. Discoid lupus erythematosus lesions developed on lupus erythematosus profundus nodules. *Int J Dermatol* 1995; 34: 357-359.
50. Carducci M, Mussi A, Lisi S et al. Lupus mastitis: a 2-year history of a single localization of lupus erythematosus mimicking breast carcinoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005; 19: 260-262.
51. Kuhn A, Sonntag M, Richter-Hintz D et al. Phototesting in lupus erythematosus tumidus--review of 60 patients. *Photochem Photobiol* 2001; 73: 532-536.
52. Ruiz H, Sanchez JL. Tumid lupus erythematosus. *Am J Dermatopathol* 21: 356-360, 1999.
53. Diogenes MJ, Diogenes PC, de Moraes Carneiro RM et al. Cutaneous manifestations associated with antiphospholipid antibodies. *Int J Dermatol* 2004; 43: 632-637.
54. Zecevic RD, Pavlovic MD, Stefanovic D. Lupus band test and disease activity in systemic lupus erythematosus: does it still matter? *Clin Exp Dermatol* 2006; 31: 358-360.
55. Wallace DJ. What's new in the management of lupus since 2000? *J Clin Rheumatol* 2006; 12: 307-313 .
56. Parodi A, Massone C, Cacciapuoti M et al. Measuring the activity of the disease in patients with cutaneous lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 2000; 142: 457-460.
57. Albrecht J, Werth VP. Development of the CLASI as an outcome instrument for cutaneous lupus erythematosus. *Dermatol Ther* 2007; 20: 93-101.

58. Abdel-Aziz K, Goodfield M. Evaluation of the Cutaneous Lupus Activity and Severity Score in the assessment of lupus erythematosus skin disease. *Br J Dermatol* 2008; 158: 181-182.
59. Kurien BT, Scofield RH. Autoantibody determination in the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol* 2006; 64: 227-235.
60. Lee H. J, Sinha A A. Cutaneous lupus erythematosus: understanding of clinical features, genetic basis, and pathobiology of disease guides therapeutic strategies. *Autoimmunity* 2006; 39: 433-444.
61. Wozniacka A, McCauliffe DP. Optimal use of antimalarials in treating cutaneous lupus erythematosus. *Am J Clin Dermatol* 2005; 6: 1-11.
62. Sontheimer RD. Subacute cutaneous lupus erythematosus: 25-year evolution of a prototypic subset (subphenotype) of lupus erythematosus defined by characteristic cutaneous, pathological, immunological, and genetic findings. *Autoimmun Rev* 2005; 4: 253-263.
63. Callen JP. Update on the management of cutaneous lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 2004; 151: 731-736.
64. Massova I, Kotra LP, Fridman R et al. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB J* 1998; 12: 1075-1095.
65. Garcia-Touchard A, Henry TD, Sangiorgi G et al. Extracellular proteases in atherosclerosis and restenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1119-1127.
66. Reel B. Matriks Metalloproteinaz enzimleri ve ateroskleroz. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2006; 26: 527-537.
67. Lambert E, Dasse E, Haye B et al. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 49: 187-198.
68. Parks WC, Wilson CL, Lopez-Boado YS. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 617-629.
69. Beaudeau JL, Giral P, Bruckert E et al. Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 121-131.
70. Hoekstra R, Eskens FA, Verweij J. Matrix metalloproteinase inhibitors: current developments and future perspectives. *Oncologist* 2001; 6: 415-427.
71. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17: 463-516.
72. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003; 92: 827-839.

- 73.Kuzuya M, Iguchi A. Role of matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *J Atheroscler Thromb* 2003; 10: 275-282.
- 74.Overall CM, Lopez-Otin C. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 657-672.
- 75.Mook OR, Frederiks WM, Van Noorden CJ. The role of gelatinases in colorectal cancer progression and metastasis. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1705: 69-89.
- 76.Aksun SA, Bayındır O. Metalloproteinazlar, inhibitörleri ve ilişkili fizyolojik ve patolojik durumlar. *T Klin J Med Sci* 2001; 21: 332-342.
- 77.Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. *Mol Aspects Med* 2008; 29: 290-308.
- 78.Vihinen P, Kahari VM. Matrix metalloproteinases in cancer: prognostic markers and therapeutic targets. *Int J Cancer* 2002; 99: 157-166.
- 79.Jones CB, Sane DC, Herrington DM. Matrix metalloproteinases: a review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovasc Res* 2003; 59: 812-823.
- 80.McCawley LJ, Li S, Benavidez M et al. Elevation of intracellular cAMP inhibits growth factor-mediated matrix metalloproteinase-9 induction and keratinocyte migration. *Mol Pharmacol* 2000; 58: 145-151.
- 81.Jacob MP. Extracellular matrix remodeling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions. *Biomed Pharmacother* 2003; 57: 195-202
- 82.Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res* 1995; 77: 863-868.
- 83.Faber-Elmann A, Stoeber Z, Tcherniack A et al. Activity of matrix metalloproteinase-9 is elevated in sera of patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 2002; 127: 393-398.
- 84.Makowski GS, Ramsby ML. Concentrations of circulating matrix metalloproteinase 9 inversely correlate with autoimmune antibodies to double stranded DNA: implications for monitoring disease activity in systemic lupus erythematosus. *Mol Pathol* 2003; 56: 244-247.
- 85.Konttinen YT, Halinen S, Hanemaaijer R et al. Matrix metalloproteinase (MMP)-9 type IV collagenase/gelatinase implicated in the pathogenesis of Sjogren's syndrome. *Matrix Biol* 1998; 17: 335-347.
- 86.Kim WU, Min SY, Cho ML et al. Elevated matrix metalloproteinase-9 in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: R71-79.



87. Wiechelman KJ, Braun RD, Fitzpatrick JD. Investigation of the bicinchoninic acid protein assay: identification of the groups responsible for color formation. *Anal Biochem* 1988; 175: 231-237.
88. Leber TM, Balkwill FR. Zymography: a single-step staining method for quantitation of proteolytic activity on substrate gels. *Anal Biochem* 1997; 249: 24-28.
89. Chang YH, Lin IL, Tsay GJ et al. Elevated circulatory MMP-2 and MMP-9 levels and activities in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Clin Biochem* 2008; 41: 955-959.
90. Jiang Z, Sui T, Wang B. Relationships between MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 levels and their pathogenesis in patients with lupus nephritis. *Rheumatol Int*, 2009.
91. Faber-Elmann A, Eilat E, Zinger H et al. A peptide based on an anti-DNA autoantibody downregulates matrix metalloproteinases in murine models of lupus. *Clin Immunol* 2002; 105: 223-232.
92. Matache C, Stefanescu M, Dragomir C et al. Matrix metalloproteinase-9 and its natural inhibitor TIMP-1 expressed or secreted by peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun* 2003; 20: 323-331.
93. Robak E, Wierzbowska A, Chmiela M et al. Circulating total and active metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in patients with systemic lupus erythematosus. *Mediators Inflamm* 2006: 17898.
94. Hitchon CA, Danning CL, Illei GG et al. Gelatinase expression and activity in the synovium and skin of patients with erosive psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 2002; 29: 107-117.
95. Fortino V, Maioli E, Torricelli C et al. Cutaneous MMPs are differently modulated by environmental stressors in old and young mice. *Toxicol Lett* 2007; 173: 73-79.
96. Lesiak A, Narbutt J, Sysa-Jedrzejowska A et al. Effect of chloroquine phosphate treatment on serum MMP-9 and TIMP-1 levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*.2010.
97. Peterson JT. Matrix metalloproteinase inhibitor development and the remodeling of drug discovery. *Heart Fail Rev* 2004; 9: 63-79.
98. Borkakoti N. Matrix metalloprotease inhibitors: design from structure. *Biochem Soc Trans* 2004; 32: 17-20.
99. Axisa B, Loftus IM, Naylor AR et al. Prospective, randomized, double-blind trial investigating the effect of doxycycline on matrix metalloproteinase expression within atherosclerotic carotid plaques. *Stroke* 2002; 33: 2858-2864.

