

Bidang Unggulan: Kesehatan, Gizi dan Obat-obatan

Kode>Nama Rumpun Ilmu : 260 / ILMU KEDOKTERAN

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI (M)



**PENGARUH VITAMIN D TERHADAP KERUSAKAN ENDOTEL
YANG DICETUSKAN MELALUI PEMBENTUKAN *NEUTROPHILE
EXTRACELLULAR TRAPS* (NETs) OLEH *LOW DENSITY
GRANULOCYTES* (LDGs) PADA PASIEN LUPUS ERITEMATOSUS
SISTEMIK**

Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun

Ketua/Anggota Tim

Dr. dr. Kusworini, MKes	31035608
dr. Dian Hasanah, MBiomed	11047908
dr. Sri Sunarti, SpPD	26117405

Dibiayai oleh :

Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan,
Melalui DIPA Universitas Brawijaya Nomor : DIPA-023.04.2.414989/2013,
Tanggal 5 Desember 2012, dan berdasarkan SK Rektor Universitas Brawijaya
Nomor : 295/SK/2013 tanggal 12 Juni 2013

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
NOVEMBER 2013

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : PENGARUH VITAMIN D TERHADAP
Peneliti / Pelaksana : KERUSAKAN ENDOTEL YANG DICETUSKAN
MELALUI PEMBENTUKAN NEUTROPHILE
EXTRACELLULAR TRAPS (NETs) OLEH LOW
DENSITY GRANULOCYTES (LDGs) PADA PASIEN
LUPUS ERITEMATOSUS SISTEMIK

Nama Lengkap : Dr. dr. Kusworini, Mkes
NIDN : 31035608
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Fakultas : Kedokteran
Nomor HP : 08135396555
Alamat surel (e-mail) : dr.kusworini@gmail.com

Anggota (1)
Nama Lengkap : dr. Dian Hasanah, M.Biomed
NIDN : 11047908
Perguruan Tinggi : Universitas Brawijaya

Anggota (2)
Nama Lengkap : dr. Sri Sunarti, SpPD
NIDN : 26117405
Nama Institusi Mitra :
Alamat :
Penanggung Jawab :
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp. 98.000.000,-
Biaya Keseluruhan : Rp. 198.000.000,-



Dr. dr. Kartono Mintaroem, SpPA
NIP. 19501116 198002 1 001

Malang, 28 November 2013
Ketua Peneliti,

DR. Dr. Kusworini, MKes
NIP. 195603311988022001

Menyetujui,
Ketua LPPM

Prof. Dr. Ir. Siti Chuzaemi, MS
NIP. 19530514 198002 2 001

ABSTRAK

Latar Belakang. Neutrofil dengan granulasi densitas rendah (*lowdensity granulocytes/ LDGs*) telah diidentifikasi pada PBMC pasien LES sebagai salah satu sel yang berperan pada pathogenesis LES. LDGs mempunyai kapasitas yang besar untuk mensintesa *neutrophil extracellular traps* (NETs). Melalui NETosis, LDG mempunyai kemampuan yang lebih besar untuk merusak sel endotel. Penelitian sebelumnya mendapatkan bahwa pasien LES di Malang mempunyai kadar vitamin D yang rendah. Kaitan rendahnya kadar vitamin D dengan fungsi neutrofil pada pasien LES sampai saat ini masih belum pernah diteliti, khususnya dalam regulasi dan pembentukan NETs. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh vitamin D terhadap kerusakan endotel yang dicetuskan oleh pembentukan NETs oleh LDG pada pasien LES.

Metoda. Diteliti 28 pasien LES dan 15 kontrol sehat yang sebanding yang diperoleh Poli Penyakit Dalam RSSA Malang. Seluruh subyek diperiksa manifestasi klinis yang berkaitan dengan kerusakan endotel, kadar vitamin D, jumlah LDG dan aktifitas NETs. Hasil pengamatan dianalisis menggunakan uji perbandingan rerata dan korelasi dengan bantuan program SPSS 17.0. Signifikansi statistik ditetapkan jika nilai $p < 0,05$.

Hasil. Terdapat perbedaan kadar vitamin D antara pasien LES dan kontrol sehat ($23,17 \pm 7,42$ vs $32,11 \pm 14,44$; $p: 0,019$). Jumlah LDG dan NETs nyata lebih tinggi pada pasien LES dibandingkan kontrol sehat. Pasien LES dengan kadar vitamin D < 20 ng/ml cenderung menunjukkan skor kerusakan endotel, jumlah LDG dan aktifitas NET lebih tinggi dibandingkan pasien LES dengan kadar vitamin D > 20 ng/ml dan kontrol sehat. Vitamin D berhubungan terbalik dengan kerusakan endotel, jumlah LDG dan aktifitas NETs ($r: -0,232$ sampai $-0,662$).

Kesimpulan. Vitamin D berperan dalam kerusakan endotel melalui peningkatan jumlah LDG dan NETs

Kata kunci: LES, LDGs, NET, Vitamin D, Kerusakan endotel.

ABSTRACT

Background. Neutrophils with low density granulation (lowdensity granulocytes / LDGs) has been identified in PBMCs of LES patients as one of the cells that play a role in the pathogenesis of LES. LDGs has a great capacity to synthesize extracellular neutrophil traps (NETS). Through NETosis, LDG has a greater ability to damage endothelial cells. Previous studies found that LES patients in Malang have low vitamin D levels. Linked low vitamin D levels in LES patients with neutrophil function is still not yet been studied, particularly in the regulation and formation of the Nets. The purpose of this study was to analyze the effect of vitamin D against endothelial damage triggered by the formation of the Nets by LDG in LES patients.

Method. Studied 28 LES patients and 15 healthy controls were comparable to that obtained by Poly Medicine RSSA Malang. All subjects examined the clinical manifestations associated with endothelial damage, vitamin D levels, the amount of LDG and activity of Nets. Results were analyzed using mean comparison test and correlation with SPSS 17.0. Statistical significance was determined if $p < 0.05$.

Results. There are differences in vitamin D levels between LES patients and healthy controls (23.17 ± 7.42 vs. 32.11 ± 14.44 , $p: 0.019$). Number of LDG and Nets significantly higher in LES patients compared to healthy controls. LES patients with vitamin D levels < 20 ng / ml endothelial damage tends to indicate a score, number of LDG and NET activity higher than LES patients with vitamin D levels > 20 ng/ml and healthy controls. Vitamin D is inversely related to endothelial damage, the amount of LDG and activity of Nets ($r: -0.232$ to -0.662).

Conclusion. Vitamin D plays a role in endothelial damage through an increase in the number of LDG and Nets.

Keywords: LES, LDGs, NET, Vitamin D, endothelial damage.

RINGKASAN

Lupus Eritematosus Sistemik (LES) merupakan suatu penyakit autoimun sistemik yang akhir-akhir ini semakin sering dijumpai di Indonesia dengan harapan hidup yang masih rendah, yakni 70% untuk 5 tahun dan 55% untuk 10 tahun. Patogenesis penyakit ini masih belum diketahui dengan jelas, namun telah dilaporkan adanya interaksi genetik dan lingkungan yang mengakibatkan adanya kelainan dari sistem imun yang berupa hiperaktivitas sel-sel imun yang mengakibatkan terjadinya inflamasi dan kerusakan jaringan. Neutrofil dengan granulasi densitas rendah (*lowdensity granulocytes/ LDGs*) telah diidentifikasi pada PBMC pasien LES sebagai salah satu sel yang berperan pada pathogenesis LES. LDGs mempunyai kapasitas yang besar untuk mensintesa *neutrophil extracellular traps* (NETs). Melalui NETosis, LDG mempunyai kemampuan yang lebih besar untuk merusak sel endotel dan merangsang sekresi IFN α oleh sel dendritik. Penelitian kami sebelumnya menunjukkan pasien LES di Malang mempunyai kadar vitamin D yang rendah. Rendahnya kadar vitamin D pada pasien LES tersebut berkaitan dengan penurunan fungsi sel T regulator, peningkatan fungsi sel dendritik dan peningkatan sekresi autoantibodi. Hubungan antara vitamin D dengan fungsi neutrofil pada pasien LES sampai saat ini masih belum pernah diteliti, khususnya dalam regulasi dan pembentukan NETs. Tujuan penelitian ini adalah menganalisa pengaruh vitamin D terhadap kerusakan endotel yang dicetuskan oleh pembentukan NETs oleh LDGs pada pasien LES.

Penelitian tahun pertama ini menggunakan rancangan *analytic cross sectional* dengan melibatkan 28 pasien LES dan 15 kontrol sehat yang sebanding yang diperoleh Poli Penyakit Dalam RSSA Malang. Diagnosis LES ditegakkan oleh dokter ahli penyakit dalam konsultan reumatik dengan mengacu kriteria ACR 2012. Seluruh subyek yang diikuti dalam penelitian ini telah menandatangani informed consent. Semua sampel penelitian dilakukan anamnesis dan diperiksa manifestasi klinis yang berkaitan dengan kerusakan endotel secara klinis (ruam malar, ruam diskoid, vaskulitis dan keterlibatan ginjal) yang mengacu pada skor MEX-SLEDAI. Pengukuran kadar vitamin D menggunakan alat otomatis (Allegría) dengan metoda ELISA. Pengukuran jumlah LDG ditetapkan dengan penggunaan antibodi anti CD 10+ yang berlabel PE dan CD14 + berlabel FITC dan persentasenya dihitung dengan flowcitometry. Pembentukan (pengukuran aktivitas) NETs dilakukan dengan metoda ELISA. Hasil pengamatan dianalisis menggunakan perbandingan rerata dan korelasi dengan menggunakan bantuan program SPSS 17.0 dengan signifikansi statistik ditetapkan jika nilai $p < 0,05$.

Karakteristik pada seluruh sampel yang diteliti menunjukkan bahwa rerata umur pasien LES adalah $31,39 \pm 11,44$ tahun dengan rerata lama sakit $24,4 \pm 8,6$ bulan. Berdasarkan hasil pemeriksaan fisik dan laboratoris ditunjukkan bahwa rerata skor SLEDAI adalah $12,4 \pm 4,4$. Adapaun rerata usia kontrol sehat adalah $33,07 \pm 11,71$ tahun. Tidak didapatkan perbedaan usia dan jenis kelamin antara pasien LES dan kontrol sehat. Manifestasi klinis pasien LES yang terbanyak berturut-turut adalah artritis (79 %), nefritis (58%) dan ruam malar (54%). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jika dibandingkan antara pasien LES dan kontrol sehat didapatkan rerata kadar vitamin D pada pasien LES nyata lebih

rendah daripada kontrol sehat ($23,17 \pm 7,42$ vs $33,07 \pm 11,71$ ng/ml ; p: 0,019). Rerata jumlah LDG dan NETs pada pada pasien LES lebih tinggi secara bermakna dari pada kontrol sehat ($p < 0,05$). Pada 28 pasien LES ditunjukkan bahwa 9 pasien mempunyai kadar vitamin D < 20 ng/ml (rerata $16,92 \pm 2,07$ ng/ml) dan 19 pasien mempunyai kadar vitamin D > 20 ng/ml (rerata $26,13 \pm 7,20$ ng/ml). Sedangkan rerata kadar vitamin D pada kontrol sehat adalah $32,11 \pm 14,44$ ng/ml. Skor manifestasi klinis berkaitan dengan kerusakan endotel pada pasien LES dengan kadar vitamin D < 20 ng/ml cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok LES dengan kadar vitamin D > 20 ng/ml dan kontrol sehat. Jumlah (persentase) LDG dan aktivitas NETs juga cenderung lebih tinggi pada kelompok pasien LES dengan kadar vitamin D < 20 ng/ml dibandingkan ke dua kelompok tersebut. Selanjutnya didapatkan bahwa terdapat hubungan terbalik antara rendahnya kadar vitamin D dengan peningkatan jumlah LDG, aktivitas NETs dan skor kerusakan endotel.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kadar vitamin D pasien LES lebih rendah dari pada kontrol sehat. Pasien LES dengan kadar vitamin D < 20 ng/ml menunjukkan manifestasi kerusakan endotel, jumlah LDG dan aktivitas NETs yang lebih tinggi dibandingkan dengan pasien LES dengan kadar vitamin D > 20 ng/ml dan kontrol sehat. Terdapat hubungan rendahnya kadar vitamin D dengan peningkatan skor manifestasi klinis kerusakan endotel, jumlah LDG dan aktivitas NETs ($r : -0,232$ sampai $-0,662$) . Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian vitamin D terhadap perbaikan fungsi LDG dan aktivitas NETs.

SUMMARY

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is a systemic autoimmune disease that recently more often found in Indonesia with lower life expectancy, 70 % for 5 years and 55 % for 10 years . The pathogenesis of the disease remains unclear , however, have been reported that the existence of genetic and environmental interactions lead to abnormalities of the immune system in the form of hyperactivity of immune cells resulting in inflammation and tissue damage . Neutrophils with low density granulation (low density granulocytes / LDGs) has been identified in PBMCs of SLE patients as one of the cells that play a role in the pathogenesis of SLE . LDGs has a great capacity to synthesize extracellular neutrophil traps (NETS). Through NETosis , LDG has a greater ability to damage endothelial cells and stimulates IFN α secretion by dendritic cells . Our previous studies showed that patients with SLE in Malang have low vitamin D levels . Low levels of vitamin D in these patients were associated with decrease in the function of regulatory T cells, improving the function of dendritic cells and increased secretion of autoantibodies . The relationship between vitamin D with neutrophil function in patients with SLE is still not yet been studied , particularly in the regulation and formation of the NETs . The aimed of this study was to analyze the effect of vitamin D in the endothelial cells damage triggered by the formation of the NETs by LDGs of SLE patients .

The first year of this study, we used cross sectional analytic design involving 28 SLE patients and 15 healthy controls, recruited from Rheumatology Department, Internal Medicine Saiful Anwar Hospital. The diagnosis of SLE is made by Rheumatologist according to the ACR 2012 criteria. All subjects were included in this study had signed the informed consent. All samples were examined of clinical manifestations associated with endothelial cells damage (malar rash, discoid rash, vasculitis and renal involvement), according MEX-SLEDAI score. Measurement of vitamin D levels was done by automatic ELISA method (Allegria). Assesment the amount of LDG using PE labelled anti-CD10 antibody dan FITC labelled anti CD14 antibody and the percentage was caunted by flowcitometry. Formation (activity measurements) of NETs was measured by ELISA method. Results were analyzed according mean comparisons and correlations using SPSS 17.0 and statistical significance determined if the p value <0.05.

The characteristics of the sample studied showed that the mean age of the SLE patients was 31.39 ± 11.44 years with the duration of illness 24.4 ± 8.6 months. Based on physical examination and laboratory results indicated that the mean of SLEDAI score was 12.4 ± 4.4 . The mean of healthy controls age was 33.07 ± 11.71 years. There were no differences in age and sex between SLE patients and healthy controls. Clinical manifestations in the most patients SLE respectively were arthritis (79 %) , nephritis (58 %) and malar rash (54 %) . The results of this study showed that mean levels of vitamin D in patients with SLE markedly lower than healthy controls (23.17 ± 7.42 vs. 33.07 ± 11.71 ng/ml , p : 0.019) . The mean number of LDG and NETs on the SLE in patients was significantly higher than in healthy kontrol (p < 0.05) . In 28 SLE patients indicated that 9 patients had vitamin D levels < 20 ng / ml (mean 16.92 ± 2.07 ng

/ ml) and 19 patients had vitamin D levels > 20 ng / ml (mean 26.13 ± 7.20 ng / ml) . While mean levels of vitamin D in healthy controls was 32.11 ± 14.44 ng / ml . Scores of clinical manifestations associated with endothelial damage in SLE patients with vitamin D levels < 20 ng/ml tend to be higher than the SLE patients with vitamin D levels > 20 ng/ml and healthy controls . The number/percentage of LDG and activity of NETs also tended to be higher in the group of SLE patients with vitamin D levels < 20 ng/ml compared to the two groups . Furthermore, it was found that there was a negative correlation between low vitamin D levels with an increased percentage of LDG, NETs activity and endothelial damage score .

Based on these results it can be concluded that vitamin D levels in SLE patient lower than in healthy controls. SLE patients with vitamin D levels < 20 ng/ml showed clinical manifestations of endothelial damage, the percentage of LDG and activity of NETs higher than the SLE patients with vitamin D levels > 20 ng / ml and healthy controls. The low levels of vitamin D correlated with increased of clinical manifestations of endothelial damage score, the percentage of LDG and activity of NETs (r : -0.232 to -0.662). Further research is needed to evaluate the potential of vitamin D on the repairing function of LGD and NETs.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams JS and Hewison M, 2008. *Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity*. Nat Clin Pract Endocrinol Metab. 4(2):80-90.
- Al-Mayouf, S.M., A. Sunker, R. Abdwani, S.A. Arawi, F. Almurshedi, N.Alhashmi, A. Al Sonbul, W. Sewairi, A. Qari, E. Abdallah, et al. 2011. Loss -of -function variant in DNASE1L3 causes a familial form of systemic lupus erythematosus. Nat.Genet. 43:1186–1188. <http://dx.doi.org/10.1038/ng.975>.
- Anolik JH, 2007. *B cell biology and dysfunction in SLE*. Bulletin of the NYU hospital for joint diseases ;65(3):182-6.
- Averhoff, P., M. Kolbe, A. Zychlinsky, and Y. Weinrauch. 2008. Single residue determines the specificity of neutrophil elastase for Shigella virulence factors. J. Mol. Biol. 377:1053–1066. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2007.12.034> .
- Brinkmann, V., U. Reichard, C. Goosmann, B. Fauler, Y. Uhlemann, D. S. Weiss, Y. Weinrauch, and A. Zychlinsky. 2004. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. Science 303: 1532–1535.
- Cervera R, Gerard Espinosa, David D’Cruz. 2009.Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenesis, Clinic Al Manifestations And Diagnosis. Euler On- line Course on Rheumatic Diseases – module 17.
- Crispín J C *et al.* 2010. Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: recent advances. Trends Mol Med. 2010 February ; 16(2): 47–57. doi:10.1016/j.molmed.2009.12.005.
- European Assosiation of Oral Medicine.*Oral Lupus Erythematosus*.School of Dental Medicine University of Zagreb. 2005.
- Fuchs, T. A., U. Abed, C. Goosmann, R. Hurwitz, I. Schulze, V. Wahn,Y. Weinrauch, V. Brinkmann, and A. Zychlinsky. 2007. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. J. Cell Biol. 176: 231–241.

- Ghoreishi M, Bach P, Obst J, Komba M, Fleet JC, 18. Dutz JP. 2009. Expansion of antigen-specific regulatory T cells with the topical vitamin D analog calcipotriol. *J Immunol* 2009; 15: 6071-8.
- Ginanjar E, Sumariyono, Setiati S, Setiyohadi B, 2007. *Vitamin D and Autoimmune Disease*. *Acta Med Indones-Indones J Intern Med* 39 (3).
- Guimarães - Costa, A.B., M.T.C. Nascimento, G.S. Froment, R.P.P. Soares, F.N. Morgado, F. Conceição-Silva, and E.M. Saraiva. 2009. *Leishmania amazonensis* promastigotes induce and are killed by neutrophil extracellular traps. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA.* 106:6748–6753. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0900226106>
- Guimarães - Costa, A.B., M.T.C. Nascimento, G.S. Froment, R.P.P. Soares, Garcia-Romo, G.S., S. Caielli, B. Vega, J. Connolly, F. Allantaz, Z. Xu, M.Punaro, J. Baisch, C. Guiducci, R.L. Coffman, et al. 2011. Netting neutrophils are major inducers of type I IFN production in pediatric systemic lupus erythematosus. *Sci.Transl.Med.* 3:73ra20. <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3001201>.
- Hakim, A., B. G. Fuhrnrohr, K. Amann, B. Laube, U. A. Abed, V. Brinkmann, M. Herrmann, R. E. Voll, and A. Zychlinsky. 2010. Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 9813–9818.
- Handono K, 2000. *HLA kelas II dan kerentanan genetik terhadap Lupus Eritematosus Sistemik di Indonesia*. *Acta Med Ind* XXXII, 11-15.
- Handono K. 2011. Hubungan Kadar Vitamin D dengan Keseimbangan TGF-Beta1/IL-6 dan Keseimbangan Treg/Th17 pada Pasien Lupus Eritematosus Sistemik. *Acta Med Ind* , 12-16.
- Hertting Olof *et al.* 2010. Vitamin D Induction of the Human Antimicrobial Peptide Cathelicidin in the Urinary Bladder. *PLoS ONE* 5(12): e15580. doi:10.1371/journal.pone.0015580
- Hewison, M., Freeman, L., Hughes, S. V., Evans, K. N., Bland, R., Eliopoulos, A. G., Kilby, M. D., Moss, P. A., and Chakraverty, R.(2003) Differential regulation of vitamin D receptor and its ligand in human monocyte-derived dendritic cells. *J. Immunol.*170, 5382–5390.

- Hirsch Daniel, Faith E. Archer, Meera Joshi-Kale, Anna M. Vetrano, and Barry Weinberger. 2011. Decreased Anti-Inflammatory Responses to Vitamin D in Neonatal Neutrophils. Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation Volume 2011, Article ID 598345, 7 pages doi:10.1155/2011/598345.
- Jianxin J, Kwan CHB, Cheuk CS. Update on the role T cell subset in the pathogenesis of systemic Lupus Erythematosus. The Chinese university Hongkong, Statin, Hongkong China, 2009 ;4(&):400-409.
- Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, et al, 2006. *Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus*. *Autoimmune Rev*, 5; 114-7.
- Kumar V, Abul KA, Nelson F. *Pathologic Basis of Disease*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2005.
- Lande, R., D. Ganguly, V. Facchinetti, L. Frasca, C. Conrad, J. Gregorio, S. Meller, G. Chamilos, R. Sebasigari, V. Ricciari, et al. 2011. Neutrophils activate plasmacytoid dendritic cells by releasing self-DNA-peptide complexes in systemic lupus erythematosus. *Sci. Transl. Med.* 3:73ra19. <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3001180>.
- Leffler, J., M. Martin, B. Gullstrand, H. Tydén, C. Lood, L. Truedsson, A.A. Bengtsson, and A.M. Blom. 2012. Neutrophil extracellular traps that are not degraded in systemic lupus erythematosus activate complement exacerbating the disease. *J. Immunol.* 188:3522–3531. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1102404>.
- Mak CC and Lau CS, 2003. *Pathogenesis of systemic lupus erythematosus*. *J Clin Pathol*, 56:481-490.
- Marco EC, Morales MM, Vila M, et al, 2010. *Serum 25-hydroxyvitamin D levels in patients with cutaneous lupus erythematosus in a mediterranean region*. *Lupus* (2010).
- Marshall Trevor G. 2008. Vitamin D discovery outpaces FDA decision-making. School of Biological Sciences and Biotechnology, Murdoch University, Western Australia DOI 10.1002/bies.20708.
- Mok C C dan C S Lau. 2003. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol* 2003;56:481-490 doi:10.1136/jcp.56.7.481.

- Mora J. Rodrigo, Makoto Iwata, and Ulrich H. von Andrian. 2010. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol*. September ; 8(9): 685–698. doi:10.1038/nri2378.
- Papayannopoulos, V., K. D. Metzler, A. Hakkim, and A. Zychlinsky. 2010. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps. *J. Cell Biol.* 191: 677–691.
- Schleithoff Stefanie S, Armin Zittermann, Gero Tenderich, Heiner K Berthold, Peter Stehle, and Reiner Koerfer. 2006. Vitamin D supplementation improves cytokine profiles in patients with congestive heart failure: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2006;83:754–9.
- Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 365:2110-2121, 2011.
- Urban, C.F., D. Ermert, M. Schmid, U. Abu-Abed, C. Goosmann, W. Nacken, V. Brinkmann, P.R. Jungblut, and A. Zychlinsky. 2009. Neutrophil extracellular traps contain calprotectin, a cytosolic protein complex involved in host defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathog.* 5:e1000639. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1000639>.
- Villanueva, E., S. Yalavarthi, C.C. Berthier, J.B. Hodgins, R. Khandpur, A.M. Lin, C.J. Rubin, W. Zhao, S.H. Olsen, M. Klinker, et al. 2011. Netting neutrophils induce endothelial damage, infiltrate tissues, and expose immunostimulatory molecules in systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* 187: 538–552. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1100450>.
- Weinrauch, Y., D. Drujan, S.D. Shapiro, J. Weiss, and A. Zychlinsky. 2002. Neutrophil elastase targets virulence factors of enterobacteria. *Nature* .417:91–94. <http://dx.doi.org/10.1038/417091a>.
- Yasutomo, K., T. Horiuchi, S. Kagami, H. Tsukamoto, C. Hashimura, M. Urushihara, and Y. Kuroda. 2001. Mutation of DNASE1 in people with systemic lupus erythematosus. *Nat. Genet.* 28:313–314. <http://dx.doi.org/10.1038/91070>.
- Yuriawantini dan Suryana K. 2007. Aspek imunologi SLE. *J Peny Dalam.*;8:232-9.