ANTİ-ENDOTELİYAL HÜCRE ANTİKORU İLE GRANÜLOSİT SİTOPLAZMASINA KARŞI OLUŞMUŞ OTOANTİKOR İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Sultan ALTAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HAZİRAN 2008
ANKARA

Sultan ALTAY tarafından hazırlanan ANTİ-ENDOTELİYAL HÜCRE ANTİKORU İLE GRANÜLOSİT SİTOPLAZMASINA KARŞI OLUŞMUŞ OTOANTİKOR İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Yrd. Doç. Dr. Barboros BALABANLI …….
Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı
Doç. Dr. Bilkay BAŞTÜRK …….
Ortak Tez Danışmanı, İmmünoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Şeminur HAZNEDAROĞLU ...…….
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, G.Ü.
Yrd. Doç. Dr. Barboros BALABANLI ...….…….
Biyoloji Anabilim Dalı, G.Ü.
Doç. Dr. Bilkay BAŞTÜRK …….
İmmünoloji Anabilim Dalı, G.Ü.
Prof. Dr. Nedim SULTAN …….....……
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, G.Ü.
Doç. Dr. Nihal YÜCEL ...…….
Biyoloji Anabilim Dalı, G.Ü.

Tarih: 09 /06/2008

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Nermin ERTAN …….
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Sultan ALTAY

ANTİ-ENDOTELİYAL HÜCRE ANTİKORU İLE GRANÜLOSİT SİTOPLAZMASINA KARŞI OLUŞMUŞ OTOANTİKOR İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Sultan ALTAY

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Haziran 2008

ÖZET

Vaskülitler, damar duvarının inflamasyonu sonucu gelişen hastalıklardır. Bazı protein yapılara karşı oluşan IgG yapısındaki otoantikorların etkisi ile ortaya çıkan Anti-nötrofil sitoplazmik antikor (ANCA) varlığı karakteristik özelliğidir. Anti-endoteliyal hücre antikoru (AEHA) varlığının vaskülit kökenli hastalıklarda inflamatuar süreci hızlandırdığı ve intimal hasara yol açtığını gösteren çalışmalar yapılmıştır. Anti-endoteliyal hücre antikoru varlığının ANCA pozitifliğinden önce saptanabilir olması, inflamasyonun hasar oluşturmadan önce engellenmesine yardımcı olabilir. Bu çalışmada, vaskülit tanısı almış hastalarda ANCA pozitifliği ile AEHA varlığı ilişkisinin araştırılması amaçlanmaktadır

Yapılan çalışmaya Wegener granülomatozu tanısı almış 2 hasta, Behçet Hastalığı tanısı almış 16 hasta ve sınıflandırılmamış vaskülit tanısı ile izlenen 82 hasta ile kontrol grubu olarak 100 sağlıklı gönüllü katıldı. Alınan kanlardan ayrılan serum örneklerinde, İndirekt İmmünfloresan Yöntemi (IFA) ile ANCA ile AEHA varlığı araştırıldı.

Çalışma sonuçlarına göre hasta grubu ile kontrol grubu arasında, AEHA varlığı, ANCA varlığı ve AEHA ile ANCA'nın birlikte varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gösterildi.

Bu sonuçlara dayanarak; AEHA varlığının ve ANCA varlığının tek başlarına hastalık için bir risk faktörü olabileceği, bu iki antikorun birlikteliğinin çok nadir olduğu ancak birlikte bulunduklarında da hastalık oluşma riskini çok daha fazla arttırdıkları gözlenmiştir. AEHA varlığının saptanmış olması damar yapısını ilgilendiren birçok hastalık için prediktif değer taşıyabilir.

Bilim Kodu : 203.1.020
Anahtar Kelimeler : Endotel, antikor, granülosit
Sayfa Adedi : 56
Tez Yöneticileri : Yrd. Doç. Barboros BALABANLI (Tez Danışmanı)
Doç. Dr. Bilkay BAŞTÜRK (Ortak Tez Danışmanı)

INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN ANTI-ENDOTHELIAL CELL ANTIBODY WITH AUTOANTIBODIES AGAINST GRANULOCYTE CYTOPLASM

(M.Sc. Theis)

Sultan ALTAY

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUE OF SCIENCE AND TECNOLOGY

June 2008

ABSTRACT

Vasculitides develope in consequence of vessel inflammation. One of their charecteristics is the presence of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) which occur via the effect of some IgG autoantibodies against some protein molecules. It has previously been shown that anti-endotheliyal cell antibodies (AECA) accelerate the inflammatory process and stimulate the destruction of intimal layer of vessel walls. Early determination of AECA before ANCA could help to inhibit inflammation before the onset of destruction. In this study it is aimed to determine the ANCA positivity in patients with vasculitis and its coincidence with AEHA.

Sera from subjcets (2 with Wegener Granulomatosis, 16 with Behçet Disease, 82 unclassified vasculitis and 100 healthy volunteers) were studied for AECA and ANCA positivity using immunofluorescence assay (IFA).

AECA positivity, ANCA positivity and their coincidence were significantly different between patients with vasculitis and healthy volunteers.

According to the results of this study; AECA or ANCA positivity alone may generate a risk factor for vasculitis. Although the coincidence of both antibodies is very rare, it may increase the risk further. Additionally, the determination of AECA may provide a predictive value for several diseases concerning the vessel walls.

Science Code : 203.1.020
Key Words : Endothel, granulocyte, antibody
Page Number : 56
Adviser : Assist. Prof. Dr. Barboros BALABANLI
Associated Prof. Bilkay BAŞTÜRK

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren ve desteklerini esirgemeyen hocalarım Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Bilkay Baştürk'e ve Gazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd Doç. Dr. Barboros Balabanlı'ya; ayrıca Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof Dr. Cemalettin Aybay'a, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı İmmünoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Barboros Oral'a, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Erdal Aslım'a, çalışmalarımın başından sonuna yardımlarını esirgemeyen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. L. Arzu Aral'a ve katkısı bulunan herkese teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET ……. iv

ABSTRACT …….. vi

TEŞEKKÜR ……..... viii

İÇİNDEKİLER ……..... ix

ÇİZELGELERİN LİSTESİ ……..... xi

ŞEKİLLERİN LİSTESİ …… xii

RESİMLERİN LİSTESİ …….. xiii

SİMGELER VE KISALTMALAR ……. xiv

1. GİRİŞ ……..... 1

2. GENEL BİLGİLER ……..... 8

2.1. İmmün Sistem …….. 8

2.2. Antikorlar ……..... 9

2.2.1. İmmünoglobulinlerin yapısı …….. 11

2.3. Otoimmün Hastalıklarda İmmünopatolojik Mekanizmalar ……... 12

2.4. Vaskülit …….. 14

2.5. Endotel Hücresi …….. 19

2.6. Nötrofil ve Monositler ……... 22

2.7. ANCA ve AEHA ……... 25

3. MATERYAL-METOT ……. 29

3.1. Deney Protokolü …… 29

3.2. İndirekt İmmünfloresan Yöntemi …….. 30

3.3. İstatistiksel Değerlendirme …… 30

Sayfa

4. BULGULAR ……. 31

4.1. ANCA Pozitifliği ……... 31

4.2. AEHA Pozitifliği ……... 31

4.3. ANCA ve AEHA Pozitifliği……... 31

5. SONUÇ …… 43

KAYNAKLAR ……..... 47

ÖZGEÇMİŞ …….. 56

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. Nötrofil granüllerinin içeriği 25

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubunda ANCA pozitifliği 32

Çizelge 4.2. Hasta ve kontrol grubunda AEHA pozitifliği 32

Çizelge4.3. Hasta grubunda AEHA pozitifliği düzeyleri 33

Çizelge 4.4. Kontrol grubunda AEHA pozitifliği düzeyleri 33

Çizelge 4.5. Hasta ve kontrol grubunda ANCA ile birlikte AEHA pozitifliği 33

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.1. Çalışmaya katılan hastaların vaskülit tanılarına göre dağılımı ……..... 32

Şekil 4.2. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda AEHA pozitifliği düzeyleri ……..... 34

Şekil 4.3. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda ANCA, AEHAve herikisinin birlikte pozitiflik yüzdeleri,……..... 34

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 2.1. Sinir dokuda çok sayıda nöronlar arasında yassı endote hücreleri ile döşeli kapiller oluşumlar görülmekte……..... 20

Resim 2.2. Karaciğer parankim hücreleri hepatositlerin etrafında ışınsal tarzda düzenlenim gösterdiği *Vena centralis*'i çevreleyen ince, yassı çekirdek yapıları ile endotel hücreleri 21

Resim 4.1. Çalışmamızda immünfloresan mikroskopla saptanmış, ethanol fikse granülositlerde cANCA pozitifliği görüntüsü 35

Resim 4.2. Çalışmamızda immünfloresan mikroskopla saptanmış, formalin fikse granülositlerde cANCA pozitifliği görüntüsü 36

Resim 4.3. Çalışmamızda immünfloresan mikroskopla saptanmış, ethanol fikse granülositlerde pANCApozitifliği görüntüsü 37

Resim 4.4. Çalışmamızda immünfloresan mikroskopla saptanmış, formalin fikse granülositlerde pANCApozitifliği görüntüsü 38

Resim 4.5. Çalışmamızda karaciğer kesitinde immünfloresan mikroskopla saptanmış, ANCA pozitifliğnde sinüzoidal boşluklarda granülositlerin görüntüsü 39

Resim 4.6. Çalışmamızda HUVEC hücrelerinde immünfloresan mikroskopla saptanmış, AEHA pozitifliği görüntüsü 40

Resim 4.7. Çalışmamızda HUVEC hücrelerinde immünfloresan mikroskopla saptanmış, AEHA pozitifliği görüntüsü 41

Resim 4.8. Çalışmamızda Primat düz kas hücrelerinde immünfloresan mikroskopla saptanmış, AEHA pozitifliği görüntüsü 42

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
kDa	Kilodalton
mm³	Milimetreküp
nm	Nanometre
κ	Kappa
α	Alfa
β	Beta
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
χ	Ki

Kısaltmalar	Açıklamalar
AEHA	Anti-endoteliyal hücre antikoru
ANCA	Anti-nötrofil sitoplazmik hücre antikoru
BPI	Bakteriyel permeabilite artırıcı protein
CAM	Hücre adezyon molekülleri
cANCA	Sitoplazmik ANCA
HLA	İnsan lökosit antijeni
HUVEC	İnsan göbek kordonu ven endotel hücresi
ICAM-1	İnterselüler adezyon molekülü-1
IFA	İndirekt immünofloresan yöntemi
IK	İmmün kompleks
IL	İnterlökin

Kısaltmalar	Açıklamalar
Ig	İmmünoglobulin
MPA	Mikroskobik polianjitis
MPO	Myeloperoksidaz
PAF	Trombosit uyaran faktör
PAN	Poliarteritis nodosa
pANCA	Perinükleer ANCA
pI	İzoelektrik noktası
PR3	Proteinaz 3
RA	Romatoid artrit
SLE	Sistemik lupus eritamatozus
OR	Odds ratio
Th	Yardımcı T hücreleri
TNF- α	Tümör nekroz faktör- α
Ts	Baskılayıcı T hücreleri
VCAM-1	Vasküler hücre adezyon molekülü-
WG	Wegener granülomatozu

1. GİRİŞ

Organizmanın yabancı olarak tanıyarak antikor ürettiği antijenik yapılara karşı savunmayı sağlayan hücreler, dokular ve moleküllerin bütünü, immün sistem olarak tanımlanır. Fizyolojik işlevi, enfeksiyonları engellemek ve yerleşmiş enfeksiyonları yok etmek olan immün sistemin, hatalı ve az çalışmasının yanı sıra aşırı çalışması da organizma için patolojik durumlara neden olmaktadır [1].

Vücudun kendi elemanlarına karşı bağışık yanıtın ortaya çıktığı, yani otoleransın (ototolerans, self tolerans, kendinden olana karşı toleransın) sona ermesi ile gelişen immün bir yanıt olan otoimmünitede; T ve B hücreleri kendi antijenlerine karşı otoreaktif hale geçer. Otoleransın devamını sağlayan hücresel ve salgısal (hümoral) immün sistemlerin işleyiş düzeni ve dengesinin değişmesi sonucu vücudun kendi antijenlerini (otoantijen) yabancı antijen gibi algılayarak buna karşı antikorlar (otoantikor) ve duyarlanmış hücreler meydana gelir. Eğer otoimmün yanıt ile birlikte doku ve organlarda histopatolojik değişiklikler gelişirse bu hastalıklar da otoimmün hastalıklar adının alır [2].

Antikorlar, bağışıklık yanıt sonucunda, oluşmalarında rol oynayan antijenlerle özgül olarak birleşip, tepkimelere yol açabilen immünoglobulinlerdir (Ig). Antikorlar bir erişkinin serumundaki protein miktarının %25 ini oluştururlar [3].

Anti-endoteliyal hücre antikoru (AEHA) endotel hücreleri hedef alan otoantikorlardır ve AEHA'lar endotel hücre membranındaki antijenlere karşı oluşurlar. AEHA'lar yaygın şekilde otoimmün ve inflamatuar koşullarda tanımlanmaktadırlar. Bu hastalıkların gelişiminde ve patojenitesinde rolleri bulunmaktadır. AEHA hedef antijenleri çok geniş bir grup olan hücre dışı matriks proteini ve molekülleri içermektedirler [5, 6]. Örneğin; yapılan bazı çalışmalarda Behçet hastalığında IgM AEHA'nın hedef antijeni α-enolaz olarak belirlenmişken [6], sistemik sklerozda ise IgG AEHA'nın hedef antijenleri arasında topoisomeraz I ve sentromer protein B (CENP-B)'nin yer aldığı gösterilmiştir [7, 8].

Anti-nötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA) son yıllarda tanımlanmış bir grup otoantikordur [9]. ANCA'lar monositlerin lizozomları ve nötrofillerin primer granüllerinde bulunan sitoplazmik antijenlere karşı oluşan antikorlardır [10].

İlk kez Davis ve arkadaşları 1982 de pauciimmün nekrozitan glomerülonefritli 8 hastada ANCA varlığını göstermişlerdir. Hail ve arkadaşları 1984 de sistemik vaskülitli 4 hastada ANCA pozitifliği bildirmişler ve bunların 3'ünde nekrozitan glomerülonefrit tespit etmişlerdir [11].

ANCA'lar indirek immünfloresan yöntemi ile görünüşlerine göre sitoplazmik ANCA (cANCA) ve perinükleer ANCA (pANCA) olmak üzere ikiye ayrılırlar. cANCA'nın hedef antijenleri proteinaz 3 (PR3), bakteriyel permeabilite arttırıcı protein (BPI); pANCA'nın hedef antijenleri myeloperoksidaz (MPO), elastaz, lactoferrin ve cathepsin G ve BPI' dır [10, 11].

Vaskülit, damar duvarında inflamasyon, nekroz ve bazı koşullarda granülom oluşumu ile karakterli, damar endotel yapısı ve damar duvarının bozukluğu ile giden bir patolojidir. Damar yapısının bozulduğu damarlarda tıkanma, anevrizma, bazen rüptür oluşumuna yol açarak distaldeki dokuların iskemisi ile sonuçlanan klinik-patolojik tablo ortaya çıkar. Vaskülit damar duvarının kas tabakasının bir kısmını tutarak, anevrizma oluşumu ve rüptür riski fazla olan lezyonlarla karşımıza çıkabilir. Vaskülit gelişen damarların duvarında segmental lezyonlar da gelişebilir [12-15].

Vaskülitin gelişmesinde rol oynayan patojenik faktörler:

1. Eksojen ajanlar; Virüsler, enfeksiyon ajanları, ilaçlar, tümör hücreleri.

2. Patojenik immün kompleks (IK) oluşması.

3. Otoantikorlar; AEHA, ANCA, hücre aracılı immün reaktivite ve immünokompetan hücreler.

4. Genetik faktörler; insan lökosit antijeni (HLA), sitokin genleri, enzim sentezinde rol alan genler ve enzim inhibitörleri.

5. Koagülan-trombotik sistem tarafından damar duvarının zedelenmesi [4-10].

Vaskülitlerin patogenezinde damar endoteli hedef yapı olup esas rolü oynamaktadır [16-18].

Endotel hücrelerinde, damar tonusunun düzenlenmesini sağlayan bazı vazoaktif maddelerin salınımı, koagülasyon, lökosit migrasyonu gibi işlevler gerçekleşir. Bu anlamda vasküler homeostazın sağlanmasında temel rol oynayan en küçük endokrin organ olarak da tanımlanabilir [19].

Türlere bağlı olarak endotel hücresi de farklılık gösterir. Bunun yanısıra büyük ve küçük damarlarda ve farklı dokularda da farklılık gösterdiği farklı büyüklük, şekil ve nükleer oryantasyona sahip olduğu bilinmektedir [20-29].

Damar endotel hücreleri; IL (interlökin) 1, IL-6, IL-8, trombosit uyaran faktör (PAF), nitrik oksit ve endotelin gibi birtakım sitokinleri üreterek, sistemik bir vaskülit gelişmesinde direkt ve indirekt olarak anahtar rolü üstlenirler. Damar endotel hücrelerinin, koloni uyarıcı faktörler ve bir takım kemotaktik faktör üretimlerinde rolü olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra bazı adezyon moleküllerini de yüzeylerinde sunabilirler [16-18].

Yapılan in vitro çalışmalarda, otoantikorların vasküler inflamasyonu direkt ya da indirekt olarak uyarabildikleri gösterilmiştir [30, 31].

AEHA; Wegener granülomatozu (WG), Kawasaki hastalığı, Behçet hastalğı, Takayasu arteriti, mikroskobik polianjitis (MPA) gibi vaskülit formlarının bulunduğu inflamatuar hastalıklarda ve Sistemik lupus eritamatozus (SLE), Romatoid artrit (RA) gibi romatizmal hastalıklarda rapor edilmiştir. WG ve MPA'da yaygınlığı %55-80 arasında değişmektedir [32].

Sağlıklı insanlarda da AEHA varlığı tespit edilmiştir [33-35].

AEHA'nun hedefi olan antijenik yapılar endoteliyal hücrelerin dış yüzeylerinde yer alırlar ve böylece dolaşımda bulunan antikorlar tarafından kolaylıkla tanınabilirler [36].

AEHA-IgG'nin $F(ab)_2$ kısmı ile endotel hücrelerine bağlanır ve düşük afinite gösterir [37-42]. Antikorun bu özelliği immünokimyasal teknikle gösterilmiş olup aynı zamanda etkilenmiş damar duvarlarındaki hücrelerin içinde antikor depositleri bulunmadığı saptanmıştır [39]. AEHA, fibroblastlar gibi çeşitli hücre tipleri ile çapraz reaksiyon gösterebilir [38].

AEHA varlığının, kompleman aktivasyonuna veya antikora bağlı endoteliyal hücre sitotoksitesinde etkisi olduğu gösterilmiştir [43-45].

Bağlanmış AEHA endotel hücreye zarar verme potansiyeline sahiptir. Bunu komponentler ve sitotoksik hücrelerle (CD8**,** Natural killer hücreleri) yapmaktadır ve endotel hücre fonksiyonunda daha kesin değişiklikler yapmaktadır [37, 38].

AEHA titresi ile hastalığın aktivasyonu arasındaki ilişki, AEHA'nun damar duvar hasarında önemli ölçülerde etkili olduğu görüşünü desteklemektedir [39, 46].

AEHA NFκB (nükleer faktör κB) ekspresyonunu uyarmaktadır.

AEHA varlığı vasküler yapının zararını desteklemektedir. AEHA adezyon moleküllerinin; E-selektin, interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü-1'in (VCAM-1) sitokin ve kemokinlerden; IL-1, IL-6, IL-18 ve monosit kemotaktan protein-1'in (MCP-1) ekspresyonunu artırmaktadır [47, 48].

Selektinler damar duvarında yer alıp inflamatuar hücrelerin vasküler endotele erken dönemdeki yapışmalarından sorumludur. Daha sonra vasküler endotel üzerinde konuşlanan birtakım immünoglobulin süpergen aile bireyleri ile inflamatuar hücrelerin üzerindeki integrinler etkileşime girerek inflamatuar hücrenin vasküler endotele daha sıkı yapışmasına ve hücrenin damar dışına migrasyonuna yol açar. Uyarının hemen başında selektinler hücre yüzeyinde izlenebilmektedir. Daha sonra PAF, çeşitli sitokinler ve bakteriyel ürünlerin etkisi ile integrin ailesinin ortaya çıkması ile selektinler geri planda kalır ve bunlar kendilerine karşılık gelen ICAM ile birleşerek damar çeperine daha sıkı yapışmayı sağlarlar [49].

ANCA'ların WG, MPA, Churg Strauss Sendromu ve küçük damar vaskülitlerinde teşhiste büyük önemi vardır [11]. cANCA WG'na spesifiktir [50]. pANCA ise MPA, kronik poliartritis, klasik panarteritis nodosa, ülseratif kolit, idiopatik glomerulonefritis, Churg Strauss Sendromu, Crohn hastalığında pozitifleşir ancak spesifik değildir [51]. Behçet hastalığında cANCA pozitifliği saptanan vaka sunumları vardır [52]. Ayrıca RA ve SLE'li hastaların yarısında elastaz ve lactoferrine karşı oluşmuş ANCA'lar tespit edilmiştir [10].

ANCA pozitif bir kişide vasküler inflamasyon potansiyeli vardır. Ancak doku harabiyeti için bu yeterli değildir. Viral enfeksiyon gibi lokal ya da dolaşan sitokin düzeyini artıran nonspesifik bir olaya ihtiyaç vardır. Bu nonspesifik olayın sitokin düzeyini artırması adezyon molekülleri ile nötrofillerin endotele adezyonunu sağlar ve sonuç olarak antijenler yüzeye hareket eder. Kemokinlerin de etkisi ile ANCA'nın ortama yönelmesi ve ANCA ile spesifik antijeni arasında ilişki sonucu oksijen metabolitleri üretimi, degranülasyon ve bunların sonucunda endotel hasarı oluşur. Degranülasyon nötrofil aktivasyonunun bir göstergesidir [11, 53].

ANCA ilişkili vaskülitte; in vitro deneylerde TNF-α nın (Tümör nekroz faktör- α) patolojik rolü ile ilgili yapılmış bir çok çalışma bulunmaktadır. ANCA tarafından indüklenen nötrofil aktivasyonu TNF-α etkisi ile artmakta ve oksijen radikallerin salınması ve toksik granüllerin artışına neden olmaktadır [54-58]. HUVEC'te (İnsan göbek kordonu ven endotel hücresi) TNF-α ile inkübe edildiğinde nötrofillerin

yüzeyinde MPO ve PR3 varlığı artmaktadır [55-57, 59, 60]. Böylece ANCA'nın antijenlere ve endotelyuma bağlanmasını sağlamaktadır [61].

pANCA ve cANCA endotel hücre zararında fonksiyonel ve patolojik farklılıklar göstermektedirler [62]. Bu farklılıkların mekanizması bilinmemektedir. ANCA hedef antijeninin (MPO ve PR3) hem fiziksel hem de yapısal karekterlerinin vurgulanması önemlidir. MPO yüksek katyonik yapı gösteren 140 kDa homodimer izoelektrik noktası (pI) 1O,2, PR3 30 kDa protein pI'sı 7,7'dir [63]. Salınan MPO ve PR3 endotel hücre yüzeyine bağlanmakta ve farklı etkiler göstermektedir. PR3'ün endotel hücre tarafından tutulması apoptoza neden olurken, MPO serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır [64].

Sıklıkla programlı hücre ölümüne eşdeğer olarak kabul edilen apoptoz, çok hücreli organizmaların genetik şifrelerinde bulunan "hücre intiharı" programlarını gelişimsel ve/veya çevresel uyarımlarla etkinleşmesi sonucu ortaya çıkan, gelişim ve farklılaşma sırasında organ yapısı ve işlevlerinin aktif değişimini sağlayan fizyolojik hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır [65].

Normal koşullarda, kanın akıcı konumda tutulabilmesi ve koagülasyonun inhibisyonu için sağlam bir endotel gereklidir. Endotel hasarlandığında antikoagülan fonksiyonları çabucak azalarak prokoagülan özellik kazanır. Ayrıca, doku hasarı veya vasküler patoloji endotel altındaki matriksin açığa çıkmasına, trombositlerin endotele bağlanarak aktive olması ile prokoagülan etkinin ortaya çıkmasına neden olur [66].

ANCA ile ilişkili hastalıklar göz ardı edilebilecek klinik bulgulardan ağır hastalık tablolarına, sadece böbrek tutulumundan, multisistem tutuluma, spontan remisyona uğrayan vakalardan immünosüpresif tedaviye dirençli durumlara kadar değişen klinik tablolar oluşturabilir [11].

ANCA pozitif hastalıklarda etkilenen organlardan bağımsız olarak ortak patolojik özellikler vardır. Bunlar; fibrinoid nekroz, nötrofil akümülasyonu ve damar duvar

nekrozudur. Fibrinoid nekroz ANCA ile birlikteki vaskülitlerde ortak karakteristik özelliktir [11, 67].

ANCA pozitifliği WG hastalarında %95, sistemik vaskülitlerde %84 sensitivitesi ile tanı açısından önemlidir. Hastalığın tekrarlamasından önce ANCA titresinin yükselmesi, önceden fark edilmesi açısından önemlidir. ANCA tayini primer nekrotizan kresentik glomerülonefritlerin tanı ve izleniminde yapılması gereken önemli bir tetkiktir [68].

WG hastalarından izole edilmiş AEHA IgG endotel hücrelerine anti-PR3 absorbsiyonunu etkilememektedir. Anti-PR3 pozitifliği olan hastalarda AEHA saptanmadığı durumlarda vaskülit görülme sıklığının az olduğu, ancak AEHA varlığının vaskülit görülme sıklığını arttırdığı gösterilmiştir [68]. Ayrıca AEHA pozitif, ANCA negatif WG hastalarında hastalığının klinik açıdan tekrarlama riski yüksektir [39, 48].

Bu çalışmada, tüm bu bilgilerin ışığında, vaskülit tanısı almış hastalarda ANCA pozitifliği ile AEHA varlığı ilişkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İmmün Sistem

Enfeksiyonlara karşı savunmayı sağlayan hücreler, dokular ve moleküllerin bütünü, immün sistem olarak tanımlanır. Fizyolojik işlevi, enfeksiyonları engellemek ve yerleşmiş enfeksiyonları yok etmek olan immün sistemin, kusurlu olmasının yanı sıra aşırı çalışması da organizma için patolojik durumlara neden olmaktadır. Konak savunma mekanizması, enfeksiyonlara karşı ilk engeli oluşturan "doğal immünite" ve doğal immünitenin ardından yavaş olarak gelişen "edinsel immünite" olmak üzere iki farklı yanıtı kapsar. Doğal immünite, mikropların girişini engelleyen ve konak dokulara girmeyi başaran, mikropları yok eden konak savunmasının sağlıklı bireylerde her zaman bulunduğunun bir kanıtıdır; edinsel immünite ise dokuları istila eden mikroplara karşı harekete geçen bir tip savunma sistemidir. Edinsel immünite, değişik hücre ve moleküllerin oluşturduğu, hücre ile hücre içi mikroplara karşı savunma sağlamak üzere iki türlüdür: hümoral (salgısal) ve hücresel immünite. Hümoral immünitede lenfositlerin primer iki alt grubundan birini oluşturan B lenfositleri, hücre dışı mikropları yok etmek için başkalaşıma uğrayarak plazma hücrelerini oluşturur ve antikor salgılanır. Lenfositlerin diğer alt grubunu oluşturan T lenfositler ise hücresel immünitede görev alır, fagositoz ile hücre içine alınmış mikropları yok etmek için makrofajları efektör konuma geçirir ya da sitotoksik etkileri ile enfekte hücreleri öldürür. Edinsel immünitenin temel özellikleri; özgül olması, bellek sahibi olması ve farklı mikroplara karşı özelleşebilme yetisine sahip olmasının yanı sıra konak doku veya hücrelerinin oluşturduğu öz antijenlere karşı gelişebilecek zararlı immün yanıtları önleyebilmesi şeklinde sıralanabilir [1].

Bağışıklık sisteminin diğer her yönden normal olmasına karşın belli antijene immün yanıt verilmemesi, yani özgül olarak yanıtsızlık haline immün tolerans denir. Burada vücudun kendi moleküllerini tanıyıp, onlara karşı immün reaksiyona girmemesi hali söz konusudur. Genelde embriyonik yaşam sırasında karşılaşılan antijenler kişinin özüne ait kabul edilir ve bir bağışık yanıtı uyarmaz. Bu yanıtın bulunmaması, timusta

özüne tepki veren T hücre öncüllerinin eksi seçim ile ortadan kaldırılması sonucu görülür ve bu durum merkezi tolerans olarak bilinir [70, 71].

Otoimmünite, vücudun kendi elemanlarına karşı bağışık yanıtın ortaya çıktığı, yani otoleransın sona ermesi ile gelişen immün bir yanıt olup T ve B hücreleri, vücudun kendi antijenlerine karşı otoreaktif hale geçer. Otoleransın devamını sağlayan hücresel ve hümoral immün sistemlerin işleyiş düzeni ve dengesinin değişmesi sonucu vücudun kendi antijenlerini yabancı antijen gibi algılayarak (otoantijen) bunlara karşı antikorlar (otoantikor) ve duyarlanmış hücreler meydana gelir. Eğer otoimmün yanıt ile birlikte doku ve organlarda histopatolojik değişiklikler gelişirse bu hastalıklar da otoimmün hastalıklar adının alır [2]. Bir hastalığın otoimmün olarak kabul edilebilmesi için kendi dokularına karşı reaksiyon gösteren otoantikor veya T hücrelerinin dolaşımda gösterilmesi ve bunların doku hasarı ile hastalık semptomlarından sorumlu olduğunun ortaya konması gereklidir. Otoimmün hastalıkların çoğu antikor aracılıdır.

Aslında vücutta az oranda otoreaktif T ve B hücreleri bulunmakla birlikte bunlar belki de tetiği çekecek yeterli konsantrasyonda gerekli bir antijenin olmamasından dolayı prolifere olamazlar. Ayrıca supresor T hücreleri, makrofajlar ve sitokinlerden oluşan baskılayıcı bir ağ sayesinde de kontrol altında tutuluyor olabilirler. Bu supresör sisteminin herhangi bir yerindeki bir aksaklık otoimmün reaksiyonu tetikleyebilir [72].

2.2. Antikorlar

Antikorlar, bağışık yanıt sonucunda kendilerinin oluşmasında etkin olan antijenlere özgül olarak birleşip tepkimelere yol açabilen Ig'lerdir. Antikorlar bir erişkinin serumundaki protein miktarının % 25 ini oluştururlar.

Antikorlar, antijenlerle uyarılan B lenfositlerinin başkalaşımı ile ortaya çıkan plazma hücreleri (plazmosit) tarafından oluşturulurlar. Antikorlar arasında kimyasal, fiziksel ve immünolojik incelemelerle, suda tuzlarda ve bazı eriticilerde eriyebilme

dereceleri, elektroferez hızları, molekül ağırlıkları, ultrasantrifüjlemedeki çökme hızları, taşıdıkları H polipeptid zincirlerindeki yapı değişiklikleri, antijen bağlayabilme valansları ve buna benzer diğer özellikleri yönünden immünoglobulinler arasında önemli ayrımlar bulunduğu saptanmıştır. Buna göre birbirlerinden farklı beş çeşit immünoglobulin sınıfı ayrılmıştır; IgG, IgM, IgA, IgD ve IgE. Bir antijene karşı oluşmuş ve onunla özgül olarak birleşme özelliğindeki antikorlar, aynı anda çeşitli sınıflardan immünoglobulinler niteliğinde oluşabilirler. Bunların ortak yanı oluşmalarına yol açan antijenin determinantına karşı aynı yapıda birleşme yanı (paratop) taşımalarıdır [3].

IgG: Plazmadaki Ig'lerin %75'ini oluşturur. Bakteri, virüs, parazit, mantar gibi kan ile bulaşan enfeksiyöz ajanlara karşı olan immünitenin çoğunu sağlar ve ikincil yanıtta baskın antikordur. Fagositlerin yüzeyinde bulunan IgG reseptörleri vasıtası ile opsonizasyon yapabilir ve fagositozu şiddetlendirebilir. G1, G2, G3, G4 olmak üzere antijenik farklılık gösteren 4 alt sınıfı vardır. Plasentadan geçebilen tek Ig dir. Dolayısı ile yenidoğanda en bol bulunan Ig budur.

IgA: Kolostrum, tükrük, gözyaşı gibi salgılar ile solunum, sindirim ve genital kanal salgılarında bulunan başlıca Ig'dir. IgA, bakteri ve virüs gibi mikroorganizmaların muköz zarlara bağlanmasını engellemek suretiyle sekresyon ile örtülü dış yüzeylerdeki lokal immün savunmadan sorumludur. Kompleman fiksasyonu yapmaz.

IgM: Organizmanın her hangi bir antijen ile karşılaştığında ilk sentezlenen Ig'dir. Dolayısı ile serumda ilk beliren IgM'dir. Bunlar kısa süre sonra azalarak yerlerini uzun süre koruyucu etkinlik gösteren IgG sınıfı antikora bırakır. İki alt grubu vardır. Klasik yoldan kompleman aktivasyonu yeteneği en fazla olan IgM'dir. Fagositozu kolaylaştırır, aglitünasyon yeteneği güçlüdür. Makrofaj ve nötrofillere bağlanmaz. IgG'ye göre oldukça büyük yapısı ile kan-beyin veya plasenta engellerini geçemez. Bazı enfeksiyonlarda fetus tarafından üretilebilir.

IgD: B hücresinin farklılaşmasında rol oynar. Serumda çok az miktarlarda bulunur.

IgE: Mast hücreleri ve bazofillere bağlanarak onların duyarlı hale geçmesinde rol oynar. En kısa yarı ömre sahip Ig olup alerjik anafilaktik yanıtların ana unsurudur. Ayrıca helmintler gibi bazı parazitlere karşı ana konak savunmasını oluşturur [73-76].

2.2.1. İmmünoglobulinlerin Yapısı

Ig'ler temel yapı bakımından kendi içlerinde birbirlerine benzerlik gösterirken glikoprotein yapısında moleküllerdir. Biyolojik özelliklerinin hemen hepsi yapılarındaki polipeptid birimlerine bağlıdır. Ig'lerin iki temel işlevi vardır. Bunlardan birincisi spesifik antijenlerine bağlanmak ikincisi ise komplemanı aktive etmek, opsonizasyon, sinyal taransdüksiyonu gibi bir grup işlevden oluşmaktadır.

Elektron mikroskobu ile incelendiğinde IgG molekülü Y harfi biçiminde görülür. İkişer ikişer aynı yapıda olmak üzere IgG molekülü dört adet polipeptid zincirinden oluşur. Bunlardan ikisi kısa ve dolayısıyla molekül ağırlığı hafif (20,000-25,500 Dalton) olup bu zincirlere hafif zincir ya da L zincirleri denir. Diğer iki polipeptid zinciri daha uzun olup molekül ağırlıkları da daha ağır (50,000-70,000 Dalton) olduğundan bunlara da ağır zincirler ya da H zincirleri adı verilir. IgG molekülünde hafif L zincirler Y harfinin yalnız kollarında, ağır H zincirler ise hem kollarında hem de gövdesinde bulunurlar. Kollardaki hafif ve ağır zincir arasında bulunan disülfit bağları polipeptid zincirlerini birbirlerine bağlarlar [3].

Antikorlar, molekülün amino ucundaki primer aminoasit dizesindeki varyasyonlara bağlı olarak özelleşmişlerdir. Bu çeşitlilik hafif zincir dizesinin son ½'lik bölümü ile ağır zincir dizesinin son ¼'lük bölümünü kapsar (değişken bölge) [75]. IgG molekülü Y'nin kollarının, gövdeye birleştiği yerden üç parçaya ayrılır. Molekülün kollara isabet eden, antijenin bağlandığı değişken bölge ve amino terminal uçlarının bulunduğu parçalara (iki adet) Fab parçaları (antijen bağlayan fragman) adı verilir. Y şeklinde molekülün biyolojik aktivite gösteren efektör kıvrımlarını taşıyan gövde kısmına Fc parçası (kristalize olan fragman) adı verilir. Fab parçası hem H hem de L polipeptid zincirleri, Fc parçasında yalnız H zincirleri bulunur. Pepsin enziminin

etkisi ile Y molekülü kolların hemen altından ayrılarak bir tarafta kalan iki kol ve kısa bir parça gövdeden ibaret parçaya F(ab)' denir.

Antikorların fonksiyonları

1. Antijen ile immün kompleksler oluşturarak bunların fagositoz ile dolaşımdan kaldırılmalarını sağlamak.

2. Enfeksiyon etkenlerini aglütine ederek hareketsiz bırakmak ve fagositoza hazırlamak.

3. Toksinleri ve viral etkenleri nötralize ederek zararsızlaştırmak.

4. Komplemanı aktive etmek.

5. Mikroorganizmaların mukoza yüzeylerine aderans ve kolonizasyonlarını inhibe etmek.

6. Zararlı bazı makromoleküllerin gastrointestinal mukozadan absorbsiyonunu engellemek.

7. Antikora bağımlı hücresel immünitede görev almak.

8. Allerjik ve hipersensitivite reaksiyonlarında görev almak [73].

2.3. Otoimmün Hastalıklarda İmmünopatolojik Mekanizmalar

1- Hücre içerisindeki maddeler gibi saklı ya da sekestre olan antijenler, organizma tarafından '*kendisine ait*' olarak tanınmamış olabilir. Bunlar dolaşıma karıştıkları zaman bir immün cevaba yol açabilir. Otoantikorlar, sekestre antijenle birleşemediklerinde kendi başlarına hastalığa yol açmayabilirler. Bununla birlikte

immünolojik olarak aktif hale gelmiş T hücreleri için böyle bir kısıtlama söz konusu değildir ve bu hücreler dokularda zarara yol açmak bakımından çok daha etkilidirler.

2- Organizmanın '*kendisine ait*' olarak tanıdığı antijenler kimyasal, fiziksel veya biyolojik değişikliklere uğrayarak bu özelliklerini kaybedebilirler. Bazı kimyasal maddeler, vücut proteinleriyle birleşerek onları immün cevabı meydana getirebilecek hale sokabilmektedir. Işığa karşı olan duyarlılık, fiziksel nedenlerle oluşan otoallerji'ye örnektir. Ultraviyole ışınları, deri proteinlerini değişikliğe uğratır, ve hastada alerji reaksiyon ortaya çıkar. İzoniazid alımından sonra, tahrip olan hücre DNA'sı (deoksiribo nükleik asit) ilaç ile birleşerek antijenite kazanmakta ve anti-nükleer antikorlar (ANA) oluşmaktadır. Biyolojik olarak değişikliğe uğrayan antijenler Yeni Zelanda farelerinde gösterilmiştir; bunlarda devamlı olarak, konak dokularıyla birleştiği ve onları antikor yapımına yol açacak hale getirdiği bilinen RNA (ribo nükleik asit) virusuyla enfeksiyon meydana getirildiğinde SLE'u andıran otoallerjik bir rahatsızlık ortaya çıkmaktadır.

3- Yabancı bir antijen, organizmanın '*kendine ait*' antijenleriyle çapraz-reaksiyon meydana gelmesine yol açan bir bağışıklık cevabına neden olabilir. Streptokoklardaki M proteiniyle insan kalp kası arasındaki çapraz reaksiyon ya da kuduz aşısından sonra ortaya çıkan ensefalit, buna örnek olarak gösterilebilir. Bu ensefalit olgularında büyük olasıkla, aşıda kullanılan hayvan beyin dokusu tarafından başlatılan bir otoimmün çapraz-reaksiyonun rol oynadığı sanılmaktadır.

4- Otoimmünite oluşumunda hücresel immün cevabın önemi de büyüktür. Th (T-helper; Yardımcı T) hücreleri ve B lenfositleri normalde kendi doku antijenleri ile uyarılmamaktadır. Yanıtsız kalma durumu, gelişme sürecinde otoantijenlerle temas sonucunda anerji (yanıtsızlık) oluşmasıyla ve yetişkin dönemde otoantijene özgül Ts (T-supresör; baskılayıcı T) hücresi oluşmasıyla açıklanmaktadır. Gelişim sırasında bir mutasyonla Ts lenfositlerin B lenfositleri sürekli aktive etmesi ile otoantikorlar sentezlenmektedir. Haptenik bazı ilaçlar gibi yabancı maddelerin konak dokularına bağlanmasıyla veya viruslar gibi çapraz reaksiyon verebilen antijenlerin verilmesiyle veya homolog dokunun Freund adjuvantı ile birlikte infeksiyonu ile Th

lenfositler non-spesifik uyarılarak otoantikorların oluşmasına yol açmaktadır. Endotoksin gibi bazı maddeler, T lenfosit yardımı olmadan B lenfositleri uyarmaktadır. Lepra, sifiliz, tüberküloz gibi kronik bakteri infeksiyonlarında adjuvant gibi kuvvetli ve devamlı uyarım yapan antijenler, B lenfositleri normal dışı uyararak otoantikorların sentezine neden olmaktadır. Kalıtsal bozukluk, immün sistemde T lenfosit olgunlaşmasında bir bozukluk olarak gelişebilmekte ve T lenfosit bozukluğunda viral enfeksiyon eğilimi artmaktadır [77].

2.4. Vaskülit

Vaskülit, damar duvarında inflamasyon, nekroz ve bazı koşullarda granülom oluşumu ile karakterli, damar endotel yapısı ve damar duvarının bozukluğu ile giden bir patolojidir. Damar yapısının bozulduğu damarlarda tıkanma, anevrizma, bazen rüptür oluşumuna yol açarak distaldeki dokuların iskemisi ile sonuçlanan klinik-patolojik tablo ortaya çıkar. Vaskülit damar duvarının kas tabakasının bir kısmını tutarak, anevrizma oluşumu ve rüptür riski fazla olan lezyonlarla karşımıza çıkabilir. Vaskülit gelişen damarların duvarında segmental lezyonlar da gelişebilir [12-15].

Vaskülitlerin patogenezinde damar endotelyumu esas rolü oynamaktadır [16-18].

Farklı türlerde endotel hücresi farklılık gösterir. Büyük ve küçük damarlarda, farklı dokularda farklılık gösterir. Farklı büyüklük, şekil ve nükleer oryantasyona sahiptir [20-29].

Damar endotel hücreleri; IL-1, IL-6, IL-8, PAF, nitrik oksit ve endotelin gibi birtakım sitokinleri üreterek, sistemik bir vaskülit gelişmesinde direkt ve indirekt olarak anahtar rolü üstlenirler. Damar endotel hücrelerinin, koloni uyarıcı faktörler ve bir takım kemotaktik faktör üretimlerinde rolü olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra bazı adezyon moleküllerini de yüzeylerinde sunabilirler [16-18].

İnflamasyon oluşumunda, koagülasyon ve fibrinolitik ajanların ürünleri olduğu kadar, sitokinlerin de rolü vardır. Vasküler inflamasyonun klinik ve patolojik tablosu,

etkilenen kan damarının çapına, sayısına ve tipine bağlı olarak değişiklikler gösterebilir. Vaskülit lokalize olabilir (kütanöz poliarteritis nodosa, bağırsak, pankreas, safra kesesine lokalize poliarteritis nodosa), klinik belirti vermeyebilir veya yaşamı tehtid eden komplikasyonlarla karşımıza çıkabilir.

Vaskülit ile giden sendromların çoğu immünopatojenik mekanizmalarla oluşur. Ayrıca tümör hücrelerince veya çeşitli enfeksiyon ajanlarınca damar duvarına direkt yıkıcı etkiye sekonder olarak gelişebilir. Vaskülit oluşumunda rol oynayan immün mekanizmaların anlaşılmasında endotel hücre fonksiyonlarının ve immün sistemi regüle eden sitokinler ve adezyon moleküllerinin belirlenmesinin büyük rolü olmuştur [16-83].

Vaskülitler de şu an kesin bilemediğimiz bir tetikleyici ve bunun başlattığı etyopatogenetik mekanizma ne olursa olsun, sonuçta gelişen patolojinin oluşmasında rol oynayan, çoğu hücresel orjinli bir takım aracılar vardır. Bunlar adezyon molekülleri ve sitokinler başlığı altında toplanabilir.

Adezyon molekülleri; bir bölgede bir immün sistem tetiklenmesi olduğu zaman lökositlerin bu bölgeye göçü, burada toplanmaları ve yerleşmeleri için buradaki immün sistem hücrelerinin fonksiyonları kadar, dokuya ait birtakım özellikler de rol oynamaktadır. Lökositlerin inflamasyon bölgesine toplanması, bu bölgede endotele yapışması ve endotelden migrasyon yapıp inflamasyonlu dokuda yerleşmesinde önemli rol oynayan bir takım özgül hücre yüzeyi proteinleri vardır. Bunlar hücre adezyon molekülleri (CAM) olarak adlandırılmaktadır. Bunların üç ana grubu tespit edilmiştir; selektinler, integrinler ve Ig süpergen ailesinin bazı bireyleri. Selektinler damar duvarında yer alıp inflamatuar hücrelerin vasküler endotele erken dönemdeki yapışmalarından sorumludur. Daha sonra vasküler endotel üzerinde konuşlanan birtakım Ig süpergen aile bireyleri ile inflamatuar hücrelerin üzerindeki integrinler etkileşime girerek enflamatuar hücrenin vasküler endotele daha sıkı yapışmasına ve hücrenin damar dışına migrasyonuna yol açar.

Selektinler, L-, P- ve E-selektin olarak, integrinler LFA-1 (lökosit fonksiyonu ilişkili antijen), VLA (*very late antigen*) grupları ve, immünoglobulin süpergen aile bireyleri ile ICAM-1, ICAM-2 ve VCAM-1 olarak çeşitlendirilebilir. Uyarının hemen başında selektinler hücre yüzeyinde izlenebilmektedir. Daha sonra PAF, çeşitli sitokinler ve bakteriyel ürünlerin etkisi ile integrin ailesinin ortaya çıkması ile selektinler geri planda kalır ve bunlar kendilerine karşılık gelen ICAM ile birleşerek damar çeperine daha sıkı yapışmayı sağlarlar [76].

Sitokinler; immünolojik, lokal veya sistemik inflamatuar ve onarıcı konak cevabını düzenleyen ve hücreler arasında sinyal görevi gören biyolojik mediatörlerdir. Bunlar, lenfositler tarafından salgılandıkları zaman lenfokinler, monosit ve makrofajlar tarafından salgılandığında ise monokinler, lökositler tarafından salgılandıkları zaman ise interlökin olarak adlandırılmaktadır. Kemokin deyimi ise kemotaktik ve sitokin parçalarının birleştirilmesiyle üretilmiş olup bunlar, makrofaj ve monositleri enfeksiyon noktasına çekebilen bir grup sitokindir. Sitokinlerin peptid veya glikoprotein yapısındadırlar. Bunlar genel anlamda biyolojik yanıt değiştirici moleküller olup çok düşük konsantrasyonlarda bile çok etkilidirler. Tek bir çeşit sitokinin aynı anda pek çok hücre tipi üzerinde büyüme ve farklılaşma gibi çeşitli etkileri olabilir [1, 75].

Sitokinler yerel veya sistemik etki gösterebilirler.

Yerel etkileri: endotel hücresi aktivasyonu ile adezyon molekülü ekspresyonu, lökosit endotel yapışması ve etkileşimi, lökositlerin endoteli geçip enflamasyon bölgesine kemotaksisi, lökosit aktivasyonu (hücrede solunumsal patlama, serbest oksijen radikalleri salınımı, degranülasyon, fagositoz ve sitotoksisite aktivasyonu), prokoagülan aktivite, sitokin sentezini yeniden aktive etme, endojen mediatör salınımı.

Sistemik etkiler: ateş, akut faz reaksiyonu, spesifik olmayan konakçı reaksiyonu ile ilişkili koloni stimülan faktör artışı, NK aktivasyonu, T hücre çoğalması, B hücre aktivasyonu, sitotoksik T hücre artışı [79].

Vaskülit patolojilerinde, serumda veya dokularda en sıklıkla gösterilen sitokinler IL-1β ve TNF-α dır. TNF-α, IL-1 ve IL-6; T ve B lenfositleri aktive etmekte ve vaskülitik sendromlarda ki birçok semptomun akut faz göstergelerinin oluşumunu başlatmaktadır.

Vaskülit patogenezinde lökosit ve endotel hücre adezyon moleküllerinin ve bunların salınmasında rolü olan çeşitli sitokinlerin indükleme ve aşırı regülasyonuna ilişkin çalışmalar vardır. Sitokinlerin ve adezyon moleküllerinin neden olduğu etyolojik ajana bağlı indükleme ve ekspresyonundaki farklılıklar;damar yıkımının varlığı veya yaygınlığında önemli rol oynamaktadır [12-15, 18, 80-83].

Vaskülitin gelişmesinde rol oynayan patojenik faktörler

1. Eksojen ajanlar; Virüsler, enfeksiyon ajanları, ilaçlar, tümör hücreleri.

2. Patojenik IK oluşması.

3. Otoantikorlar; AEHA, ANCA, hücre aracılı immün reaktivite ve immünokompetan hücreler.

4. Genetik faktörler; HLA, sitokin genleri, enzim sentezinde rol oynayan genler ve enzim inhibitörleri.

5. Koagülan-trombotik sistem tarafından damar duvarının zedelenmesi [16].

Enfeksiyon ajanları, çeşitli mekanizmalar ile direkt vasküler inflamasyonu başlatabilir. Enfeksiyon ve enfeksiyon ajanları, subendoteliyal yapılar ve endotel hücre üzerinde doğrudan yıkıcı etki oluşturabilir. Endotel hücreleri yabancı antijen ile karşılaşınca patojenik hücre aracılı bir yanıtı veya humoral (salgısal) immün yanıtları uyarabilir. Antijen-antikor kompleksleri vasküler yapılarda birikebilir [16, 84].

HIV-1, *Rickettsia rickettsii,* herpes virus enfeksiyonları, sitomegalovirus, *Mycoplasma pneumonia* enfeksiyonu, kronik hepatit B ve C enfeksiyonları ile Poliarteritis nodosa (PAN) arasındaki ilişki en iyi bilinenlerdir.

Tümörle birlikte giden vaskülit olgularının çoğunda damar duvar yıkımının mekanizmasının tümör antijenlerini içeren immün komplekslerin birikimi ile ilgili olduğu düşünülür. Bununla beraber malign hücrelerce damar duvarının direkt invazyonu da vaskülitik sendromu oluşturabilir. PAN ile Hairy Cell Lösemi, garanülomatöz vaskülit-Hodgin hastalığı ve aşırı duyarlılık vasküliti ile çeşitli malign hastalık birliktelikleri örneklenebilir [81, 83].

Yabancı veya zararlı bir materyalin bireye verilmesi, sıklıkla immün yanıt ile sonuçlanır. Bu yanıtın seyrinde oluşan spesifik antikorlar, antijenlere bağlanarak immün kompleks oluştururlar. Genelde bu kompleksler retiküloendoteliyal sistemin makrofajları tarafından fagosite edilerek yıkılırlar. Bazen bu kompleksler dokularda birikerek inflamasyon ve doku yıkımına neden olurlar [16-18, 85, 86].

Endotel hücrelerine bağlanan IK'ler, çeşitli mekanizmalarla inflamatuar yanıtı uyarabilir. Klasik yoldan gelişen kompleman aktivasyonu, direkt olarak damar duvarında doku hasarına yol açan membran atak komplekslerinin oluşumu ile sonuçlanır. C3a ve C5a kompleman komponentleri, nötrofil ve monositlerin kemotaksisini başlatan güçlü proinflamatuar uyarılardır. Bu küçük peptidler bazofil ve mast hücrelerinden, histamin gibi vazoaktif aminlerin salınımını da uyarırlar.

IK'ler monosit ve granülosit gibi inflamatuar hücrelere bağlanarak, sitokinlerin, bazı enzimlerin salınmasına ve hücre aktivasyonuna doğrudan olarak yol açabilir. Damar duvarında biriken, kompleman ve nötrofil aktivasyonuna neden IK'ler dolaşımda oluşabildiği gibi dokuda da doğal olarak oluşabilir.

Histamin gibi inflamatuar mediatörler, endotel hücre tabakasının bütünlüğünü değiştirerek IK'lerin birikimini kolaylaştırır. Bradikinin, PAF, anjiotensin, ve lökotrien gibi mediatörler damar geçirgenliğini artırarak, IK birikiminin

patojenitesini güçlendirir. Bu mediatörler aynı zamanda endotel hücre üzerinde adezyon moleküllerinin aşırı regülasyonunu başlatabilir, lökosit migrasyonunu kolaylaştırabilir ve prokoagülan mekanizmaların aktivasyonunu da artırabilir. Prokoagülan mekanizmanın aktivasyonu, kan akımında yavaşlama ve trombositlerin endotel hücrelerince bağlanmasını kolaylaştıracaktır [16, 85].

Sistemik vaskülitlerde pıhtılaşma anomalileri de ortaya çıkabilir ve tıkayıcı damar değişikliklerini etkileyebilir. Endotel hücreler sitokinlerce aktive olduklarında, trombojenik olmayan bir endotel hücre fenotipinden, prokoagülan bir kimliğe dönüşür. Faktör VIIa'yı bağlar ve intrensek pıhtılaşma sistem yolunu aktive eder. Aktive olmuş endotel hücreleri trombomodülinin de yapımını azaltır ve doku plazminojen aktivatör inhibitörünün sentezini artırarak ve doku plazminojen aktivatör salınımını azaltarak fibrinolizisi baskılar [12, 14-16, 18, 83, 87].

Trombositler; vazoaktif, kemotaktik, proliferatif, trombojenik ve proteolitik özelliklerde çeşitli inflamatuar mediatörler salgılayarak ve ek olarak kompleman aktivasyonu yapabilme yetenekleri ile inflamasyona direkt olarak katılarak endotel hasarlanmasını artırabilirler.

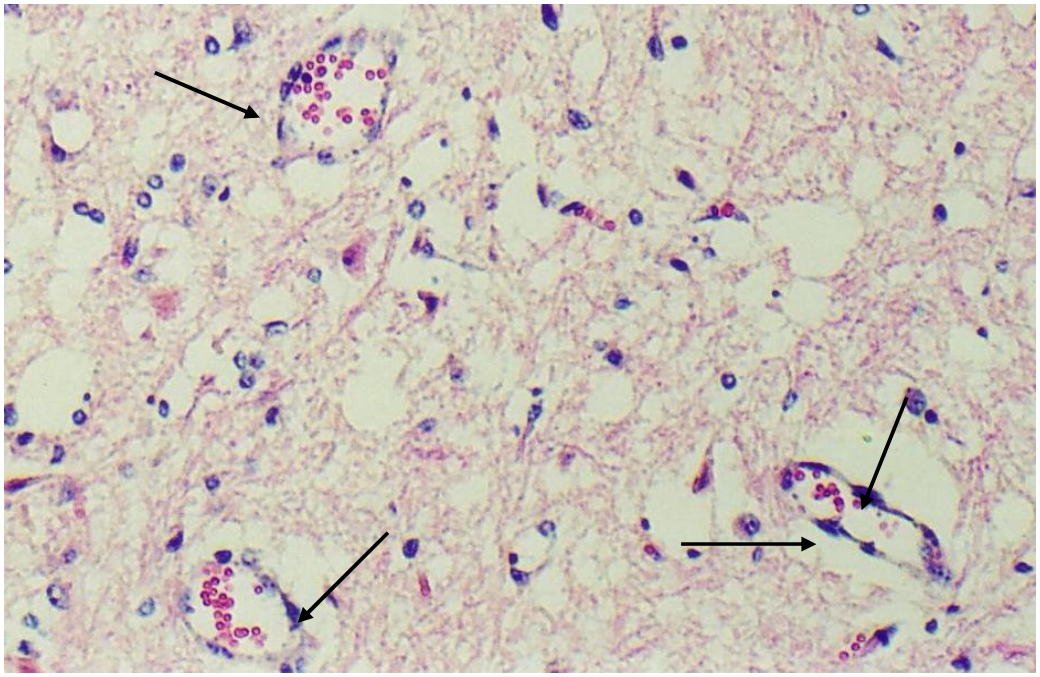
2.5. Endotel Hücresi

Endotel, dolaşım sistemine ait kan damarlarının duvarlarını kanın akış yönünde döşeyen yaklaşık 10x30 µm boyutlarında olan, ince yassı hücrelerden oluşmuş tek katlı epitelyum tabakasıdır.

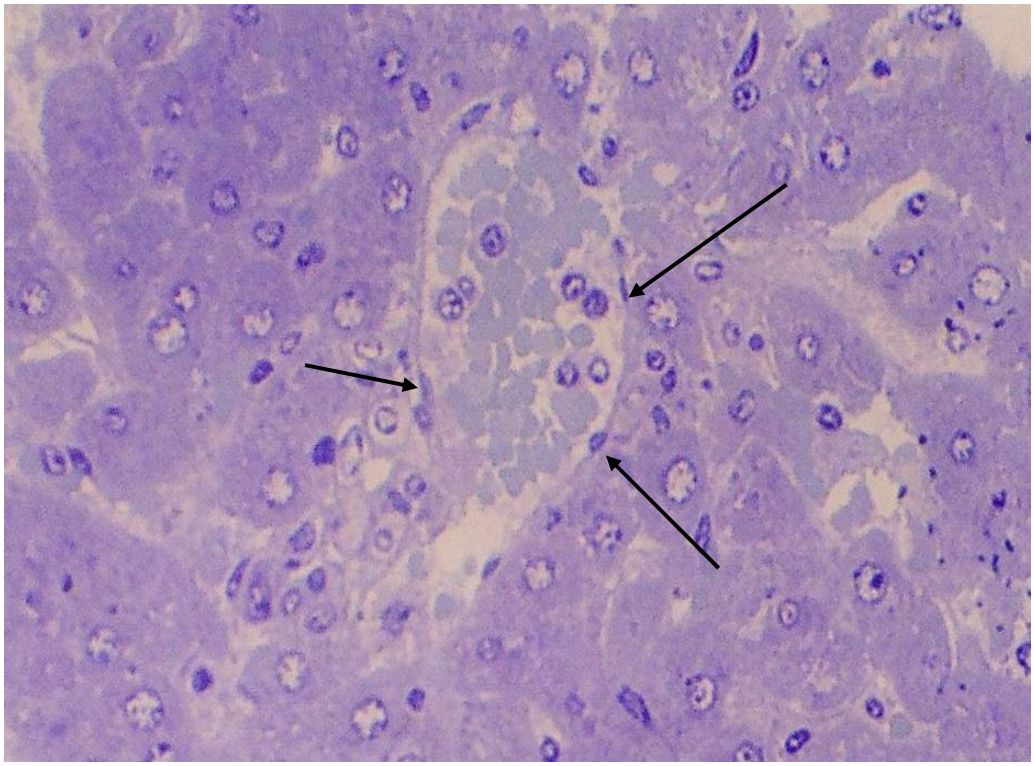
Endotel, kan akımına karşı bir yüzey oluştururken aynı zamanda kan ve damar duvarı arasındaki seçici-geçirgen bir bariyerin oluşumuna da katılır.

Endotel hücrelerinin çekirdekleri lümene doğru kabarık şekilde, yassı-oval ve heterokromatikdir. Hücrelerde granüllü endoplazmik retikulm sarnıçları, golgi kompleksi, birkaç mitokondriyon ve serbest ribozomlar bulunur. Perinükleer bölgede 9-11 nm çaplı arafilamanlar bulunur. Filamanların dağılımı değişiklik gösterir.

Bazılarında desmin, bazılarında vimentin, bazılarında da hem desmin hem vimentin şeklindedir. Bu ara filamanlar hücreye yapısal desteklik sağlar.



Resim 2.1. Sinir dokuda çok sayıda nöronlar arasında yassı endotel hücreleri ile döşeli kapiller oluşumlar görülmekte (Dr. Suna Ömeroğlu'nun izniyle, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Embriyoloji ve Histoloji A.D., ANKARA)



Resim 2.2**.** Karaciğer parankim hücreleri hepatositlerin etrafında ışınsal tarzda düzenlenim gösterdiği *Vena centralis*'i çevreleyen ince, yassı çekirdek yapıları ile endotel hücreleri (Dr. Suna Ömeroğlu'nun izniyle, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Embriyoloji ve Histoloji A.D., ANKARA)

Endotel hücrelerinde, damar tonusunun düzenlenmesini sağlayan bazı vazoaktif maddelerin salınımı, koagülasyon, lökosit migrasyonu gibi işlevler gerçekleşir. Bu anlamda vasküler homeostazın sağlanmasında temel rol oynayan en küçük endokrin organ olarak da tanımlanabilir.

Endotel hücreleri, lenfositler arasındaki etkileşimlerde, immün yanıtın düzenlenmesi ve modulasyonunda da rol oynarlar. Çeşitli adezyon moleküllerinin ekspresyonları; endoteliyal lökosit adezyon molekülü (ELAM), trombosit endoteliyal hücre adezyon molekülü (PECAM), ICAM, VCAM ve reseptörler bulunmaktadır. IL-1, IL-6, IL-8 olmak üzere üç tip interlökin salınımı endotel hücrelerinde gerçekleşir [19, 88].

AEHA endotel hücreyi hedef alan bir otoantikordur ve AEHA'lar endotel hücre membranındaki antijenlere karşı oluşurlar. In vitro delillerde otoantikorlar, vasküler inflamasyonu direkt ya da indirekt yolla uyarmaktadır [30, 31].

AEHA'lar yaygın şekilde otoimmün ve inflamatuar koşullarda tanımlanmaktadırlar. Bu hastalıkların gelişiminde ve patojenitesinde rolleri bulunmaktadır. AEHA hedef antijenleri çok geniş bir grup olan hücre dışı matriks proteini ve molekülleri içermektedirler [4, 5].

ANCA son yıllarda tanımlanmış bir grup otoantikordur [9]. ANCA'lar monositlerin lizozomları ve nötrofillerin primer granüllerinde bulunan sitoplazmik antijenlere karşı oluşan antikorlardır [10]. İlk kez Davis ve arkadaşları 1982 de pauciimmün nekrozitan glomerülonefritli 8 hastada ANCA varlığını göstermişlerdir. Bu hastalarda ayrıca arbovirus enfeksiyonu bulgular da saptanmıştır. Hail ve arkadaşları 1984 de sistemik vaskülitli 4 hastada ANCA pozitifliği bildirmişler ve bunların 3'ünde nekrozitan glomerülonefrit tespit etmişlerdir [11].

2.6. Nötrofil ve Monositler

Dolaşımdaki fagositik hücrelerden nötrofiller ve monositler, enfeksiyon bölgesine giderek orada mikroorganizmaları tanır ve içlerine alarak hücre içi yıkım işlemi gerçekleştirilir. Nötrofiller (polimorf nüveli lökositler, PNL) mm³'de 4.000 ile 10.000 sayısı ile kanda en yoğun bulunan hücrelerdir. Enfeksiyon sırasında kemik iliğinde nötrofil üretimi artar ve kandaki sayıları 20.000/ mm³'e ulaşır. Nötrofil sentezi, enfeksiyona yanıt olarak birçok hücre türü tarafından üretilen; kemik iliğinde nötrofil öncüllerinin çoğalma ve olgunlaşmalarında rol oynayan ve koloni stimüle eden faktörler olarak isimlendirilen sitokinlerce uyarılır.

Nötrofiller, bakteri ve mantar enfeksiyonları başta olmak üzere, birçok enfeksiyona karşı yanıtta rol oynayan en önemli hücrelerdir. Dolaşımdaki mikroorganizmaların yanı sıra, damar dışındaki enfeksiyon odağına doğru süratle hareket ederek orada bulunan mikroorganizmaları sindirirler ve birkaç saat içinde ölürler.

Nötrofillere oranla daha az sayıda bulunan monositlerin kandaki konsantrasyonu 500/mm³ ile 1,000/mm³ arasındadır. Bu hücreler de dolaşımdaki ve dokulardaki mikroorganizmalara karşı etkilidirler; nötrofillerden farklı olarak damar dışı dokularda daha uzun süre yaşarlar ve dokularda yerleşen monositler farklılaşarak makrofaj adını alırlar. Aslında dolaşımdaki monositler ile dokulardaki makrofajlar, mononükleer fagositik sistem olarak tanımlanan aynı hücre dizisinin iki farklı aşaması olarak kabul edilmektedir. Bağ dokularında ve vücuttaki tüm organlarda bulunan makrofajlar, dolaşımdaki mononükleer fagositik hücreler ile aynı görevi yaparlar.

Nötrofiller ve monositler, endoteldeki adezyon moleküllerine bağlanıp, mikroorganizmaların varlığında sentezlenen kemokinlerin çağrısı üzerine dolaşım dışındaki enfeksiyon bölgesine yönelirler. Enfeksiyöz bir mikroorganizma epitel tabakasını aşıp subepitelial dokulara girdiğinde, o bölgede bulunan makrofajlar mikroorganizmayı tanır ve sitokinler üretilir. TNF ve IL-1 enfeksiyon bölgesindeki kılcal damarların endoteline etki ederler. Bu sitokinlerin, endotel hücreleri ile ilişkiye girmeleri sonucu E-selektin ve P-selektin şeklinde isimlendirilen iki adezyon molekül grubunun ekspresyonunu uyarırlar. Dolaşımdaki nötrofiller ve monositlerin yüzeyinde selektinlere zayıf biçimde bağlanan karbonhidrat molekülleri bulunmaktadır. Nötrofiller endotele tutunsalar da, akış halindeki kan bu zayıf bağlanmayı çözer; ancak sonraki aşamalarda daha güçlü bağlanmalar gerçekleşir ve lökositler endotel yüzeyinde yuvarlanmaya başlarlar. Lökositlerin yüzeyinde integrinler adı verilen bir diğer adezyon molekül grubu daha bulunmaktadır. Aktive olmamış lökositlerin yüzeyinde integrinler düşük afinite özelliğine sahiptirler.

Hücreler endotel üzerinde yuvarlanırken, mikroorganizma ile karşılaşan makrofajlar ve makrofajların ürettiği TNF ve IL-1 uyarısını alan endotel hücreleri, kemokinleri sentezlerler. Kemokinler endotel hücrelerinin luminal yüzeylerine temas ederek, endotelde yuvarlanmakta olan lökositlerin o bölgelerde yüksek konsantrasyona erişmelerini sağlarlar. Kemokinler ayrıca lökosit integrinlerinin, endoteldeki ligandlarına afinitelerini hızla artırılar. Ayrıca TNF ve IL-1 endotele etki ederek integrin ligandlarının ekspresyonunu uyarır. İntegrinlerin ligandlarına güçlü biçimde

bağlanmaları sonucu, lökositlerin endotel yüzeyinde yuvarlanmaları son bulur. Lökositler, kemokinlerin çekim yönünü izleyerek, damar duvarını aşar ve enfeksiyon bölgesine hareker ederler.

Enfeksiyonun başlamasını izleyen dakikalar içinde selektinlerin katkısıyla gerçekleşen yuvarlanma, integrinlerin katkısıyla gerçekleşen sıkı yapışma ve kemokinlerin katkısıyla gerçekleşen hareketlenme olayları sonucu, dolaşımdaki lökositlerin damar dışına çıkarak enfeksiyon alanına yönlenmeleri söz konusu olur.

Lökositlerin enfeksiyon bölgesinde birikmeleri, toplanmaları bu arada damarların genişlemesi ve geçirgenliklerinin artışı olaylarının tamamı inflamasyon olarak isimlendirilir.

Dolaşımdaki ve damar dışı dokulardaki mikroorganizmalar, nötrofil ve makrofajlarca özel reseptörler aracılığı ile tanınırlar.

Mikroorganizmaların nötrofiller ve makrofajlarca tanınmasını, fagositoz aşaması izler ve fagositik hücrelerin aktivasyonu mikroorganizmaların yıkımı ile sonlanır.

Fagositoz mekanizmasında; fagositik hücre, plazma membranı aracılığı ile tanıdığı mikroorganizmayı çevreler; böylece mikroorganizma iki ucun birleşmesi sonucu oluşan ve fagozom olarak adlandırılan membran kesesinin içinde kalır. Fagozomlar, lizozomlar ile birleşerek fagolizozomları oluştururlar. Mikroorganizmaları tanıyarak onların hücrelere bağlanmasına ve hücre içine hapsedilmelerine neden olan reseptörler, fagolizozomlar içindeki bazı enzimlerin uyarılmasına yol açan sinyaller gönderirler.

Fagosit oksidazı olarak tanımlanan bu enzimlerden biri, moleküler oksijeni süperoksit anyonu ve serbest radikallere dönüştürür. Oluşan ve hücre içine alınmış mikroorganizmalar üzerine toksik etki yapan bu moleküllere, reaktif oksijen ara ürünleri ismi verilir. Nitrik oksid sentetaz isimli bir enzim, arjininin mikrobisidal bir diğer madde olan nitrik okside dönüşümünü sağlar. Bir diğer enzim grubu olan

lizozomal proteazlar, mikrobiyal proteinlerin parçalanmasına yol açarlar. Tüm bu mikrobisidal maddeler, lizozomların ve fagolizozomların içlerinde sentezlenirler ve fagositik hücrelere zarar vermeksizin, keselerin içine alınmış mikroorganizmaları sindirirler. Çok güçlü yanıt söz konusu olduğunda ise aynı enzimler hücre dışı ortama sızarak konağın dokularına olumsuz etki gösterebilirler. Bu nedenle, bazı durumlarda enfeksiyonlara karşı konağı korumakla görevli inflamasyon sürecinde konak dokuları zarar görebilir [1].

2.7. ANCA ve AEHA

ANCA'lar indirekt immün floresan yöntemi ile görünüşlerine göre cANCA ve pANCA olmak üzere ikiye ayrılırlar. cANCA'nın hedef antijenleri PR3 ve BPI; pANCA'nın hedef antijenleri MPO, elastaz, laktoferrin ve cathepsin G ve BPI' dır [10, 11].

Çizelge 2.1**.** Nötrofil granüllerinin içeriği [68].

Azurofilik granüller	Spesifik granüller	Diğerleri
Myeloperoksidaz (MPO) BPI Defensinler Elastaz Katepsin G	Laktoferrin Lizozim	α1-antitripsin CD 68
Proteinaz 3 (PR3)		

ANCA'ların WG, MPA, Churg Strauss Sendromu ve küçük damar vaskülitlerinde teşhiste büyük önemi vardır [11]. cANCA WG 'na spesifiktir [50]. pANCA ise MPA, kronik poliartritis, klasik panarteritis nodosa, ülseratif kolit, idiopatik glomerulonefritis, Churg Strauss Sendromu, Crohn hastalığında pozitifleşir ancak spesifik değildir. Behçet hastalığında cANCA pozitifliği saptanan vaka takdimleri

vardır [51]. Ayrıca RA ve SLE'li hastaların yarısında elastaz ve lactoferrine karşı oluşmuş ANCA'lar tespit edilmiştir [10].

ANCA pozitif bir kişide vasküler inflamasyon potansiyeli vardır. Ancak doku harabiyeti için bu yeterli değildir. Viral enfeksiyon gibi lokal ya da dolaşan sitokin düzeyini artıran nonspesifik bir olaya ihtiyaç vardır. Bu nonspesifik olayın sitokin düzeyini artırması adezyon molekülleri ile nötrofillerin endotele adezyonunu sağlar. Sonuç olarak antijenler yüzeye hareket eder. Kemokinlerin de etkisi ile ANCA'nın ortama yönelmesi ve ANCA ile spesifik antijeni arasında ilişki sonucu oksijen metabolitleri üretimi, degranülasyon ve bunların sonucunda endotel hasarı oluşur. Degranülasyon nötrofil aktivasyonunun bir göstergesidir [11, 53].

ANCA pozitif hastalıklarda etkilenen organlardan bağımsız olarak ortak patolojik özellikler vardır. Bunlar; fibrinoid nekroz, nötrofil birikimi ve damar duvar nekrozudur. Fibrinoid nekroz ANCA ile birlikteki vaskülitlerde ortak karakteristik özelliktir [11, 67].

ANCA ilişkili vaskülitte; in vitro deneylerde TNF-α'nın patolojik rolü ile ilgili yapılmış bir çok çalışma bulunmaktadır. ANCA tarafından indüklenen nötrofil aktivasyonu TNF-α etkisi ile artmakta ve oksijen radikallerin salınması ve toksik granüllerin artışına neden olmaktadır [54-58]. HUVEC TNF-α ile inkübe edildiğinde nötrofillerin yüzeyinde MPO ve PR3 varlığı artmaktadır [56, 57, 59, 60]. Böylece ANCA'nın antijenlere ve endotele bağlanmasını sağlamaktadır [61].

pANCA ve cANCA hastalık patogenezinde fonksiyonel ve patolojik farklılıklar göstermektedirler [62]. Bu farklılıkların mekanizması bilinmemektedir. ANCA hedef antijeninin (MPO ve PR3) hem fiziksel hem de yapısal karekterlerinin vurgulanması önemlidir. MPO yüksek katyonik yapı gösteren 140 kDa homodimer izoelektrik noktası (pI) 1O,2, PR3 30 kDa protein pI'sı 7,7'dir [63]. Salınmış MPO ve PR3 endotel hücre yüzeyine bağlanmkta ve farklı etkiler göstermektedir. PR3'ün endotel hücre tarafından tutulması apoptoza neden olurken MPO serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır [64].

Sıklıkla programlı hücre ölümüne eşdeğer olarak kabul edilen apoptozis, çok hücreli organizmaların genetik şifrelerinde bulunan "hücre intiharı" programlarını gelişimsel ve/veya çevresel uyarımlarla etkinleşmesi sonucu ortaya çıkan, gelişim ve farklılaşma sırasında organ yapısı ve işlevlerinin aktif değişimini sağlayan fizyolojik hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır [65].

Değişik hücre tiplerinde farklı çevresel uyarılar apoptozisi başlatabilir. Hemen hemen tüm hücrelerde iyonizan radyasyon, inflamatuar sitokinler, immünoregülatuar sitokinler, oksidatif stres, redoks potansiyelinde değişiklikler, büyüme faktörleri veya trofik faktörlerin ortamdan kaybolması, mekanik stres apoptozisi başlatabilmektedir [65, 89, 90]. Apoptozis reaktif oksijen radikalleri ile uyarılabilir. Antioksidan enzimlerin azalması, apoptozisin uyarılmasından sorumlu hücresel reaktif oksijen radikallerin artışına neden olabilir [89].

Normal koşullarda, kanın akıcı konumda tutulabilmesi ve koagülasyonun inhibisyonu için sağlam bir endotel gereklidir. Endotel zararlandığında antikoagülan fonksiyonları çabucak azalarak prokoagülan özellik kazanır. Ayrıca, doku hasarı veya vasküler patoloji endotel altındaki matriksin açığa çıkmasına, trombositlerin bağlanarak aktive olması ile prokoagülant etkinin ortaya çıkmasına neden olur [66].

ANCA ile ilişkili hastalıklar göz ardı edilebilecek klinik bulgulardan ağır hastalık tablolarına, sadece böbrek tutulumundan, multisistem tutuluma, spontan remisyona uğrayan vakalardan immünosüpresif tedaviye dirençli durumlara kadar değişen klinik tablolar oluşturabilir [11].

AEHA; WG, Kawasaki hastalığı, Behçet hastalğı, Takayasu arteriti, MPA gibi vasülit formlarının bulunduğu inflamatuar hastalıklarda ve SLE, RA gibi romatizmal hastalıklarda rapor edilmiştir. WG ve MPA'da yaygınlığı %55-80 arasında değişmektedir [32].

AEHA'nun hedefi olan antijenik yapılar endoteliyal hücrelerin dış yüzeylerinde yer alırlar ve böylece dolaşımda bulunan antikorlar tarafından kolaylıkla tanınabilirler [36].

AEHA varlığının, kompleman aktivasyonuna veya antikora bağlı endoteliyal hücre sitotoksitesinde etkisi olduğu gösterilmiştir [43-45].

AEHA-IgG'nin $F(ab)_2$ kısmı ile endotel hücrelerine bağlanır ve düşük afinite gösterir [37-42]. Antikorun bu özelliği immünokimyasal teknikle gösterilmiş olup aynı zamanda etkilenmiş damar duvarlarındaki hücrelerin içinde antikor depositleri bulunmadığı saptanmıştır [39]. AEHA, fibroblastlar gibi çeşitli hücre tipleri ile çapraz reaksiyon gösterebilir [38].

AEHA varlığı vasküler yapının zararı desteklemektedir. AEHA adezyon moleküllerinin; E-selektin, ICAM-1, VACM-1'in sitokin ve kemokinlerden; IL-1, IL-6, IL-18, MCP-1' in ekspresyonunu artırmaktadır [47, 48].

AEHA endotel hücreler üzerinde prokoagülant durumu desteklemektedir. Bunu IL-1 ve TNF ile yapmaktadır. Doku faktörlerinin üretimin artırmaktadır. Bu doku faktörleri, dışsal koagülasyon yolun başlatıcısı olan von Willebrand Faktör (vWF)'dir ve bu prosesi düzenlemektedir [91].

AEHA titresi ile hastalığın aktivasyonu arasındaki ilişki, AEHA'nun damar duvar hasarında önemli ölçülerde etkili olduğu görüşünü desteklemektedir [39-46].

WG hastalarından izole edilmiş IgG AEHA endotel hücrelerinde anti-PR3 absorbsiyonunu etkilememektedir. Anti-PR3 pozitifliği olan hastalarda AEHA saptanmadığı durumlarda vaskülit görülme sıklığının az olduğu, ancak AEHA varlığının vaskülit görülme sıklığını arttırdığı gösterilmiştir [69]. Ayrıca AEHA pozitif, ANCA negatif WG hastalarında hastalığının klinik açıdan tekrarlama riski yüksektir [39, 48].

3. MATERYAL-METOT

3.1. Deney Protokolü

Çalışma; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 22 Ekim 2007 tarih ve 338 sayılı kararı ile onaylanmış olup, hastaların çalışma hakkında bilgilendirilmesinin ardından her hasta tarafından Bilgilendirilmiş Olur Formu doldurularak imzalanmıştır.

AEHA ile ANCA otoantikor ilişkisinin araştırılmasıyla amacıyla WG tanısı almış 2 hasta, Behçet Sendromu tanısı almış 16 hasta ve vaskülit tanısı ile izlenen periferik damar hastalıklarına sahip 82 hasta ile kontrol grubu olarak 100 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Hastalardan ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinin 3000xg'de 15 dakika santrifüj edilmesi ile elde edilen serumlar -80ºC'de saklandı. Çalışma günü oda sıcaklığına getirilen serumlarda, İndirekt İmmünfloresan Yöntemi (IFA) ile ANCA ile AEHA varlığı araştırıldı.

AEHA varlığının kalitatif ve kantitatif olarak saptanmasında her bir biochip içinde insan umblikal kord (HUVEC) ve maymun düz kas hücrelerini içeren slaytlar (Euroimmun, FB 1960-1005-2, Almanya) ve ANCA varlığının saptanması için cANCA, pANCA, MPO ayrımının ve aynı zamanda ANA pozitifliğinin değerlendirilebilmesini sağlayan Hep2 ve karaciğer kesitleri içeren slaytlar (Euroimmun, Granulocyte Mosaic, Almanya) kullanılmıştır.

Serum örnekleri 1/10 oranında Tween 20 içeren fosfat buffer solüsyonu ile seyreltildi ve her bir kuyuda 25µl olacak şekilde hazırlanıp ANCA ve AEHA tespitinde kullanılan slaytlar kapatıldı ve 30 dakika beklendi. Slaytlar Tween 20 içeren fosfat buffer solüsyonu ile yıkandıktan sonra, bağlanmış antikor varlığının saptanması için FITC içeren insan IgG'ye karşı hazırlanmış floresan boya damlatıldı ve 30 dakika karanlıkta bekletildi. Süre bitiminde slaytlar tekrar yıkandıktan sonra gliserol (pH 8,4) damlatılarak lam ile kapatıldı. Antikor varlığı floresan mikroskopta değerlendirildi.

3. 2. İndirekt İmmünfloresan Yöntemi

Eldeki bazı antijenlere karşı oluşmuş ve spesifik antijeni ile birleşmiş antikor varlığının saptanmasında kullanılır.

Bilinen antijenden hazırlanan ve tutturulan antijen preparatı üzerine, antikor aranacak seyreltilmiş insan serumu eklenir ve bir süre sonra yıkanır. Antijen, serumda kendine uygun antikoru varsa onunla birleşmiş ve yıkama ile ayrılmamıştır. Ancak onu bu hali ile görmek olanaksızdır. Görünür hale gelmesi için preparata floresanla işaretlenmiş insan globulin anti serumundan damlatılır. Floresanla işaretlenmiş antiglobulin, preparattaki antijene bağlanmış olan antikora yani insan globulinine bağlanıp onu floresan mikroskobunda görünür hale getirecektir. Eğer serumda preparattaki antijene uygun antikor yoksa antijene bağlanmayacak ve floresanla işaretlenmiş insan anti globulini ile birleşme olmayacağından floresan alınmayacaktır [3].

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Hasta ve kontrol grubu; ANCA, AEHA varlığı ve bu iki antikorun birlikte pozitifliği açısından değerlendirilmiştir. Verilerin karşılaştırılmasında χ (ki) kare testi kullanılmıştır. $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Değerlendirme sonucunda iki grup arasında her iki antikor varlığı ve birliktelikleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. p değerleri ve olgu kontrol çalışmalarında, olgularda etkili olduğu düşünülen etkenin bulunmasının bulunmamasına oranla hastalığa yakalanma riskini kaç kat artırdığını/azalttığını gösteren OR (tahmini rölatif risk) [93] değerleri aşağıdaki tablolarda belirtilmiştir.

4.1. ANCA Pozitifliği

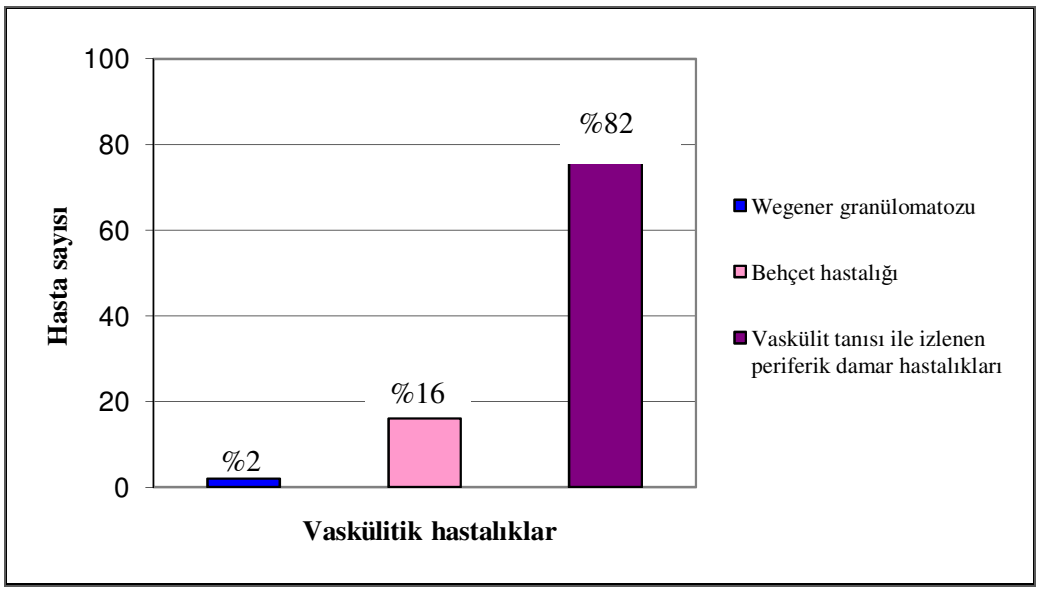
İmmünfloresan teknikle değerlendirilen çalışma sonuçlarında, vaskülit tanısı almış hasta grubunda 40 kişi, sağlıklı kontrol grubunda 3 kişide ANCA pozitifliği saptanmıştır. Çalışma sonuçları hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, hasta grubunda, ANCA varlığının ($p< 0,00001$, OR: 21,556), kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğun saptanmıştır (Çizelge 4.1.).

4.2. AEHA Pozitifliği

İmmünfloresan teknikle değerlendirilen çalışma sonuçlarında, vaskülit tanısı almış hasta grubunda 55 kişi, sağlıklı kontrol grubunda 24 kişide AEHA pozitifliği saptanmıştır. Çalışma sonuçları hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, hasta grubunda AEHA varlığının ($p<0,001$, OR: 3,870), kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğun saptanmıştır (Çizelge 4.2.).

4.3. ANCA ve AEHA Pozitifliği

İmmünfloresan teknikle değerlendirilen çalışma sonuçlarında, vaskülit tanısı almış hasta grubunda 19 kişide, sağlıklı kontrol grubunda 1 kişide ANCA ve AEHA pozitifliği birlikteliği saptanmıştır. Çalışma sonuçları hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, hasta grubunda AEHA ve ANCA birlikte varlığının ($p<0,00001$, OR: 23,22) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğun saptanmıştır (Çizelge 4.5., Şekil 4.3.).



Şekil 4.1. Çalışmaya katılan hastaların vaskülit tanılarına göre dağılımı

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubunda ANCA pozitifliği

Hasta Grubu n=100 (%)	Kontrol Grubu n=100 (%)	p	OR
40 (%40)	3 (%3)	p = 0,00001	21,556

* Odds ratio oranı

Çizelge 4.2. Hasta ve kontrol grubunda AEHA pozitifliği

Hasta Grubu n = 100 (%)	Kontrol Grubu n = 100 (%)	p	OR
55 (%55)	24 (%24)	p = 0,001	3,870

* Odds ratio oranı

Çizelge 4.3**.** Hasta grubunda AEHA pozitifliği düzeyleri

Hasta Grubu n = 100 (%)	1 Pozitif	2 Pozitif	3 Pozitif	4 Pozitif
55 (%55)	5	9	21	20

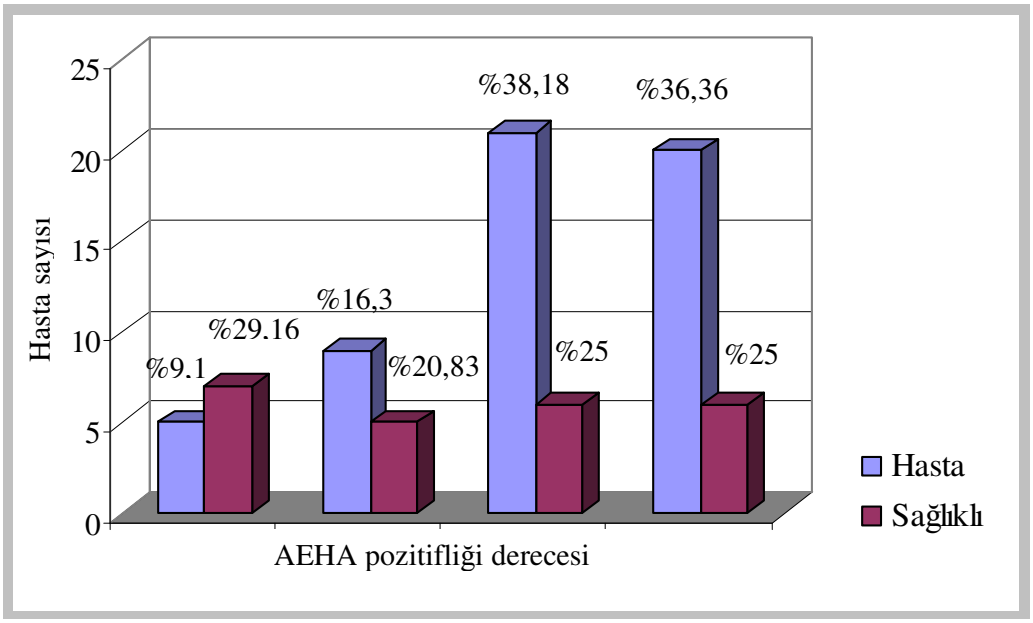
Çizelge 4.4**.** Kontrol grubunda AEHA pozitifliği düzeyleri

Kontrol Grubu n = 100 (%)	1 Pozitif	2 Pozitif	3 Pozitif	4 Pozitif
24 (%24)	7	5	6	6

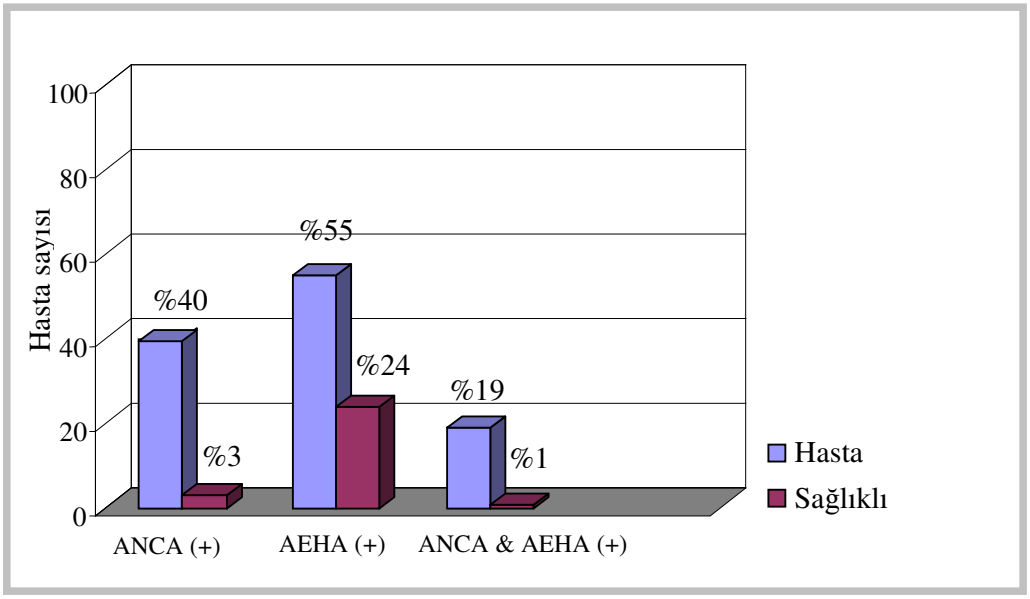
Çizelge 4.5**.** Hasta ve kontrol grubunda ANCA ile birlikte AEHA pozitifliği

Hasta Grubu n=100(%)	Kontrol Grubu n=100 (%)	p	OR
19 (%19)	1 (%1)	p= 0,00001	23,222

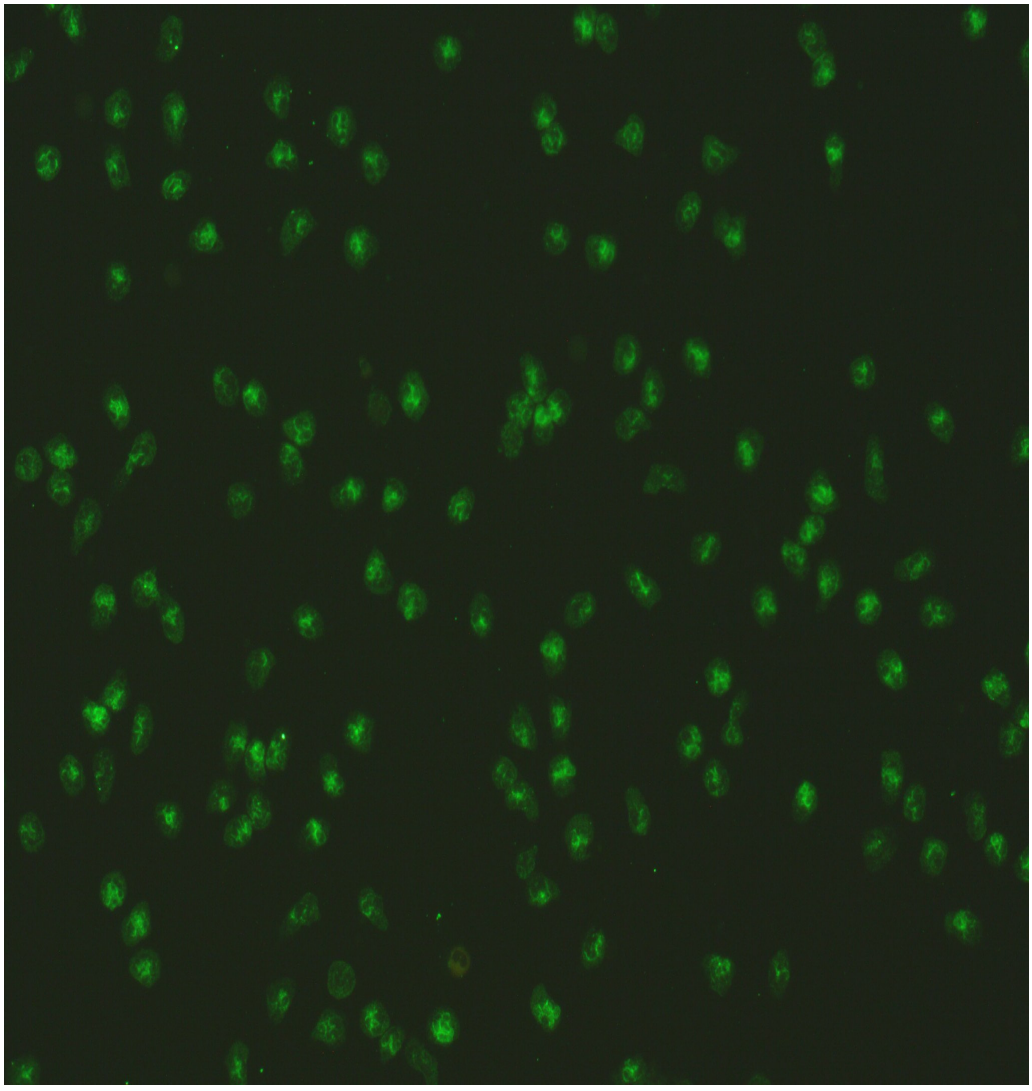
* Odds ratio oranı



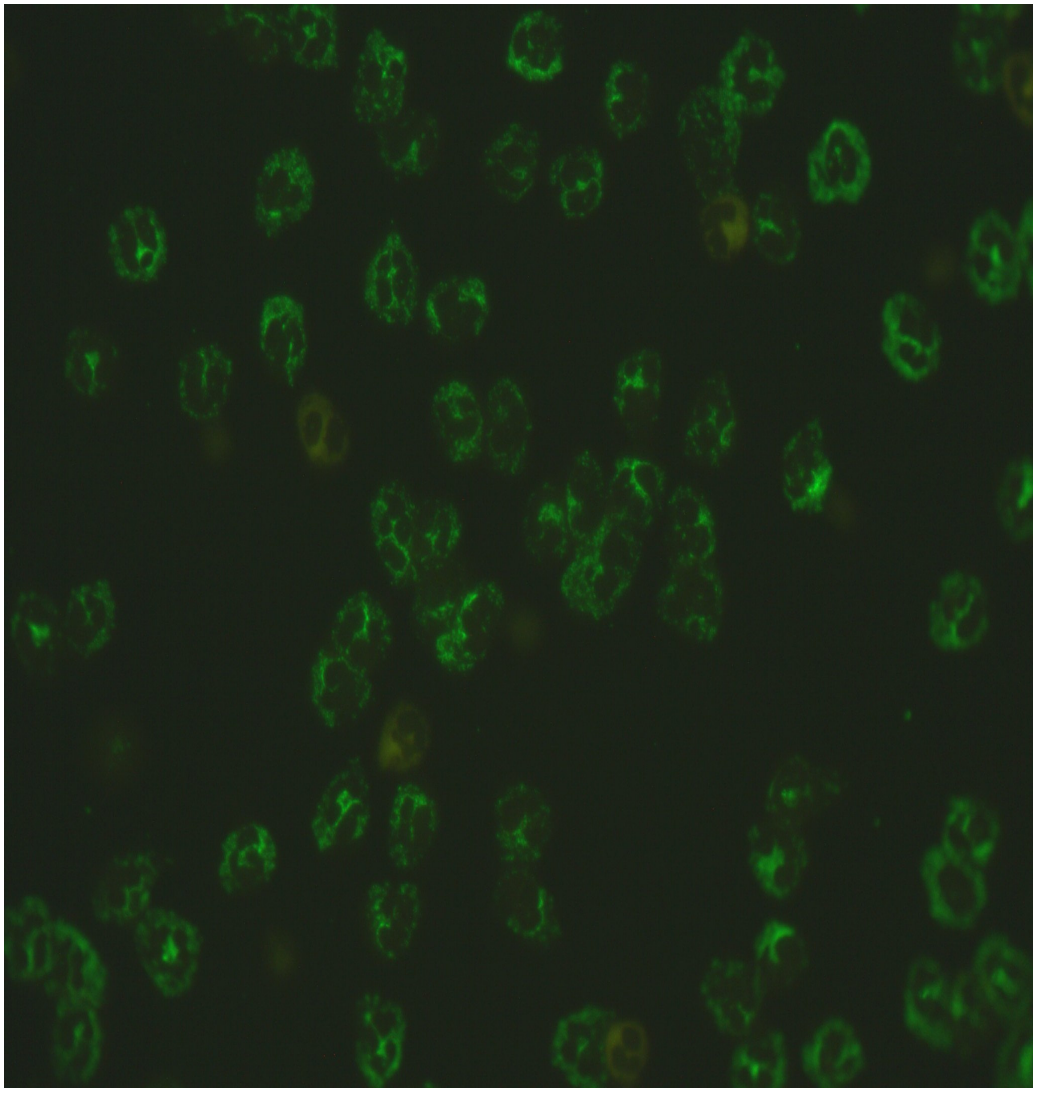
Şekil 4.2**.** Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda AEHA pozitifliği düzeyleri



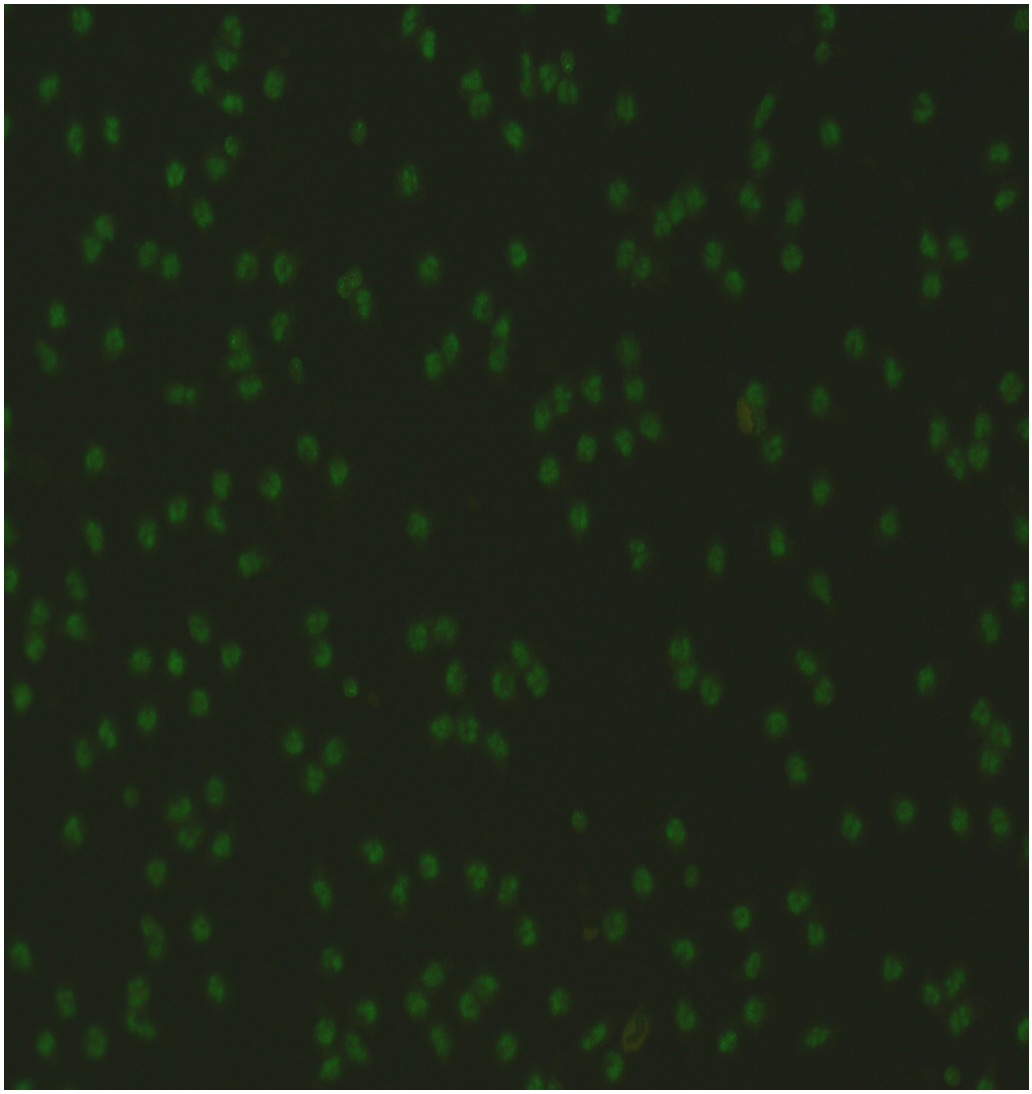
Şekil 4.3**.** Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda ANCA, AEHA ve her ikisinin birlikte pozitiflik yüzdeleri



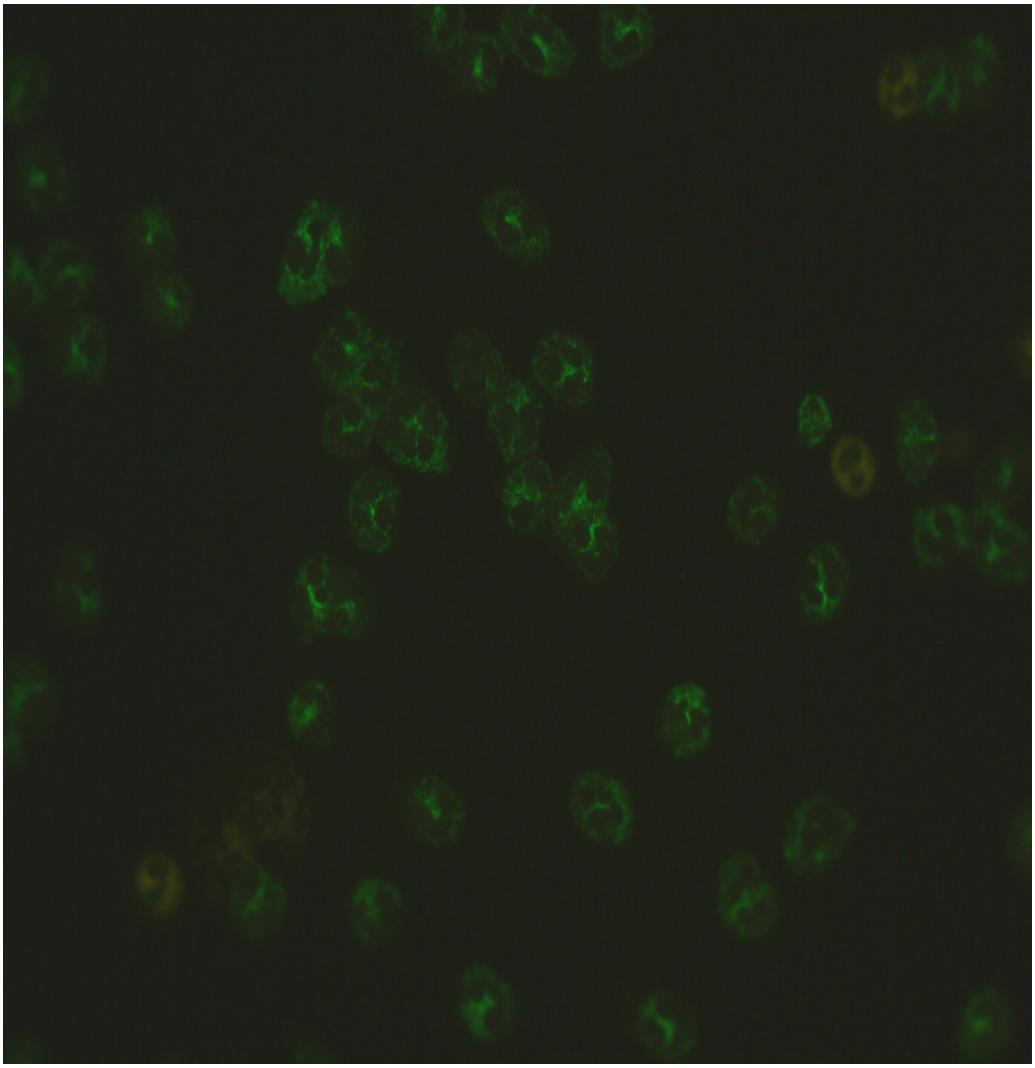
Resim 4.1. Çalışmamızda immünfloresan mikroskopla saptanmış, ethanol fikse granülositlerde cANCA pozitifliği görüntüsü



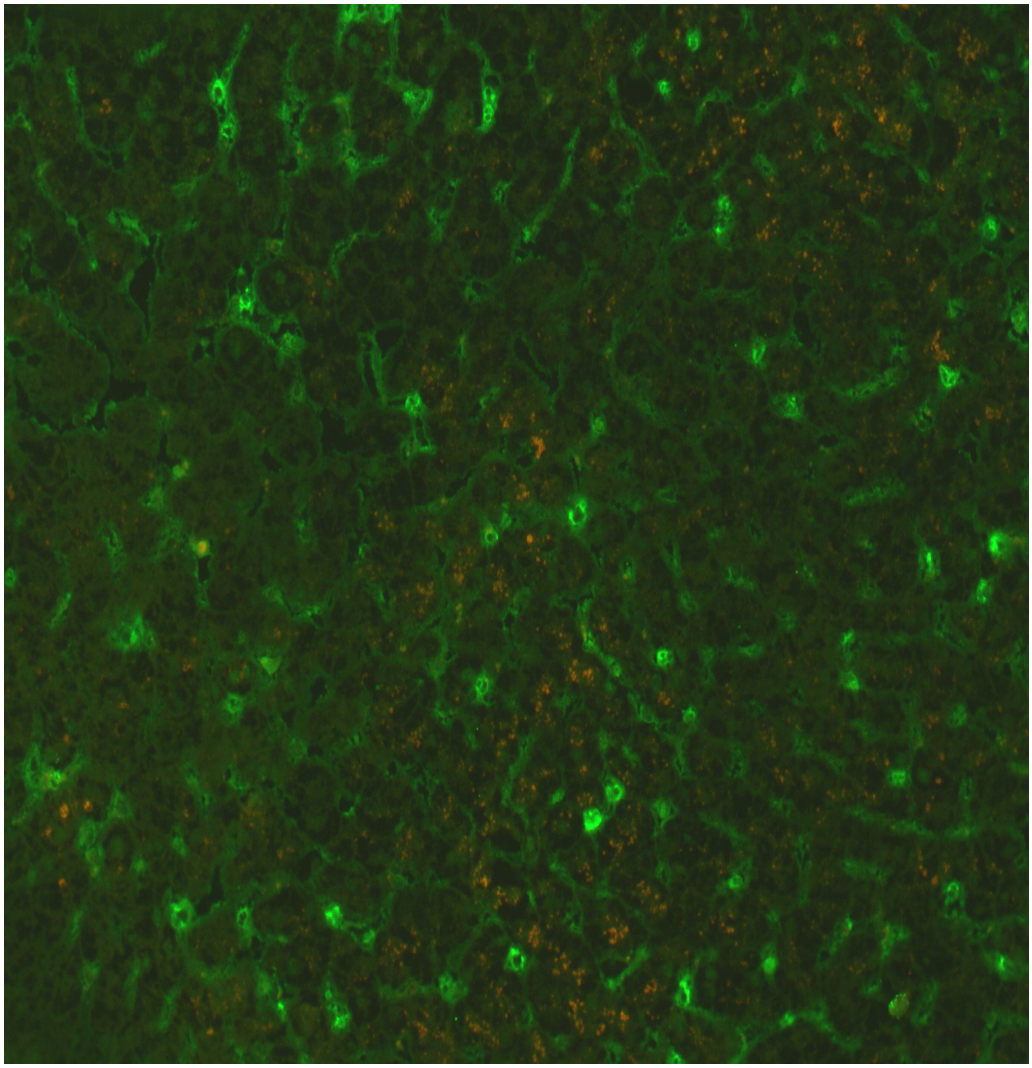
Resim 4.2. Çalışmamızda immünfloresan mikroskopla saptanmış, formalin fikse granülositlerde cANCA pozitifliği görüntüsü



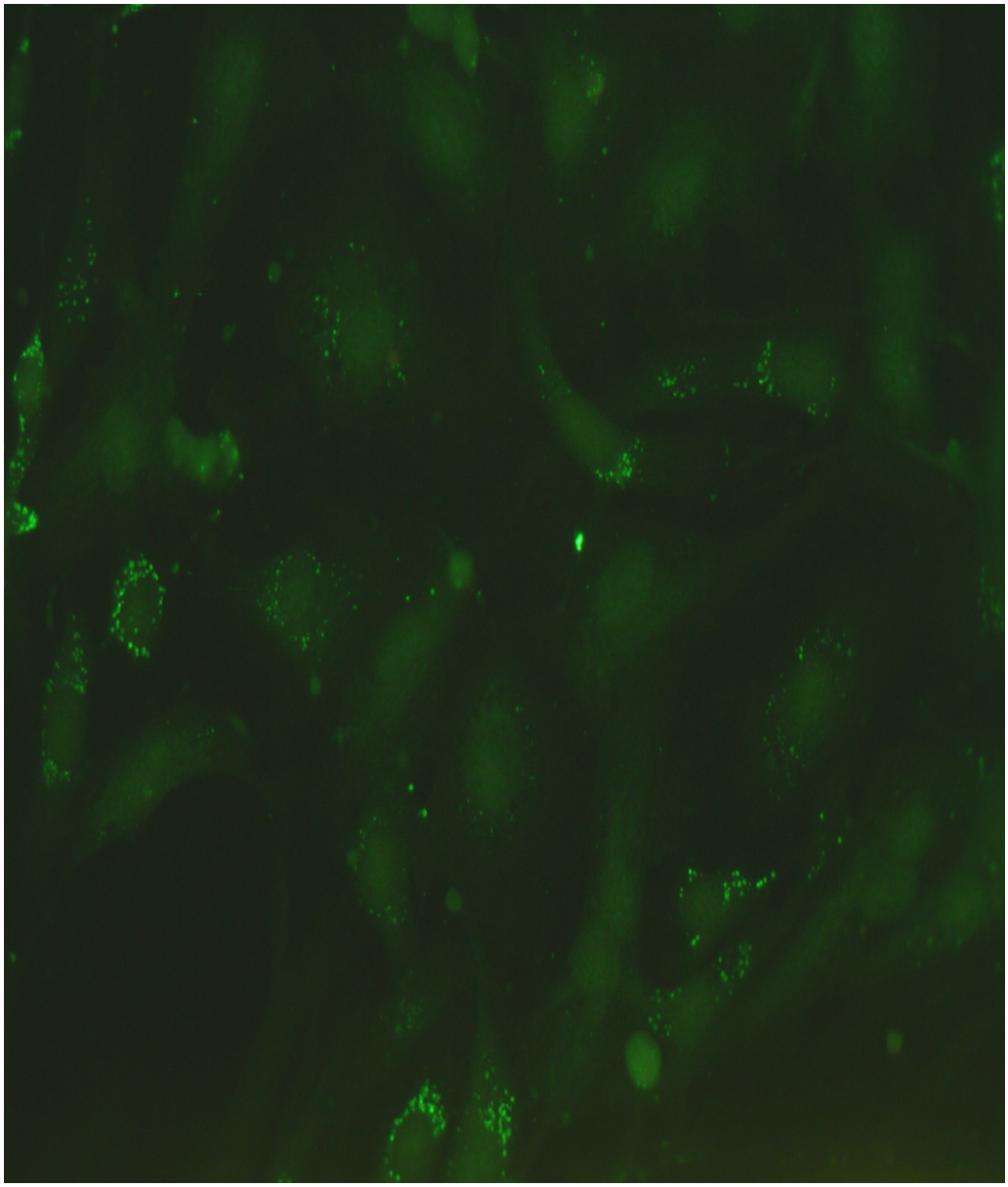
Resim 4.3. Çalışmamızda immünfloresan mikroskopla saptanmış, ethanol fiske granülositlerde pANCA pozitifliği görüntüsü



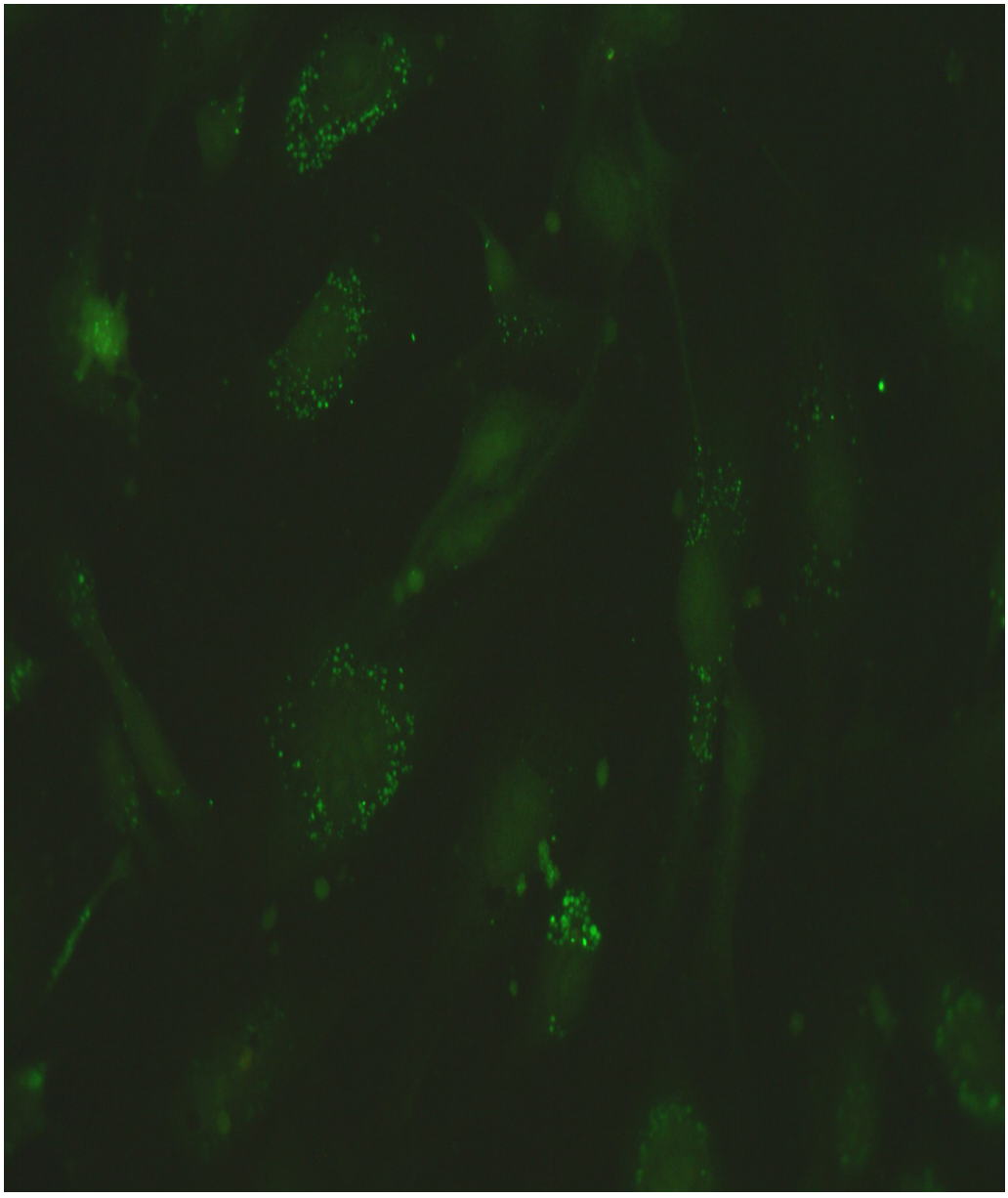
Resim 4.4. Çalışmamızda immünfloresan mikroskopla saptanmış, formalin fiske granülositlerde pANCA pozitifliği görüntüsü



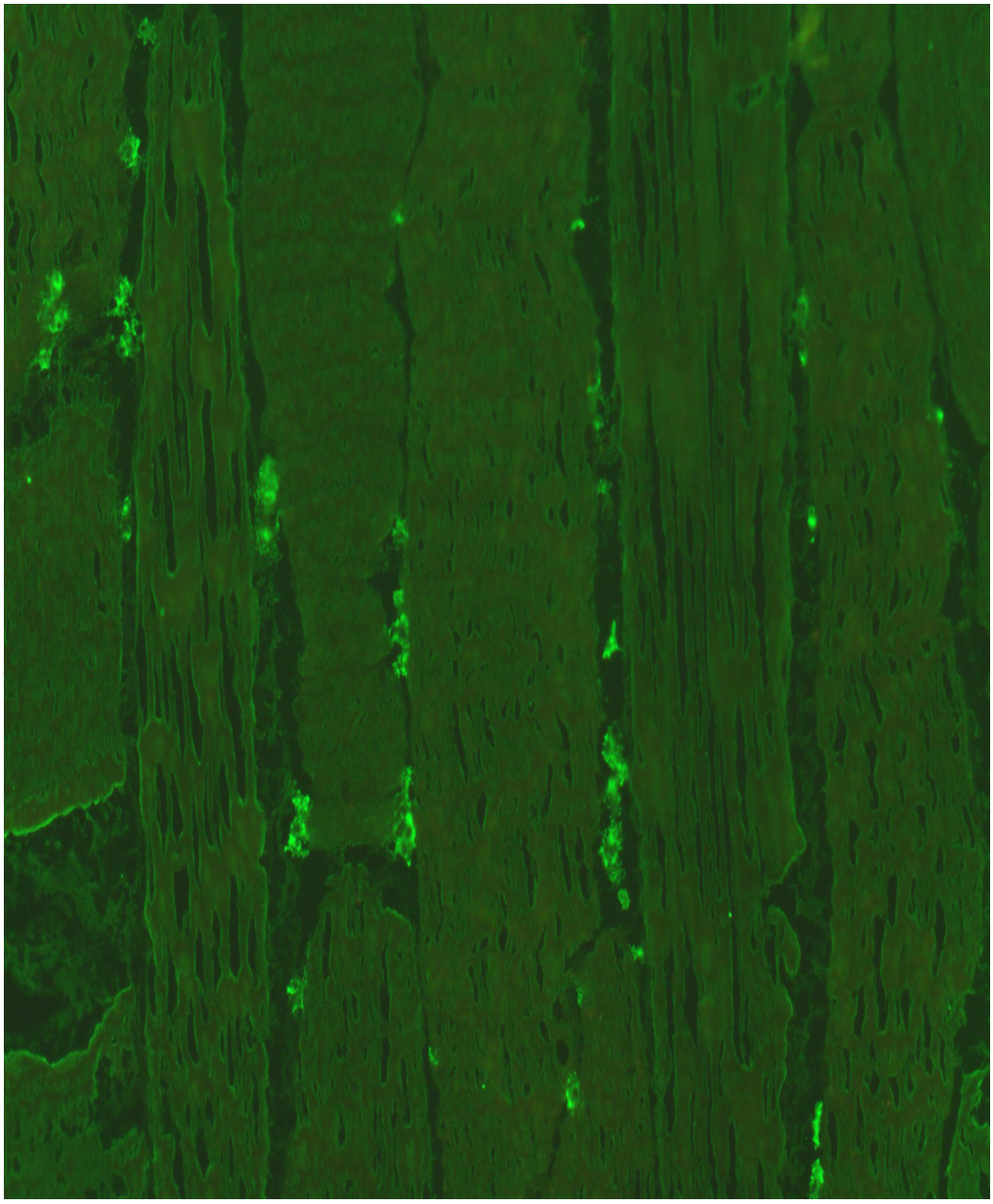
Resim 4.5.Çalışmamızda karaciğer kesitinde, immünfloresan mikroskopla saptanmış ANCA pozitifliğinde sinüzoidal boşluklarda granülositlerin görüntüsü



Resim.4.6. Çalışmamızda HUVEC hücrelerinde immünfloresan mikroskopla saptanmış, AEHA pozitifliği görüntüsü



Resim 4.7. Çalışmamızda HUVEC hücrelerinde, immünfloresan mikroskopla saptanmış AEHA pozitifliği görüntüsü



Resim 4.8**.** Çalışmamızda Primat düz kas hücrelerinde, immünfloresan mikroskopla saptanmış AEHA pozitifliği görüntüsü

5. SONUÇ

Vaskülitler, damar duvarının inflamasyonu sonucu gelişen hastalıklardır. Karakteristik özellikleri bazı protein gibi yapılara karşı oluşan IgG yapısındaki otoantikorların (ANCA, AEHA) pozitifliğinin saptanmasıdır. ANCA'lar monositlerin lizozomları ve nötrofillerin primer granüllerinde bulunan sitoplazmik antijenlere karşı oluşan antikorlardır [10].

ANCA ile ilişkili vaskülitlerde otoantikorların meydana gelmesi, azalmış olan self (öz) toleransa, diğer bir deyişle supresör lenfositlerdeki fonksiyon bozukluğuna bağlanmıştır [93, 94].

ANCA pozitif bir kişide vasküler inflamasyon potansiyeli vardır. Ancak doku harabiyeti için bu yeterli değildir. Viral enfeksiyon gibi lokal ya da dolaşan sitokin düzeyini artıran nonspesifik bir olaya ihtiyaç vardır. Bu nonspesifik olayın sitokin düzeyini artırması adezyon molekülleri ile nötrofillerin endotele adezyonunu sağlar ve sonuç olarak antijenler yüzeye hareket eder. Kemokinlerin de etkisi ile ANCA'nın ortama yönelmesi ve ANCA ile spesifik antijeni arasında ilişki sonucu oksijen metabolitleri üretimi, degranülasyon ve bunların sonucunda endotel hasarı oluşur. Degranülasyon nötrofil aktivasyonunun bir göstergesidir [11, 53].

AEHA varlığının, kompleman aktivasyonuna veya antikora bağlı endoteliyal hücre sitotoksitesinde etkisi olduğu gösterilmiştir [43-45].

AEHA; WG, Kawasaki hastalığı, Behçet hastalığı, Takayasu arteriti, MPA gibi vaskülit formlarının bulunduğu inflamatuar hastalıklarda ve SLE, RA gibi romatizmal hastalıklarda rapor edilmiştir. WG ve MPA'da yaygınlığı %55-80 arasında değişmektedir [32].

Sağlıklı insanlarda da AEHA varlığı tespit edilmiştir [33-35].

Primer vaskülitli hastalarda Gobel ve arkadaşları [95] ile del Papa ve arkadaşlarının [96] yaptığı çalışmalarda AEHA titresinin hastalığın aktivasyonunu ile korelasyon gösterdiğini göstermişlerdir.

AEHA'nın patojenik rolü ile ilgili yapılan bir çalışmada, insandan alınmış IgG AEHA fareye aktarılmış ve farede akciğer ve böbrek vasküliti geliştiği gösterilmiştir [39, 48, 97].

ANCA pozitifliği WG hastalarında %95, sistemik vaskülitlerde %84 sensitivitesi ile tanı açısından önemlidir. Hastalığın tekrarlamasından önce ANCA titresinin yükselmesi, önceden fark edilmesi açısından önemlidir. ANCA tayini primer nekrotizan kresentik glomerülonefritlerin tanı ve izleniminde de kullanılması önerilen önemli bir tetkiktir [68].

Behçet hastalığında, ANCA pozitifliğinin saptanma oranının düşük olduğunu ve yeterli tanı kriteri olarak değerlendirilemeyeceğini belirten çalışmalar vardır [98]. Konca ve arkadaşlarının [99] Behçet hastalarında ANCA varlığnı araştırdıkları çalışmalarında pozitif değerlere rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda Behçet hastalığı tanısı almış 16 kişiden birinde ANCA pozitif olarak saptanmıştır.

Behçet hastalığında AEHA %17 - %50 arasında pozitiftir. AEHA bulunan hastalarda %80, bulunmayanlarda %33 oranında aktif hastalık gözlenmiştir. AEHA vasküler hasarın primer sorumlusu olabileceği gibi, vasküler inflamasyon sırasında ortaya çıkan yeni determinantlara karşı da oluşabilir [100-102]. Bizim çalışmamızda Behçet hastalığı tanısı almış 16 kişiden 6'sı (%37,5) nin AEHA pozitif olarak saptanmıştır.

Ferraro ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, ANCA pozitif WG ve MPA'lı hastaların % 30' unda AEHA'nın pozitif bulunduğunu göstermişlerdir [94]. Yaptığımız çalışmada WG tanısı almış 2 kişiden 2'sinde ANCA, 1 kişide de AEHA pozitifliği saptanmıştır.

WG hastalarından izole edilmiş AEHA IgG endotel hücrelerine anti-PR3 absorbsiyonunu etkilememektedir. Anti-PR3 pozitifliği olan hastalarda AEHA saptanmadığı durumlarda vaskülit görülme sıklığının az olduğu, ancak AEHA varlığının vaskülit görülme sıklığını arttırdığı gösterilmiştir [69]. Ayrıca AEHA pozitif, ANCA negatif WG hastalarında hastalığının klinik açıdan tekrarlama riski yüksektir [39, 48].

AEHA varlığının vaskülit kökenli hastalıklarda inflamatuar süreci hızlandırdığı ve intimal hasara yol açtığını gösteren çalışmalar yapılmıştır. AEHA varlığının ANCA pozitifliğinden önce saptanabilir olması, inflamasyonun hasar oluşturmadan önce engellenmesine yardımcı olabilir.

AEHA'ların damar duvar yapısının bozukluğu ile seyreden birçok hastalıkla birliktelikleri gösterilmiştir. AEHA ile ANCA ilişkisi araştırılırken, hem AEHA varlığının endotel yapısını bozarak antijenleri açığa çıkarabileceği ve kemokin salınımını da artırarak bölgeye ANCA'yı çekebileceği, hem de ANCA etkisi ile bozulmuş olan endotel hücre yüzeylerinde bulunan antijenlere karşı AEHA oluşabileceği düşüncesi ile yola çıkılarak çalışma yapılmıştır.

İmmünfloresan teknikle değerlendirilen çalışma sonuçlarında vaskülit tanısı almış hasta grubunda 40 kişide ANCA, 55 kişide AEHA pozitifliği; sağlıklı kontrol grubunda da 3 kişide ANCA, 24 kişide AEHA pozitifliği saptanmıştır. Hasta grubunda 19 kişide, sağlıklı kontrol grubunda da 1 kişide ANCA ve AEHA pozitifliği birlikteliği saptanmıştır.

Çalışma sonuçları hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, hasta grubunda AEHA varlığının (p: 0,001, OR: 3,870), ANCA varlığının (p: 0,00001, OR: 21,556), AEHA ve ANCA birlikte varlığının (p: 0,00001, OR: 23,22) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğunu göstermektedir.

Bu sonuçlara dayanarak; AEHA varlığının ve ANCA varlığının tek başlarına hastalık için bir risk faktörü olabileceği, bu iki antikorun birlikteliğinin çok nadir olduğu

ancak birlikte bulunduklarında da hastalık oluşma riskini çok daha fazla arttırdıkları söylenebilir. ANCA varlığının ve titresinin tedavi ile ilişkili olması; hastalığın progresyonunun değerlendirilmesi açısından oldukça önemli iken, AEHA varlığı şimdiye kadar bilinen herhangi bir etkenle değişmemektedir. AEHA varlığının saptanmış olması damar yapısını ilgilendiren bir çok hastalık için prediktif değer taşıyabilir ve AEHA varlığının saptanmasının vaskülit tanısında en az ANCA kadar değerli olduğunu ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

1. Camcıoğlu Y., İmmün Sisteme Giriş, Temel İmmünoloji İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları, ***İstanbul Kitapevi***, İstanbul, 1-30 (2007)

2. Çetin ET., İmmünoloji, 1. ed. ***İstanbul: Bayda Yayınevi***, 1-235 (1981).

3. Bilgehan Hakkı, Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, **Barış Yayınları** ***Fakülteler Kitapevi***, İzmir, 11:361-391 (2005).

4. Moreland LW, Gay RE, Gay S, Collagen autoantibodies in patients with vasculitis and systemic lupus erythematosus. ***Clin Immunol Immunopathol***., 60(3):412–418 (1991).

5. Direskeneli H, D'Cruz D, Khamashta MA, Hughes GR Autoantibodies against endothelial cells, extracellular matrix, and human collagen type IV patients with systemic vasculitis. ***Clin Immunol Immunopathol***.,70(3):206–210 (1994).

6. Guilpain P, Servettaz A, Tamby MC, Chanseaud Y, Tamas N, De la Pena-Lefebvre PG et al., A combined SDS-PAGE and proteomics approach to identify target autoantigens in healthy individuals and patients with autoimmune diseases. ***Ann N YAcad Sci***., 1109:538–549 (2007).

7. Garcia de la Pena-Lefebvre P, Chanseaud Y, Tamby MC, Reinbolt J, Batteux F, Allanore Y et al. IgG reactivity with a 100-kDa tissue and endothelial cell antigen identified as topoisomerase I distinguishes between limited and diffuse systemic sclerosis patients. ***Clin Immunol***.,111(3):241–251 (2004).

8. Servettaz A, Tamby MC, Guilpain P, Reinbolt J, Garcia de la Pena-Lefebvre P, Allanore Y et al. Anti-endothelial cell antibodies from patients with limited cutaneous systemic sclerosis bind to centromeric protein B (CENP-B). ***Clin Immunol***., 120 (2):212–219 (2006).

9. Lesavre P. ANCA; Diversity and Clinical Applications. ***Advances in Nephrology***, 22: 237-267 (1993).

10. Gene V, Robert M, Gay JR. William J. Koopman, Arthritis and Allied Conditions, ***Textbook of Rhematology***, 14th Edition, 2:1658-1660. (2000).

11. Wolfgang L. ANCA Associated Vasculitis Immunological and Clinical Aspects, New York, ***Gross Plenum Pres***, 109-113 (1993).

12. Chakravaty K, Scott DGI. Systemic vasculitis. ***EULAR Bulletin***, 4:109-123 (1992).

13. Lie JT. Nomenclature and classification of vasculitis (Editorial). ***Arthritis Rheum***., 37:181-186 (1994).

14. Sundy JS, Haynes BF. Pathogenic mechanisms of vessel damage in vasculitic syndromes. ***Rheum Dis Clin North Amer***., 21(4):861-883 (1995).

15. Robertson CR, McCollum RM. Changing concepts in pathophysiology on vasculitides. ***Curr Opin Rheumatol***, 6:3-10 (1994).

16. Doğanavşargil E. Sistemik vaskülitler: Etiopatogenezi, tanı ve tedavi açısından genel yaklaşım. In: Gümüşdiş G, Doğanavşargil E eds. ***Klinik Romatoloji, EÜTF Romatoloji Bilim Dalı yayınları***, İzmir, 371-422 (1999).

17. Savage COS, Cooke SP. The role of endothelium in systemic vasculitis. ***J Autoimmunity***, 6:237-249 (1993).

18. Savage COS, Harper L, Ader D. Primary systemic vasculitis. ***Lancet***, 349:553 - 557 (1997).

19. Erdogan D. ve ark. , Özel Histoloji , ***Hatipoğlu Yayınevi***, Ankara, 17-18 (2007).

20. Cid MC. Endothelial cell biology, perivascular inflammation, and vasculitis. ***Cleve Clin J Med***., 69 (2):1145-1149 (2002).

21. Shireman PK, Pearce WH. Endothelial cell function: biologic and physiologic functions in health and disease. ***AJR Am J Roentgenol***, 166:7-13 (1996).

22. Bacon P. Endothelial cell dysfunction in systemic vasculitis: new developments and therapeutic prospects. ***Curr Opin Rheumatol***, 17:49-45 (2005).

23. Goligorsky MS. Endothelial cell dysfunction: can't live with it, how to live without it. ***Am J Physiol Renal Physiol***, 288:871-880 (2005).

24. Ribatti D, Nico B, Vacca A, roncali L and Dammacco F. Endothelial cell heterogeneity and organ specificity. ***J Hematother Stem Cell Res***., 11:81-90 (2002).

25. Garlanda C, Dejana E. Heterogeneity of endothelial cells. Specific markers. ***Arterioscler Thromb Vasc Biol.***, 17:1193-1202 (1997).

26. Holmen C, Stjarne P and Sumitran-Holgersson S. Heterogeneity of human nasal vascular sinusoidal endothelial cells from the inferior turbinate. ***Am J Respir Cell Mol Biol***., 32:18-27 (2005).

27. Murphy HS, Bakopoulos N, Dame MK, Varani J, Ward PA. Heterogeneity of vascular endothelial cells: differences in susceptibility to neutrophil-mediated injury. ***Microvasc Res***., 56:203-211 (1998).

28. Aird WC. Endothelial cell heterogeneity. ***Crit Care Med***., 31:221-230 (2003).

29. Cerilli J, Brasile L. Endothelial cell alloantigens. ***Transplant Proc***.,12:37-42 (1980).

30. Heeringa P, Huugen D, Tervaert JW: Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies and leukocyte-endothelial interactions: a sticky connection? ***Trends Immunol***, 26:561-564 (2005).

31. Jenette JC, Xiao H, Falk RJ: Pathogenesis of vascular inflammation by anti-neutrophil cytoplasmic antibodies. ***J Am Soc Nephrol***, 17:1235-1242 (2006).

32. Shoenfeld Y. Classification of anti-endothelial cell antibodies into antibodies against microvascular and macrovascular endothelial cells: the pathogenic and diagnostic implications. ***Cleve Clin J Med***., 69 (2):65-67 (2002).

33. Ronda N, Haury M, Nobrega A, Kaveri SV, Coutinho A, Kazatchkine MD Analysis of natural and disease-associated autoantibody repertoires: anti-endothelial cell IgG autoantibody activity in the serum of healthy individuals and patients with systemic lupus erythematosus. ***Int Immunol***, 6(11):1651–1660 (1994).

34. Ronda N, Leonardi S, Orlandini G, Gatti R, Bellosta S, Bernini F et al Natural anti-endothelial cell antibodies (AECA). ***J Autoimmun***, 13(1):121–127 (1999).

35. Mendonca LL, Khamashta MA, Cuadrado MJ, Bertolaccini ML, Hughes GR Natural immune response involving antiendothelial cell antibodies in normal and lupus pregnancy. ***Arthritis Rheum***., 43(7):1511–1515 (2000).

36. Meroni PL, Del Papa N, Raschi E, panzeri P, Borghi MO. Is there any pathogenic role for anti-endothelial cell antibodies (AECA) in autoimmune vasculitis. J Biol ***Regul Homeost Agents***.,11:127-32 (1997).

37. Praprotnik S, Blank M, Levy Y, et al. Anti-endothelial cell antibodies from patients with thrombotic thrombocytopenic purpura specifically activate small vessel endothelial cells. ***Int Immunol***, 13:203-210 (2001).

38. Navarro M, Cervera R, Font J, Reverter JC, Monteagudo J, Escolar G, Lopez-Soto A, Ordinas A, Ingelmo M. Anti-endothelial cell antibodies in systemic autoimmune diseases: prevalence and clinical significance. ***Lupus***., 6:521-526 (1997).

39. Praprotnik S, Rozman B, Blank M and Shoenfeld Y. Pathogenic role of anti-endothelial cell antibodies in systemic vasculitis. ***Wien Klin Wochenschr,*** 112:660-664 (2000).

40. Praprotnik S, Blank M, PL, Rozman B, Eldor A and Shoenfeld Y. Classification of anti-endothelial cell antibodies into antibodies against microvascular and macrovascular endothelial cells: the pathogenic and diagnostic implications. ***Arthritis Rheum***., 44:1484-1494 (2001).

41. Del Papa N, Conforti G, Gambini D, et al. Characterization of the endothelial surface proteins recognized by anti-endothelial antibodies in primary and secondary autoimmune vasculitis. ***Clin Immunol Immunopathol***, 70:211-216 (1994).

42. Chanseaud Y, Guilpain P, Mahr A, Tamby MC, Uzan M, Guillevin L, Boissier MC, Mouthon L. IgM and IgG autoantibodies from microscopic polyangiitis patients but not those with other small- and medium-sized vessel vasvulitides recognize multiple endothelial cell antigens. ***Clin Immunol***., 109:211-216 (2003).

43. Levy Y, Gilburd B, George J, Del Papa N, Mollone R, Damianovich M, Blank M, Raice A, Renaudineau Y, Youinou P, Wilk A, Malavasi F, Meroni PL, Shoenfeld Y. Characterization of murine monoclonal anti-endothelial cell antibodies (AECA) produced by idiotypic manipulation with human AECA. ***Int Immunol***., 10:861-868 (1998).

44. Kaneko K, Savage CO, Pottinger BE, Shah V, Pearson JD, Dillon MJ. Antiendothelial cell antibodies can be cytoyoxic to endothelial cells without cytokine pre-stimulation and correlate with ELİSA antibody measurement in Kawasaki disease. ***Clin Exp Immunol***., 8:264-269 (1994).

45. Fujieda M, Oishi N, Kurashige T. Antibodies to endothelial cells in Kawasaki disease lyse endothelial cells without cytokine pretreatment. ***Clin Exp Immunol***., 107:120-126 (1997).

46. Armitage JD, Homer-Vanniasinkam S, Lindsey NJ. The role of endothelial cell reactive antibodies in peripheral vascular disease. ***Autoimmun Rev***., 3:39-44 (2004).

47. Del Papa N, Meroni PL, Barcellini W et al. Antibodies to endothelial cells in primary vasculitides mediate in vitro endothelial cytoxicity in the presence of normal peripheral blood mononuclear cells. ***Clin Immunol Immunopathol***., 63:267-274 (1992).

48. Blank M, Krause I, Goldkorn T, et al. Monoclonal anti-endothelial cell antibodies from a patient with Takayasu arteritis activate endothelial cells from large vessels. ***Arthritis Rheum***., 42:1421-1432 (1999).

49. Akbatur HH, Şengün A. Behçet Hastalığı, Endoftalmiler ve Üveitler, 1. ed. ***Ankara:Atlas Kitabevi***, 27-29 (2002).

50. Gross WF, Schmitt WH, Csernok E. ANCA and associated disease: Immunodiagnostic and pathogenetic aspects. ***Clin Exp Immunol***. 91:1-12 (1993).

51. Radice A, Sinico RA. Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). ***Autoimmunity***, 38:93-103 (2005).

52. Moises J, Torregrosa JV, Ybarra J, Oppenheimer F. Renal transplantation in a c-ANCA(+) patient with Behçet disease and rapidly progressive glomerulonephritis. ***Clin Nephrol***., 61:357-359 (2004).

53. Jenette C. ANCA assoiated disease. A pathologist's perspective. ***Am J Kid Dis***., 18:164-170 (1991).

54. Falk RJ Terrell RS, Charles LA, Jenette JC: Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 87;4115-4119, (1990).

55. Franssen CF, Huitema MG, Muller Kobold AC, Oost-Kort WW, Limburg PC, Tiebosch A, Stegeman CA, Kallenberg CG, Cohen Tervaert JW: In vitro neutrophil activation by antibodies to proteinase 3 and myeloperoxidase from patients with crescentic glomerulonephritis. ***J Am Soc Nephrol***., 10:1506-1515 (1999).

56. Hess C, Sadallah S, Schifferli JA: Induction of neutrophil responsinveness to myeloperoksidase antibodies by their exposere to supernatant of degranulated autologous neutrophils. ***Blood***, 96:2822-2827 (2000).

57. Kettritz R, Schreiber A, Luft FC, Haller H: Role of mitogen-activated protein kinases in activation of human neutrophils by antineutrophil cytoplasmic antibodies. ***J Am Soc Nephrol***., 12:37-46 (2001).

58. Rarok AA, Limburg PC, Kallenberg CG: Neutrophil-activating potential of antineutrophil cytoplasm autoantibodies. ***J Leukoc Biol***., 74:3-15 (2003).

59. Porges AJ, Redecha PB, Kimberly WT, Csernok E, Gross WL, Kimberly RP: Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies engage and activate human neutrophils via Fc gamma RIIa. ***J Immunol***., 153:1271-1280 (1994).

60. Harper L, Radford D, Plant T, Drayson M, Adu D, Savage CO: IgG from myeloperoxidase–antineutrophil cytoplasmic antibody-positive patients stimulates greater activation of primed neutrophils than proteinase 3-antineutrophil cytoplasmic antibody-posivite patients. ***Arthritis Rheum***., 44:921-930 (2001).

61. Condliffe AM, Chilvers ER, Haslet C, Dransfield I:Priming differentially regulates neutrophil adhesion molecule expression/function. ***Immunology***, 89:105-111 (1996).

62. Franssen CF, Stegeman CA, Kallenberg CG, Gans RO, De Jong PE, Hoorntje SJ, Tervaert JW: Antiproteinase 3-and antimyeloperoxidase-associated vasculitis. ***Kidney Int***., 57:2195-2206 (2000).

63. Pfister H, Ollert M, Frohiich LF, Ouintaniila-Martinez L, Colby TV, Specks U, Jenne DE: Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies against the murine homolog of proteinase 3 (Wegener autoantigen) are pathogenic in vivo. ***Blood***, 104:1411-1418 (2004).

64. Yang JJ, Preston GA, Pendergraft WF, Segelmark M, Heeringa P, Hogan SL, Jenette JC, Falk RJ: Internalization of proteinase 3 is concomitant with endothelial cell apoptosis and internalization of myeloperoxisade with generation of intracellular oxidants. ***Am J Pathol***., 158:581-592 (2001).

65. Alles A, Alley K, Barrett JC et al. Apoptosis: a general comment. ***FASEB J***., 5: 2127-2128 (1991).

66. Lijnen HR, Collen D. Endothelium in hemostasis and thrombosis. ***Prog Cardiovasc Dis***., Jan-Feb;39(4):343-350 (1997).

67. Jenette C, Fark R. ANCA assosiated vasculitis. Diagnostic Classification. ***Am J Kid Dis***., 18:188-195 (1991).

68. Özkaya N, Tumer N, Yalçınkaya F, Ekim M. Renal hastalıklarda antinötrofil sitoplazmik antikorlar. ***Türk Nefroloji Diyaliz Dergisi,*** 1;1-4 (1998).

69. Yu F, Zhao MH, Zhang YK, Y, Wang HY. Anti-endothelial cell antibodies (AECA) in patients with propylthiouracil (PTU)-induced ANCA positive vasculitis are associated with disease activity. ***Clin Exp Immunol***., 139:569-574 (2005).

70. Turul T, Ersoy F. Dostu düşmanı ayıran bir doğal immünite bileşeni:TLR. ***Hacettepe Tıp Dergisi***, 35:114-118 (2004).

71. Knop E, Knop N. The role of eye-associated lymphoid tissue in corneal immune protection. ***J Anat***., 206(3): 271-285 (2005).

72. Armstrong RA. The immune system and the eye. ***Ophtalmic Physiol Opt***., Sep; 18 (2): 40-48 (1998).

73. Kılıçturgay K. İmmünolojiye giriş, 2. ed. ***Güneş Kitabevi***, Bursa 1-150 (1991).

74. Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology, 3. ed. ***Mosby***, London 1(1):16-25 (1993).

75. Lewinson W, Jawetz E. İmmünoloji. In: Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, 5. ed. Çeviri Editörü: İsmail H Dündar. ***Barış Kitabevi/Appleton ve Lange***, İstanbul 327-400 (1998).

76. Friedlaender MH. Allergy and immunology of the eye, 2. ed. ***Raven Press***, New York, 1-325 (1993).

77. İnternet: TINWEB – Türk İnfeksiyon Web Sitesi, http://www.infeksiyon.org/Detail.asp?ctg=108 Article=256-130k (1997).

78. Cohen MD, Conn DL. Approach to the patient with suspected vasculitis. ***A Publication of the Arthritis Foundation***, Atlanta-USA., 48(12):1-4(1999).

79. Kültürsay N. Fetal ve neonatal proenflamatuar sitokin yanıtı - perinatal beyin ve akciğer zedelenmesi ile ilişkisi. ***Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi***, 46(4): 299-307 (2003).

80. Manzi S. Inflammation-mediated rheumatic diseases and atherosclerosis. ***Ann Rheum Dis***., 59:321-325 (2000).

81. Bacon PA. Systemic vasculitic syndromes. ***Curr Opin Rheumatol***, 5:5-10 (1993).

82. Cid MC. New developments in the pathogenesis of systemic vasculitis. ***Curr Opin Rheumatol***, 8:1-11 (1996).

83. Cohen MD, Conn DL. Approach to the patient with suspected vasculitis. ***A Publication of the Arthritis Foundation***, Atlanta-USA,48(12):1-4 (2000).

84. Manzi S. Systemic lupus erythematosus: a model for atherogenesis? ***Rheumatology***, 39:353-359 (2000).

85. Hunder G. Vasculitis; diagnosis and therapy. ***Am J Med***., 100 (2A): 37-45 (1996).

86. Kerr GS, Hallahan CW, Giordano J et al. Takayasu arteritis. ***Ann Intern Med***., 120:919-929 (1994).

87. Yazıcı H. Behçet's Syndrome (The Vasculotides). In: Klippel JH, Dieppe PA edd. Rheumatology, ***Mosby Year Book Europe***, London, 6(20):1-6 (1994).

88. Garner L. P, ***Color Textbook of Histology***, Saunders Company, 316-321 (2001).

89. Searle J, Kerr JFR, Bishop CJ. Necrosis and apoptosis: distinct modes of cell death with fundamentally different significance. ***Pathol Ann***., 17: 229-259 (1982).

90. Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V, Denton M, Weinberg JM, Venkatachalam MA: Apoptosis: definition, mechanisms, and relevance to disease. ***Am J Med***., 107: 489-506 (1999).

91. Harper L, Savage CO. Pathogenesis of ANCA-associated systemic vasculitis ***J Pathol***., 190:349-359 (2000)

92. Summarizing Data. In: Basic and Clinical Biostatistics. Eds: Dawson- Sowders B, Trapp RG., ***Appleton and Lauge***, USA 43-63 (1990).

93.Rump JA, Schölmeric h J, Gross V, Roth M, Helfesrieder R, Rautmann A, Ludemann J, et al. A new type of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody (p-ANCA) in active ulserative colitis but not in Crohn disease. ***Immunobiology***, 181(4-5):406-413 (1990).

94. Frampton G, Jayne DRW Perry GJ et al. Autoantibodies to endothelial cells and neutrophil cytoplasmic antigens in systemic vasculitis. ***Clin Exp Immunol***., 82(2):227-232 (1990).

95. Gobel U, Eichhorn BG, Kettritz R et al. Disease activity and autoantibodies to endothelial cell in patients with Wegener's granulomatosis. ***Am J Kidney Dis***., 28:186-194 (1996).

96. Del Papa N, Guidali L, Sironi M et al. Anti-endothelial cell IgG antibodies from patients with Wegener's granulomatosis bind to human endothelial cell in vitro and induce adhesion molecule expression and cytokine secretion. ***Arthritis Rheum***., 28:186-194 (1996).

97. Damianovich M, Gilburd B, George J, et al. Pathogenic role of anti-endothelial cell antibodies in vasculitis. An idiotypic experimental model. ***J Immunol***., 156:4946-4951 (1996).

98. Olafsson S, Gudjonsson H, Semli C, Amano K, Invernizzi P, Podda M, Gershwin ME. Antimitochondrial antibodies and reactivity to N. Aromaticivorans proteins in Icelandic patients with primary biliary cirrhosis and their relatives. ***Am J Gastroenterol***, 99:2143-2146 (2004).

99. Konca K, Erken E. , Özbek S. , Güneşaçar R. Behçet hastalığında anti-nötrofil sitoplazmik antikr (ANCA) negatifliği. ***Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi***, 21:109-112 (1996).

100.Evreklioğlu C. Current Concepts in the Etiology and Treatment of Behcet Disease Survey Of ***Ophthalmology***, 50(4):297-350 (2005).

101.Taylor PV, Chambertain MA, Scott JS. Autoreactivity in patients with Behcet's disease. ***Brit J Rheumatol***, 32(10):908-910 (1993).

102. Burrows NP, Zhao MH, Norris PG, Lockwood CM. ANCA associated with Behcet's disease. ***J Roy Soc Med***., 89(1):47-48 (1996).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Altay Sultan

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 24/02/1980 Kahramanmaraş

Medeni hali : Bekar

Telefon : 0 (312) 272 87 84

Cep Tel : 0 536 861 93 26

e-mail : sultan_altay@yahoo.com.

Eğitim

Derece	**Eğitim Birimi**	Mezuniyet Tarihi
Tezsiz Yüksek Lisans	Gazi Eğitim Bilimleri Enstitüsü	2004
Lisans	Gazi Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2002
Lise	İbn-i Sina Lisesi	1997

Yabancı Dil

İngilizce

İş Deneyimi

Yıl	**Yer**	**Görev**
2004-	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Laboratuarı	Biyolog

Bildiri Özeti

Altay, S., Baştürk, B., Aslım, E., "Anti-endoteliyal hüre antikoru ile granülosit sitoplazmasına karşı oluşmuş otoantikor ilişkisinin araştırılması", ***Uluslararası Katılımlı XIX. Ulusal İmmünoloji Kongresi,*** Antalya 202 (2007).