

Sistemik Lupus Eritematozuslu Aktif ve İnaktif Hastalarda T-Regulatuvar Hücreler Farklılık Gösteriyor mu?

Are Regulatory T Cell Levels Different in Active and Inactive Systemic Lupus Erythematosus Patients?

¹Hava Üsküdar Teke, ²Döndü Üsküdar Cansu, ³Cengiz Bal, ²Cengiz Korkmaz

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Eskişehir, Türkiye
²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Romatoloji Bilim Dalı, Eskişehir, Türkiye
³Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Biyoistatistik Bilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

Özet: Sistemik lupus eritematozus (SLE) patogeneğinde bozulmuş T yardımcı hücre (Th) alt gruplarının ve düzenleyici T hücrelerinin (T-reg'ler) dengesizliği söz konusudur. Otoantijenlere karşı oluşacak immun yanıtı baskılayarak otoimmun hastalıkları engellemektedirler. Çalışmaların çoğunda periferik T-reg hücrelerinin aktif hastalıkta azaldığı gösterilmişse de arttığı veya etkili olmadığını gösteren çalışmalar da vardır. Amacımız, aktif ve inaktif SLE hastalarında T-reg ve Th-17 düzeyleri açısından fark olup olmadığını saptayarak hastalık patogenezi üzerine bu hücrelerin etkilerini ortaya koymaktır. Çalışmaya aktif, enfeksiyon bulgusu olmayan 21 SLE hastası alındı. Organ ve sistem tutulumları, hemogram sonuçları, hastalık aktivasyonu açısından eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP), kompleman (C)3, C4, anti-ds-DNA düzeyleri, SLE-hastalık aktivite indeksi (SLEDAI) değerleri kaydedildi. SLEDAI \geq 6 aktif hastalık olarak kabul edildi. Eş zamanlı periferik kandan Th-17 ve T-reg düzeyleri çalışıldı. Cinsiyet ve yaş uyumlu sağlıklı 15 kişi kontrol grubu olarak alındı. Hastaların 19'u kadın, yaş ortalaması 37.3 \pm 12.9, hastalık süresi ortalama 7.9 \pm 1.29 yıl idi. Hastaların 15'inde (%71.4) hematolojik, 17'sinde (%81) renal ve 7'sinde (%42.9) eklem tutulumu vardı. CD4+CD25+ T-reg, CD4+FOXP3+T-reg, CD4+CD25+FOXP3+T-reg ve CD4+IL-17+ açısından SLE ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında hem T-reg hücrelerinin hem de CD4+IL-17+ hücre düzeyleri SLE grubunda anlamlı olarak daha yüksek saptandı (sırasıyla p değerleri p=0.011, p=0.001, p=0.001 ve p=0.040). Hastalar SLEDAI'ye göre aktif (n=12) ve inaktif (n=9) olarak karşılaştırıldığında 2 grup arasında Th-17 ve T-reg düzeyleri açısından da anlamlı bir fark saptanamadı. Ancak inaktif dönemde aktif döneme göre CD4+FOXP3+T-reg ve CD4+CD25+FOXP3+T-reg hücrelerinin düzeyi artış eğilimindeydi. Literatürde SLE'de T-reg çalışmalarının sayısı azdır ve sonuçlar çelişkilidir. Çalışmaların çoğunda T-reg'lerin sayısının azaldığı ve fonksiyonunun bozulduğu ve tedavi ile de bu hücrelerin artış eğiliminde oldukları saptanmıştır. Sonuç olarak, çalışmamızda SLE'li hastalarda bütün hastalar tedavi altında olduğundan T-reg hücreleri uyarılmış olabilir ve kontrol grubundan daha yüksek düzeyler saptanmış olabilir. Bu durumu açıklayabilmek için SLE'li immunsupresif naif hasta grubunda tedavi öncesi, sonrası ve aktivasyon ve remisyon dönemlerinde hasta sayılarının fazla olduğu benzer bir çalışma yapılmasına gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: sistemik lupus eritematozus, t-regulatuvar hücreler, t-helper hücreler

Abstract: In the pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE), impaired T helper cell (Th) subgroups and regulatory T cells (T-reg) are imbalanced. It suppresses the immune response to autoantigens and prevents autoimmune diseases. Although most of the studies have shown that the majority of peripheral T-reg cells are reduced in active disease, there are also studies showing that they are either elevated or not effective. Our aim is to determine whether there is a difference between T-reg and Th-17 levels in active and inactive SLE patients and to demonstrate the effects of these cells on disease pathogenesis. 21 SLE patients without active infection were included. Erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), complement (C)3, C4, anti-ds-DNA levels, SLEDAI values were recorded in terms of organ and system involvement, hemogram results, disease activation. SLEDAI \geq 6 were considered active disease. Concurrent peripheral blood Th-17 and T-reg levels were studied. 15 healthy control subjects were included in the study. 19 of the patients were women, the mean age was 37.3 \pm 12.9 years and mean duration of disease was 7.9 \pm 1.29 years. Hematologic involvement was present in 15 (71.4%) of the patients, renal involvement in 17 (81%) and joint involvement in 7 (42.9%). Both T-reg cells and CD4+IL17+ cell levels were significantly higher in SLE group compared to SLE in terms of CD4+CD25+T-reg, CD4+FOXP3+T-reg, CD4+CD25+FOXP3+T-reg (p=0.011, p=0.001, p=0.001 and p=0.040, respectively). When the patients were compared according to SLEDAI as active (n= 12) and inactive (n=9), there was no significant difference between the two groups in terms of Th17 and T-reg levels. However, in the inactive period, the levels of CD4+FOXP3+T-reg and CD4+CD25+FOXP3+Treg cells tended to increase compared to the active period. In the literature, the number of T-reg studies in SLE is small and the results are contradictory. In the majority of studies, it was determined that the number of T-reg decreased and that the function deteriorated and that these cells were in an increasing tendency with treatment. In conclusion, in our study, all patients with SLE were under treatment and the T-reg cells could be stimulated and higher levels than the control group could have been detected. In order to explain this situation, a similar study is needed in pre-treatment, post-treatment, and activation and remission periods in patients with SLE immunosuppressive naive patients with more patient numbers.

Keywords: systemic lupus erythematosus, regulatory t cell, t helper cell

ORCID ID of the authors: H.Ü.T. 0000-0002-4434-4580, D.Ü.C. 0000-0001-6543-3905, C.B. 0000-0002-1553-2902, C.K. 0000-0003-2679-0699

Received 24.09.2018

Accepted 01.10.2018

Online published 02.10.2018

Correspondence: Hava ÜSKÜDAR TEKE- Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Eskişehir, Türkiye
e-mail: havaus@yahoo.com

Cite this article as:

Uskudar Teke H, Uskudar Cansu D, Bal C, Korkmaz C. Are Regulatory T Cell Levels Different in Active and Inactive Systemic Lupus Erythematosus Patients? Osmangazi Journal of Medicine, 2020;42(3):258-263

Doi: 10.20515/otd.463208

1. Giriş

Sistemik lupus eritematozus (SLE) tüm organ ve dokuları etkileyebilen otoimmün bir hastalıktır. Genetik olarak predispoze bireyler, çevresel faktörler, bazı viral enfeksiyonlar ve sigara otoimmün cevabı tetikleyebilir (1). SLE patogenezinde bozulmuş T yardımcı hücre (Th) alt gruplarının (Th1/Th2/Th17) ve düzenleyici T hücrelerinin (T-reg'ler) dengesizliği söz konusudur. Düzenleyici T hücreler (T-reg) CD4+ CD25+ FOXP3+ olarak timustan köken alarak gelişirler ve dolaşımında yaklaşık %8-10 civarında bulunmaktadır. Vücutta gelişen otoantijenlere karşı oluşacak immün yanıtı baskılayarak, otoimmün hastalıkları engellemektedirler. SLE patogenezinde, spesifik Th hücre alt gruplarının ve ilgili sitokinlerin katkısı halen tartışmalıdır (2). SLE dışında diğer romatolojik hastalıklardan sistemik sklerozun ve Sjögren sendromunun patogenezinde de otoantikörler yanısıra artmış sitokin düzeyleri etkilidir. Aktive T lenfositler, özellikle CD4+ T hücreleri sistemik sklerozlu hastalarda da tespit edilmiştir (3-5). Th-1 ve Th-2 lenfositler, naive CD4+ T hücreleri transkripsiyon faktörü olan ROR γ t etkisi ile Th17'ye farklılaşabilir (6). Th17 hücreleri potent proinflamatuvar sitokinler olan IL-17A, IL-17F, ve IL-22 sekrete edebilir ve bu sitokinler de doku hasarına katkıda bulunur (7). Effektör T hücrelerinin kendi kendine reaksiyon fonksiyonu CD4+ T lenfositlerden ekspres edilen transkripsiyon faktörü olan FoxP3 ve regülatuar T hücreleri tarafından kontrol edilir. (8). Treg hücrelerinin azalması veya fonksiyon eksikliği SLE'li hastaların aktif hastalıkları ile ilişkili olabilir. Otoimmün hastalıkların ve inflamatuvar durumların patogenezinde önemli etkilere sahip olan Th17 hücreleri ise SLE'li hastalarda artmış olarak saptanabilir. T-reg/Th-17 dengesizliği otoimmünite gelişiminde potansiyel bir rol oynamakta olup T-reg/Th-17 oranının aktif SLE'li hastalarda azaldığı gösterilmiştir (9).

SLE patogenezinde T-reg ve Th-17 arasındaki dengesizlikle ilgili literatürde çok fazla çalışma yoktur. Çalışmaların çoğunda periferik T-reg hücrelerinin aktif hastalıkta azaldığı gösterilmişse de arttığı veya etkili

olmadığını gösteren çalışmalar da vardır. Amacımız, özellikle aktif ve inaktif SLE hastalarında T-reg ve Th-17 düzeyleri açısından fark olup olmadığını saptayarak hastalık patogenezi üzerine bu hücrelerin etkilerini ortaya koymaktır.

2. Metod

Hasta seçimi

Çalışmaya 1997 Revize SLE kriterlerini karşılayan takipli aktif enfeksiyon bulgusu olmayan 21 SLE hastası alındı. Hastaların organ ve sistem tutulumları, hemoglobin, beyaz küre, absölu nötrofil, absölu lenfosit sayıları, hastalık aktivasyonu açısından eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP), kompleman (C)3, C4, anti-ds-DNA düzeyleri, SLE hastalık aktivite indeksleri (SLEDAI) kaydedildi. SLEDAI \geq 6 aktif hastalık olarak kabul edildi.

Cinsiyet ve yaş uyumlu sağlıklı 15 kişi kontrol grubu olarak alındı.

Çalışma için lokal etik kuruldan onay alınmıştır.

T-reg ve Th-17 düzeylerinin çalışma prensibi

Eş zamanlı periferik kandan T-reg (CD4+CD25+T-reg, CD4+FOXP3+T-reg, CD4+CD25+FOXP3+T-reg) ve Th-17 hücre düzeyleri (IL17 üreten T hücreleri) çalışıldı.

T-reg analizi

T-reg analizi için K3EDTA'lı tüpe kan alındı. CD4PerCp, CD25FITC yüzey antijenleri kondu. Üzerine 100 μ l 1×10^6 hücreye ayarlanmış kan kondu. 15-20 dakika oda ısısında inkübe edildi. 2 cc eritrosit lysing solusyonu ile 10 dakika oda ısısında bekletildi. 5 dakika 1800 RPM de santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Soğuk phosphate buffer saline (PBS) ilave edilerek yıkandı. Pellet vortekslendi ve 1ml taze hazırlanmış fiksasyon/ permeabilizasyon solusyonu konup vortekslendi. 4°C'de 30-60 dakika karanlıkta bekletildi. 2 ml 1X permeabilizasyon solusyonu ile 2 defa yıkandı ve süpernatant

alındı. Dipteki pelletin üzerine 20 µl FOXP3-PE kondu. 4°C'de en az 30 dakika karanlıkta bekletildi. 2 ml permeabilizasyon solusyonu ile 2 defa yıkanıp süpernatant atıldı. PBS ile resuspanse edilerek akım sitometri cihazında 25000-30000 hücre saydırıldı. Analizler yalnızca CD4+ helper T hücreler kapı alınarak ve kan alınmasını takip eden 24 saat içinde yapıldı

Th-17 analizi

IL-17 için ise heparinli enjektöre kan alındı. 0.5 cc kan ile 0.5 cc RPMI karıştırıldı. Üzerine 25 µl PMA, 20 µl kalsiyum ionomycine, 10 µl beteldin konuldu. %5 CO₂ 37°C'de 4-6 saat bekletildi. Falcon tüpe 100 µl aktive kan konuldu. 2 ml pharmlıye ilave edilip vortekslendi. 10 dakika karanlıkta bekletildi. 1800 RPM'de 5 dakika santrifüj edilip supernatant atıldı. 2 ml Dulbecco konulup 1800 RPM'de 5 dakika yıkandı. Yüzey antijenleri (CD3,CD4) bağlandı. 15 dakika karanlıkta oda ısısında inkübe edildi. Tekrar Dulbecco ile 1800 RPM'de 5 dakika yıkandı. Supernatant atılıp, pellete 500 µl cytefix/cytoperm koyulup vortekslendi. Karanlık oda ısısında 20 dakika bekletildi. 5 dakika 1800 RPM'de santrifüj edilerek supernatant atıldı. 2 ml dilüe perwash solusyonu koyulup 10 dakika bekletildi. 5 dakika 1800 RPM'de santrifüj edildi, supernatant atıldı. İntrasellüler antijenin (IL-17) 30 dakika bağlanması sağlandı. Bir kez daha yıkandı. Pellete PBS eklenip vortekslendi ve son olarak akım sitometri cihazında analiz edildi.

İstatistiksel analiz

Çalışmaya alınan değişkenlerin incelenmesinde sürekli veriler ortalama±standart sapma (SD), kategorik veriler ise sıklık ve yüzde olarak verildi. Elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirmesi için IBM, SPSS for Windows sürüm 21.0 kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, p<0.05 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı

kabul edildi. Kategorik verilerin analizinde (çapraz tablolar) Pearson Kikare, Yate's Kikare ve Pearson Kesin Kikare analizleri kullanıldı. Değişkenler arası ilişkinin (korelasyon) yönü ve büyüklüğünün belirlenmesi normal dağılım gösteren değişkenler için Pearson Korelasyon katsayıları, normal dağılıma uygunluk göstermeyen değişkenler için ise Spearman korelasyon katsayıları hesaplandı.

3. Sonuçlar

Hastaların 19'u kadın, yaş ortalaması 37.3±12.9, hastalık süresi ortalama 7.9±1.29 yıl idi. Hastaların 15'inde (%71.4) hematolojik, 17'sinde (%81) renal ve 7'sinde (%42.9) eklem tutulumu vardı. Çalışma sırasında ortalama ESH 34.2 ±16,37 mm/saat, CRP 1.07±0.342 mg/dl, ortalama SLEDAI 5.9±09 idi. Hastaların hepsi hidroklorokin alırken 16'sı (%76.2) aktif olarak steroid, 14'ü (%66.7) immunüpresif ilaç (azatioprin n=9 (%42.9), mikofenolat mofetil n=4 (%19), siklofosamid n=1 (%4.8)) alıyordu. CD4+CD25+ T-reg, CD4+FOXP3+T-reg, CD4+CD25+FOXP3+T-reg ve CD4+IL-17+ açısından SLE ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında hem Treg hücrelerinin hem de CD4+IL-17+ hücre düzeyleri SLE grubunda anlamlı olarak daha yüksek saptandı (sırasıyla p değerleri p=0.011, p=0.001, p=0.001 ve p=0.040) (tablo1). Hastalar SLEDAI'ye göre aktif (n=12) ve inaktif (n=9) olarak karşılaştırıldığında 2 grup arasında CD4+CD25+T-reg, CD4+FOXP3+T-reg, CD4+CD25+FOXP3+T-reg ve CD4+IL-17+ düzeyleri açısından da anlamlı bir fark saptanamadı (Tablo 2). Hastalık aktivasyon ölçütlerinden ESH, CRP ve SLEDAI ile CD4+CD25+T-reg, CD4+FOXP3+T-reg, CD4+CD25+FOXP3+T-reg ve CD4+IL-17+ arasında korelasyon saptanamadı (Tablo 3). Ancak inaktif dönemde aktif döneme göre CD4+FOXP3+T-reg ve CD4+CD25+FOXP3+T-reg hücrelerinin düzeyi artış eğilimindeydi (Şekil 1).

Tablo 1. SLE hastalarının ve sağlıklı kontrol grubunun demografik özellikleri ve T-reg ve Th-17 (IL-17) düzeyleri

	SLE hastaları	Sağlıklı kontrol	p
N	21	15	-
Kadın/Erkek	19/2	13/2	>0.05
Yaş±SD, yıl	37.3±12.9	38.6±3.6	>0.05
Tanı yaşı±SD, yıl	29.8±2.1	-	-
Hastalık süresi±SD, yıl	7.9±1.29	-	-
Organ tutulumları			
Hematolojik tutulum, n, (%)	15 (71.4)	-	-
Böbrek tutulumu, n, (%)	17 (81)	-	-
Eklem tutulumu, n, (%)	7 (42.9)	-	-
Serozit, n, (%)	3 (14.3)	-	-
Nörolojik tutulum, n, (%)	3 (14.3)	-	-
AFS, n, (%)	4 (19)	-	-
ESH±SD, mm/saat	34.2 ±15.9	-	-
CRP±SD, mg/dl	1.07±0.342	-	-
SLEDAI ortalama±SD	5.9±0.9	-	-
SLEDAI			
Düşük hastalık aktivitesi	9	-	-
Orta	11	-	-
Yüksek	1	-	-
Çok yüksek	0	-	-
ANA pozitifliği, n, (%)	21 (100)	-	-
Anti-ds-DNA pozitifliği, n, (%)	20 (95.2)	-	-
Medikal tedavi			
HCQ kullanımı, n, (%)	21 (100)	-	-
Steroid kullanımı, n, (%)	16 (76.2)	-	-
İmmüsupresif kullanımı, n, (%)	14 (66.7)	-	-
AZA, n, (%)	9 (42.9)	-	-
MMF, n, (%)	4 (19)	-	-
CYP, n, (%)	1 (4.8)	-	-
CD4+CD25+ T-reg %, ortalama±SD	8.22±3.44	4.32±1.58	0.011
CD4+FOXP3+ T-reg %, ortalama±SD	9.53±5.40	2.59±1.05	0.001
CD4+CD25+FOXP3+T-reg %, ortalama±SD	2.95±1.53	1.30±0.62	0.001
CD4+IL-17+ %, ortalama±SD	2.45±1.43	1.53±0.45	0.040

SD; standart sapma, AFS; antişofolipid sendrom, ESH; eritrosit sedimentasyon hızı, CRP; C-reaktif protein, SLEDAI; Sistemik lupus erimetozus hastalık aktivite indeksi ANA; anti-nükleer antikor, HCQ; hidroklorokin, AZA; azotiyoprin, MMF; mikofenolat mofetil, CYP; siklofosamid, T-reg; T regülatuar hücre

Tablo 2. SLE hastalarında hastalık aktivasyonuna göre CD4+CD25+T-reg, CD4+FOXP3+T-reg, CD4+CD25+FOXP3+T-reg ve CD4+IL-17+ düzeylerinin karşılaştırılması

		N	ortalama±SD	p
CD4+CD25+ T-reg hücre %'si	Aktif SLE	12	8.63±3.66	* 0.006
	İnaktif SLE	9	7.67±3.25	** 0.046
	Kontrol	15	4.32±1.58	*** 0.899
CD4+FOXP3+ T-reg hücre %'si	Aktif SLE	12	8.34±3.95	* 0.001
	İnaktif SLE	9	11.11±6.83	** 0.017
	Kontrol	15	2.59±1.05	*** 0.654
CD4+CD25+FOXP3+T-reg hücre %'si	Aktif SLE	12	2.88±1.50	* 0.012
	İnaktif SLE	9	3.04±1.67	** 0.041
	Kontrol	15	1.30±0.62	*** 0.995
CD4+IL-17+ hücre %'si	Aktif SLE	12	2.78±1.56	* 0.057
	İnaktif SLE	9	2.01±1.16	** 0.599
	Kontrol	15	1.53±0.45	*** 0.509

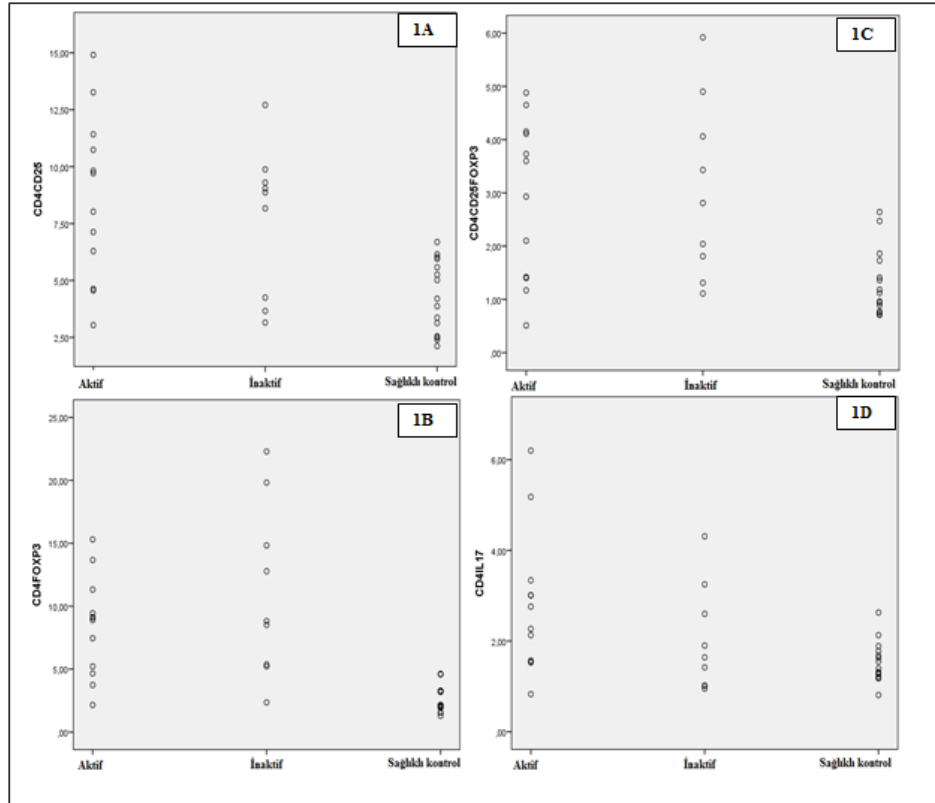
Treg; T regülatuar hücre, IL-17; interlökin-17, SD; standart sapma

*Aktif ile kontrol grubu, **inaktif ile kontrol grubu, *** aktif ile inaktif grup

Tablo 3.SLE'li hasta grubunda hastalık aktivasyon göstergeleri ile T-reg ve Th-17 hücre düzeyleri arasındaki korelasyon analizleri

	CD4+CD25+T- reg	CD4+FOXP3+T- reg	CD4+CD25+FOXP3+T- reg	CD4+IL17+
SLEDAI	r=0.279 p=0.221	r=-0.214 p=0.352	r=0.032 p=0.892	r=0.199 p=0.386
ESH mm/saat	r=-0.064 p=0.784	r=0.187 p=0.417	r=0.050 p=0.830	r=0.180 p=0.435
CRP mg/dl	r=-0.300 p=0.187	r=-0.037 p=0.874	r=-0.344 p=0.127	r=0.433 p=0.05

SLEDAI; Sistemik lupus eritematozus hastalık aktivite indeksi, ESH; eritrosit sedimentasyon hızı, CRP; C-reaktif protein



Şekil 1. SLE hastalarında hastalık aktivasyonuna göre kontrol grubu ile CD4+CD25+T-reg (1A), CD4+FOXP3+T-reg (1B), CD4+CD25+FOXP3+T-reg (1C) ve CD4+IL-17+(1D) düzeylerinin karşılaştırılması

4. Tartışma

Proinflatuar Th-17 hücreleri ve baskılayıcı T-reg hücreleri SLE'yi de içeren otoimmün hastalıkların patogeneğinde önemli bir role sahiptir. T-h17/T-reg hücrelerinin aktif SLE ve organ tutulumu ile ilişkisi gösterilmiştir (9,10). Literatürde SLE'de T-reg çalışmalarının sayısı azdır ve sonuçlar çelişkilidir. Çalışmaların çoğunda T-reg'lerin sayısının azaldığı ve fonksiyonunun bozulduğu ve tedavi ile de bu hücrelerin artış

eğiliminde oldukları saptanmıştır (11). Çalışmamız Türk SLE hastalarında T-reg ve Th düzeylerini araştıran literatürdeki ilk çalışmadır. Çalışmamızda SLE hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre tüm T-reg hücre düzeyleri yüksek saptanmıştır. Fakat hastalar aktif ve inaktif olarak iki gruba ayrıldığında istatistiksel anlamlılık olmamakla birlikte sadece CD4+FOXP3+T-reg ve CD4+CD25+FOXP3+T-reg hücrelerinin

düzeyinin arttığı görüldü. Bu durum, hastaların tedavi altında olması ve kullandıkları ilaçların T-reg hücre düzeylerini yeterli düzeyde arttıramaması ile ilişkilendirilmiştir.

Çalışmalarda SLE'li hastalarda IL-17 düzeylerinin aktif hasta grubunda daha yüksek olduğu ve T-reg/Th-17 oranının azaldığı da gösterilmiştir (11,12). Çalışmamızda literatüre benzer şekilde aktif SLE hasta grubumuzda IL-17 düzeyleri inaktif SLE grubuna göre yüksek saptanmasına rağmen istatistiksel anlamlılık yoktu.

KAYNAKLAR

1. Tsokos G.C. Mechanisms of disease: systemic lupus erythematosus *N Engl J Med* 2011; 22: 2110-21
2. Kleczynska W, Jakiela B, Plutecka H, et al. Imbalance between Th17 and regulatory T-cells in systemic lupus erythematosus. *Folia Histochem Cytobil* 2011; 49: 646-53
3. Abraham DJ, Krieg T, Distler J, et al. Overview of pathogenesis of systemic sclerosis. *Rheumatology* 2009;48:3-7
4. Uskudar Cansu D, Uskudar Teke H, Korkmaz C. Assessment Of Peripheral Blood Regulatory T Cells And T Helper 17 Cells In Patients With Systemic Scleroderma, *Osmangazi Journal of Medicine* 2018; 40: 28-33
5. Alunno A, Carubbi F, Bistoni O, Caterbi S, Bartoloni E, Mirabelli G, et al. T Regulatory and T Helper 17 Cells in Primary Sjögren's Syndrome: Facts and Perspectives. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015: 243723.
6. Hemdan NY, Birekenmeier G, Wichmann G et al. Interleukin-17- producing T helper cells in autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2010; 9: 785-79
7. Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med* 2009; 36: 888-89.
8. Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 849-859.
9. Alunno A, Bartoloni E, Bistoni O, Nocentini G, Ronchetti S, Caterbi S, Valentini V, Riccardi C, Gerli R. Balance between regulatory T and Th17 cells in systemic lupus erythematosus: the old and the new. *Clin Dev Immunol.* 2012; 2012: 823085.
10. Kuhn A, Beissert S, Krammer PH. CD4+CD25+ regulatory T cells in human lupus erythematosus. *Arch Dermatol Res* 2009; 301:71-81.

Çalışmamızın önemli sınırlılıklarından biri hasta sayısının göreceli az olması, diğeri de tüm SLE'li hastaların tedavi altında olmasıdır.

Sonuç olarak, çalışmamızda SLE'li bütün hastalar tedavi altında olduğundan T-reg hücreleri uyarılmış olabilir ve kontrol grubundan daha yüksek düzeyler saptanmış olabilir. Bu durumu açıklayabilmek için SLE'li immunsupresif naif hasta grubunda tedavi öncesi, sonrası ve aktivasyon ve remisyon dönemlerinde hasta sayılarının fazla olduğu benzer bir çalışma yapılmasına gereksinim vardır.

11. Yang J, Yang X, Zou H, et al. Recovery of the immune balance between Th17 and regulatory T cells as a treatment for systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2011; 50: 1366-72.
12. Kleczynska W, Jakiela B, Plutecka H, et al. Musial J. Imbalance Tn17 and regulatory T-cells in systemic lupus erythematosus. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 2011; 49: 646-53.