

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ANA ve ANCA İFAT POZİTİF SAPTANAN HASTALARDA
OTOANTİKORLARIN DAĞILIMI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. MELEK İZMİR**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. FUNDA DOĞRUMAN AL**

**ANKARA
NİSAN 2014**

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Melek İzmir
Baba Adı	Enver
Doğum Yeri/ Tarihi	Sivrihisar/ Eskişehir 24.01.1977
Diploma Tarihi/ Diploma no	29.09.2009/99-991
Mezun Olduğu Fakülte	Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/ Bilim Dalı	Tıbbi Mikrobiyoloji
İhtisas Süresi	Yıl: 5 yıl
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: ANA ve ANCA IFAT Pozitif Saptanan Hastalarda
Otoantikörlerin Dağılımı

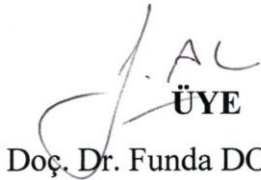
JÜRİ KARARI:

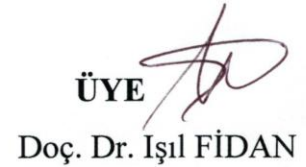
Oy birliği ile tez çalışması başarılı kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ:


BAŞKAN

Prof. Dr. Meltem YALINAY ÇIRAK


ÜYE
Doç. Dr. Funda DOĞRUMAN AL


ÜYE
Doç. Dr. Işıl FİDAN

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında ve uzmanlık eğitimimde emeği geçen; danışmanım olan ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Funda DOĞRUMAN AL ve emekli olan danışmanım Prof. Dr. Turgut İMİR başta olmak üzere, değerli hocalarım Prof. Dr. Semra KUŞTİMUR, Prof. Dr. Seyyal ROTA, Prof. Dr. Nedim SULTAN, Prof. Dr. Meltem YALINAY ÇIRAK, Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR, Prof. Dr. Ayşe KALKANCI, Doç. Dr. Gülendaml BOZDAYI, Doç. Dr. Işıl FİDAN ve Doç. Dr. Nuray BÜYÜKBERBER'e, her zaman yanımda olan sevgili aileme, asistan arkadaşlarıma ve laboratuvarıda birlikte çalıştığım arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe	2
2.2. İmmünolojik Tolerans	3
2.2.1. T Hücre Toleransı	3
2.2.1.1. Santral T hücre toleransı	3
2.2.1.2. Periferik T hücre toleransı	4
2.2.2. B Hücre Toleransı	4
2.2.2.1. Santral B hücre toleransı	4
2.2.2.2. Periferik B hücre toleransı	5
2.3. Otoimmüniteye Yol Açabilecek Düşünülen Mekanizmalar	5
2.3.1. Self Toleransın Kaybı	5
2.3.2. Hapsedilmiş Antijenlerin Salınması	5
2.3.3. Moleküler Taklit	6
2.3.4. Normal Proteinlerde Değişim	7
2.4. Otoimmünite Gelişiminde Rol Oynayan Faktörler	9
2.4.1. Genetik ve Epigenetik Faktörler	9
2.4.2. Hormonal Faktörler	10
2.4.3. Çevresel Faktörler	11
2.4.3.1. Enfeksiyon etkenleri ve otoimmünite	12
2.4.3.2. Aşılar, ilaçlar ve otoimmünite	15
2.4.3.3. Sitokinler ve otoimmünite	15

2.4.3.4. Otoimmün hastalıklarda tedavi	16
2.5. Otoantikörler	16
2.5.1. Anti Nükleer Antikör (ANA).....	18
2.5.2. ANA Subtipleri	24
2.5.2.1. Anti-dsDNA antikörleri	24
2.5.2.2. Ekstrakte edilebilir nükleer antijenlere karşı antikörler (anti-ENA).....	24
2.5.2.3. Romatoid faktör (RF).....	25
2.5.2.4. Anti-CCP (Anti- Cyclic Citrullinated Peptide).....	26
2.5.2.5. Anti nötrofil sitoplazmik antikörler (ANCA)	26
2.5.2.6. Anti glomerül bazal membran antikör (Anti GBM)	31
2.5.2.7. Anti-mitokondriyal Antikör (AMA)	31
2.5.2.8. ASMA (anti smooth muscle antibody, anti düz kas antikörü).....	32
2.5.2.9. Anti- liver kidney mikrozomal antijen tip (LKM-1).....	32
2.5.2.10. Anti-liver sitosol antikör (Anti- LC 1).....	33
2.6. Otoantikör Tayininde Kullanılan Yöntemler	33
2.6.1. İndirekt İmmüno Floresan Antikör (IFAT)	35
2.6.2. İmmunoblot Testi.....	35
2.6.3. ELISA ile antikör tespiti	36
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	37
3.1. Hasta Grubu	37
3.2. Yöntemler.....	37
3.2.1. ANA ve ANCA Pozitifliğinin IFAT ile Belirlenmesi	38
3.2.2. ANCA IFA Testinin Çalışma Prosedürü	39
3.2.3. Otoantikör Profilinin Değerlendirilmesi	40
3.2.4. Anti-dsDNA, Anti-CCP ve RF, ANCA Profili ve Karaciğer Profilinin Değerlendirilmesi	42
3.3. İstatistiksel İncelemeler.....	42
4. BULGULAR	43
4.1. Çalışma Grupları	43

4.2. ANA IFAT Pozitif Çalışma Grubundaki Hastaların Genel Özellikleri.....	43
4.2.1. ANA Pozitifliğinin Dağılımı.....	45
4.2.2. ANA Pozitif Hastaların Paterne Göre Dağılımı.....	46
4.2.3. ANA Pozitif Hastaların Antikor Dağılımının İmmunoblot ile İncelenmesi	47
4.2.4. ANA IFAT Pozitifliğiyle Birlikte Anti-CCP Pozitifliği.....	51
4.2.5. ANA IFAT Pozitifliğiyle Birlikte RF Pozitifliği	52
4.2.6. ANA IFAT Pozitifliğiyle Birlikte Karaciğer Profili Pozitifliği.....	52
4.2.7. ANA IFAT Pozitifliğiyle Birlikte ASMA Pozitifliği	52
4.2.9. ANA IFAT Pozitifliğiyle Birlikte ANCA Pozitifliği.....	53
4.3. ANCA Pozitif Hastalardaki Bulgular.....	53
4.3.1. ANCA IFAT Pozitifliğinin ANCA ELISA İlişkisi.....	56
4.3.2. ANCA IFAT Pozitif Hastalarda ANA IFAT Pozitifliği	57
5. TARTIŞMA.....	58
6. SONUÇLAR.....	68
7. KAYNAKLAR.....	71
8. ÖZET	81
9. SUMMARY.....	83
10. ÖZGEÇMİŞ.....	85

KISALTMALAR

ANA	: Antinükleer Antikor
ANCA	: Anti Nötrofil Sitoplazmik Antikor
IFA	: İndirekt Floresan Antikor
MHC	: Majör Histokompatibilite Kompleksi
AIRE	: Otoimmün düzenleyici gen
DM	: Diabetes Mellitus
MG	: Myastenia Gravis
MS	: Multiple Skleroz
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
RA	: Romatoid Artrit
DNA	: Deoksi Ribonükleik Asit
HLA	: İnsan Lökosit Antijenleri
Th	: T helper
IFNγ	: İnterferon gama
EBV	: Ebstein Barr virus
CMV	: Sitomegalovirus
HBV	: Hepatit B virus
HCV	: Hepatit C virus
HBsAg	: Hepatit B yüzey antijeni
IL	: İnterlökin
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
ACA	: Antisitoplazmik antikorlar
APA	: Antifosfolipid antikorlar
dsDNA	: Çift iplikli DNA
snRNP	: Small nuclear ribonucleoprotein
RNA	: Ribonükleik Asit
CREST	: Skleroderma alt tipi
ANCA	: Anti Nötrofil Sitoplazmik Antikor
c-ANCA	: Anti Nötrofil Sitoplazmik Antikor sitoplazmik patern

TSH	: Tiroid Stimulan Hormon
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
IFA	: İndirekt Floresan Antikor
IFAT	: İndirekt Floresan Antikor Testi
Hep-2	: İnsan epidermoid larinks karsinom hücreleri
ssDNA	: Tek iplikli DNA
ENA	: Ekstrakte nükleer antijenler
RF	: Romatoid faktör
Ig	: İmmunglobülin
AIDS	: Edinsel immün yetmezlik sendromu
Anti-CCP	: Anti- Cyclic Citrullinated Peptide
MPO	: Myeloperoksidaz
PR3	: Proteinaz 3
BPI	: Bakteriyel permeabilite inhibe eden protein
Anti GBM	: Anti glomerül bazal membran antikor
AMA	: Anti-mitokondriyal Antikor
PBS	: Primer bilier siroz
ASMA	: Anti smooth muscle antibody
LKM	: Liver kidney mikrozomal
LC	: Liver sitozol
OİH	: Otoimmün hepatit
PAGE	: Poliakrilamid jel elektroforezi
PBS	: Fosfat buffer solüsyonu
SLA/LP	: Soluble Liver/Liver Pankreas
CENP	: Sentromer proteini

TABLO LİSTESİ

Sayfa No:

Tablo 1.	Otoimmün hastalıkların ilişkili olduğu enfeksiyon etkenleri ve genler	13
Tablo 2.	Otoantikorların Klinik Tanıda Yeri	17
Tablo 3.	Değişik bağ doku hastalıklarında ANA pozitifliği.....	18
Tablo 4.	ANA IFAT pozitif hastalarda cinsiyet dağılımı	43
Tablo 5.	Hastaların başvurdıkları iller	43
Tablo 6.	Kliniklerden gelen ANA IFAT pozitif hasta sayıları	44
Tablo 7.	Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı	45
Tablo 8.	ANA Pozitifliği Dağılımı	46
Tablo 9.	ANA pozitif hastaların paterne göre dağılımı	46
Tablo 10.	ANA pozitif hastaların antikor dağılımının immunoblot ile dağılımı.....	47
Tablo 11.	Hastaların immunoblotla pozitif antikor sayısı	47
Tablo 12.	Tek antikoru pozitif olan hastaların dağılımları	48
Tablo 13.	İki antikoru pozitif olan hastaların dağılımları.....	48
Tablo 14.	Üç antikoru pozitif olan hastaların dağılımları.....	49
Tablo 15.	Dört antikoru pozitif olan hastaların dağılımları	49
Tablo 16.	Paterne göre immunoblot antikor pozitifliğinin dağılımı.....	50
Tablo 17.	Anti-dsDNA ELISA pozitif hastaların ANA paternlerine göre dağılımı.....	53
Tablo 18.	Cinsiyete göre ANCA IFAT pozitifliği dağılımı	54
Tablo 19.	ANCA pozitif hastaların yaş dağılımları	54
Tablo 20.	ANCA pozitif hastaların kliniklere göre dağılımı	55
Tablo 21.	ANCA dağılımı	55
Tablo 22.	ANCA IFAT pozitifliğinin ANCA ELISA ilişkisi.....	57
Tablo 23.	ANCA IFAT pozitifliği ile ANA IFAT paterni arasında ilişki	57

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No:
Şekil 1. İmmünolojik tolerans	6
Şekil 2. Otoimmün hastalık oluşumu	8
Şekil 3. Homojen patern	20
Şekil 4. Periferel veya rim boyanma	20
Şekil 5. İnce granüler boyanma	21
Şekil 6. Antisentromer paterni.....	21
Şekil 7. Nükleolar patern.....	22
Şekil 8. Nükleer dots	23
Şekil 9. c-ANCA	29
Şekil 10. p-ANCA	29
Şekil 11. İşaretili katı faz yöntemlerinin temel mekanizması	35
Şekil 12. İnce granüler paterne sahip hastaların antikor dağılımları	51

1. GİRİŞ

İmmün sistem bireyin kendi antijenlerine cevap oluşturmaz. Bu olay immünolojik tolerans olarak adlandırılır. Vücudun kendi antijenlerine karşı reaksiyon oluşturduğu durumlara otoimmünite oluşan antikorlara da otoantikorlar denilir (1).

Otoimmünite kavramından ilk defa Ehrlich bahsetmiş bunu Donath ve Landsteiner (2), Rivers (3), Witebsky ve Roitt'un (2) çalışmaları izlemiştir.

Otoimmünite gelişiminde rol oynayan faktörler genetik faktörler, hormonal faktörler, çevresel faktörler ve enfeksiyon ajanlarıdır (4).

Otoimmünitenin başlıca mekanizmaları öze toleransın kaybı, hapsedilmiş antijenlerin salınması, moleküler taklit, normal proteinlerde değişimdir (2,5).

Otoimmünite tek bir organı tutuyorsa oluşan hastalık organa özgü otoimmün hastalıklar, yaygın bir hastalık ise sistemik etkili otoimmün hastalık olarak isimlendirilir (2).

Hastalıklara karşı immün yanıtın türü ve antikorların tipi konağın immün durumuna, immün yanıtın tipine, kişiden kişiye, demografik özelliklere, popülasyondan popülasyona değişmektedir. Her toplumun antikor çeşitlilik yanıtının farklı olabileceği düşünülmelidir. Bu bağlamda otoantikor profilleri de her toplumda farklı olabilmektedir (1,2,6).

2. GENEL BİLGİLER

İmmün sistem birçok mikroorganizmaya cevap oluştururken bireyin kendi antijenlerine bir takım mekanizmalar aracılığıyla cevap oluşturmaz. Bu olay immünolojik tolerans olarak adlandırılır. Bu mekanizmaların bozulduğu durumlarda vücut kendi antijenlerine karşı reaksiyon oluşturur. Bu duruma otoimmünite oluşan antikorlara da otoantikorlar denilir (1).

2.1. Tarihçe

Ehrlich 19. yy'da otoantikorların oluşumlarına engel olmak için 'düzenleyici mekanizmaya' ihtiyaç olduğunu ilk defa ifade etmiştir. İmmün sistemin kendi yapılarına karşı reaksiyon gösterdiğini ortaya koymuş ve 'horror autotoxicus' (ototoksik dehşet) ifadesini kullanmıştır. Bu düzenleyici mekanizmalar 'ya otoantikorların oluşumunu engeller ya da otoantikorların toksik etkisinden korur' demiştir.

1904' te Donath ve Landsteiner sifilizli hastalarda Donath-Lansdsteiner antikorunu tanımlamışlardır (2).

Rivers ve arkadaşları 1933'te maymunlarda deneysel otoimmün ensefalomiyelit oluşturmuşlardır. Bu hastalık insanlarda demiyelinizan (sistemik skleroz, aşı sonrası ensefalomiyelit gibi) hastalıklara model olarak gösterilmektedir (3).

Witebsky 1956'da deneysel otoimmün tiroidit oluşumuyla ilgili çalışmalarını yayınlamıştır. Roitt ve arkadaşları aynı yıl Hashimoto Tiroiditi'nin otoimmün bağlantısını göstermişlerdir. İlerleyen yıllardan günümüze kadar

immünolojik tolerans ve otoimmünite gelişimi ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır (2).

2.2. İmmünolojik Tolerans

İmmünolojik tolerans daha önceden karşılaşmış belirli bir antijene yanıtı kalma durumudur (4). İmmün tolerans şekil 1’de açıklanmaktadır.

2.2.1. T Hücre Toleransı

T hücre toleransı denildiğinde daha çok CD4+ T hücrelerin toleransı akla gelmektedir.

2.2.1.1. Santral T hücre toleransı

Merkezi T hücre toleransında timusun rolü önemlidir. Timusta gelişen T hücrelerinin öz ve yabancı antijenleri tanıyan reseptörleri vardır. T hücreleri öz antijenleri kuvvetli reaksiyon ile tanır ve negatif seçime uğrayarak apoptoz ile ölür. Bu olaya ‘ klonal seleksiyon’ denir. Bu şekilde otoimmün yanıtı önemi ölçüde korunur. Merkezi tolerans işleminden öz antijeni hem MHCI (Major Histokompatibilite Kompleksi) üzerinden tanıyan CD8 + hem de MHC II üzerinden tanıyan CD4+ T hücreleri etkilenir.

AIRE geni (otoimmün düzenleyici gen) öz antijenlerin timusta timik hücrelere sunumunu düzenler, bozukluğunda öz antijenleri tanıyan lenfositler tanınmaz ve dolaşıma geçerler, dokularda reaksiyon oluşturarak otoimmün polienodokrinopati hastalığına neden olurlar (1,5).

2.2.1.2. Periferik T hücre toleransı

Timustaki delesyondan kurtulan T hücreleri periferde olgunlaşabilir ve öz antijenlere karşı reaksiyon oluşturabilirler. O zaman periferik tolerans devreye girer. Otoantijenlere karşı post-timik toleransın beş ana mekanizması vardır. Bu mekanizmalar:

1. Dolaşımdaki self reaktif T hücreleri, self antijenleri yok sayabilir.
2. Antijen ayrıcalıklı bir bölgedeyse, bu antijene karşı yanıtları baskılanabilir.
3. Bazı koşullarda, self reaktif hücreler ortadan kaldırılabilir.
4. Bazen de T hücresi bir antijenle karşılaştıktan sonra inaktive edilir. Anerjik hale getirilir.
5. Regülatör T lenfositleri ile öze reaksiyon veren lenfositler baskılanır (2).

2.2.2. B Hücre Toleransı

Öz polisakkaritler, lipidler ve nükleik asitler T hücrelerinin tanımadığı T bağımsız antijenlerdir. Otoantikor yapımının engellenmesi için bu antijenlerin B lenfosit toleransı oluşturmaları gerekir (1).

2.2.2.1. Santral B hücre toleransı

Kemik iliğinde self reaktif B hücrelerinin yok edilmesidir. Olgunlaşmamış B lenfositleri kemik iliğinde öz antijenlere kuvvetle bağlanırsa ya negatif seçim yoluyla öldürülür veya reseptörlerinin özgüllüğünü değiştirirler.

2.2.2.2. Periferik B hücre toleransı

Periferik dokularda yoğun öz antijenlerle karşılaşan B hücresi anerjik duruma geçer ve o antijene bir daha cevap verilmez. Anerjik B lenfositleri yaşamaları için gerekli uyarıyı alamayarak ölürler (1).

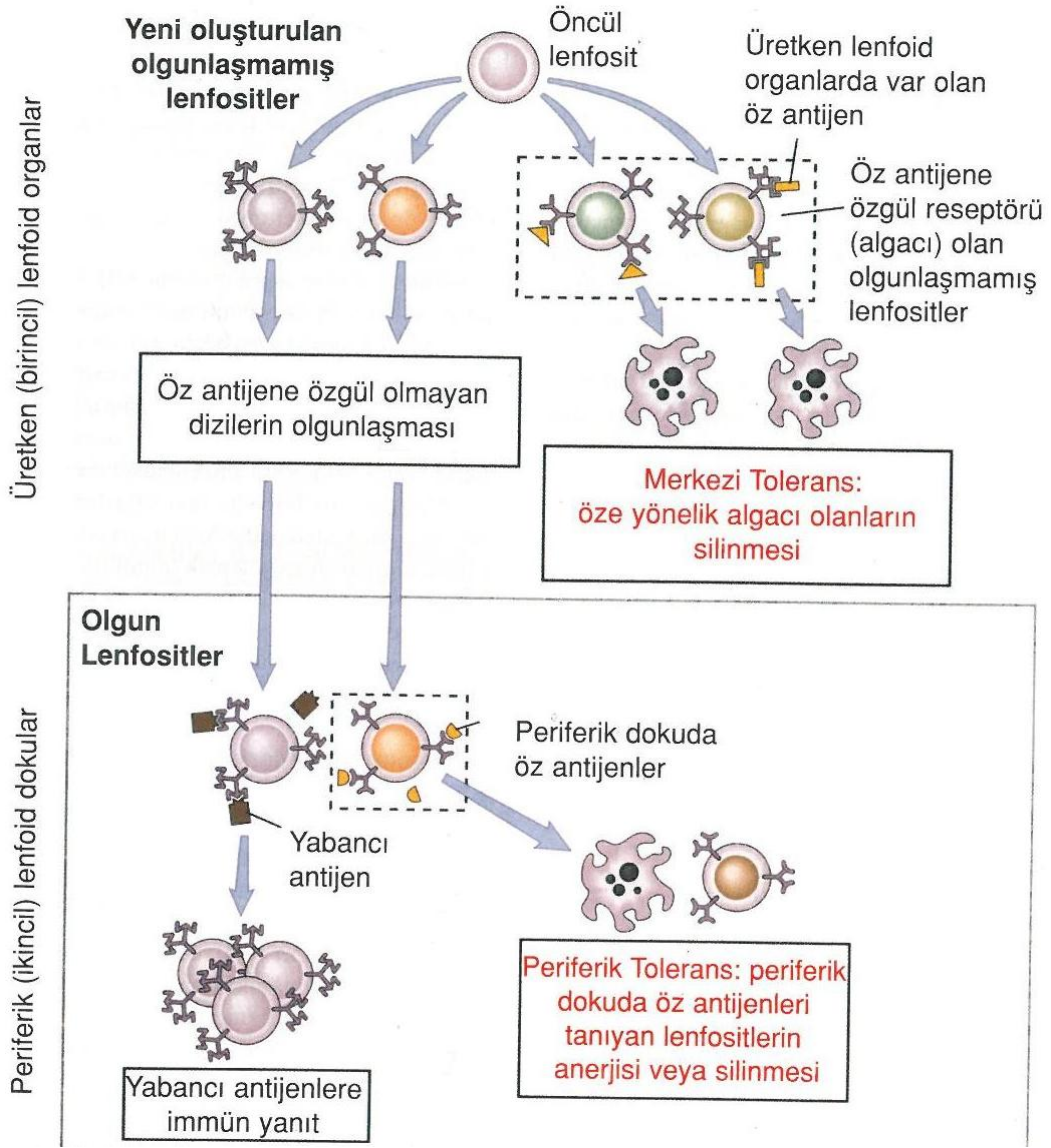
2.3. Otoimmüniteye Yol Açabilecek Düşünülen Mekanizmalar

2.3.1. Self Toleransın Kaybı

İmmünolojik toleransta herhangi bir eksiklik olması durumunda kanda öz antijenini tanımayan hücreler bulunur ve bunlar uygun ortamı bulunca tanımadığı öz antijenlere saldırabilir.

2.3.2. Hapsedilmiş Antijenlerin Salınması

Sperm, merkezi sinir sistemi, gözün lens ve üvea gibi bazı dokular, antijenleri bağışıklık sistemi ile karşılaşmayacak şekilde kapatılmıştır. Bunlara immünolojik olarak ayrıcalıklı noktalar denir. Bu noktaların mekanik darbeye uğraması sonucu hücreler parçalanır ve hücre içinde gizlenmiş bu proteinler hücre dışına çıkıp kan dolaşımına geçer. Bu durumda hem hücresel hem de humoral yanıt uyarılır ve otoantikorlar üretilir. Oluşan otoantikorlarda bu proteinlerin kaynaklandığı organlara saldırır ve doku hasarı görülür.



Şekil 1. İmmünolojik tolerans (1)

2.3.3. Moleküler Taklit

Vücuda dışarıdan girmiş olan yabancı antijene karşı oluşturulan antikorlar, vücudun bazı proteinlerine de saldırır. Bu olaya 'çapraz tepki' denilmektedir. Bu durum özellikle bakteri ve virus enfeksiyonlarından sonra görülür. Bu olaya en

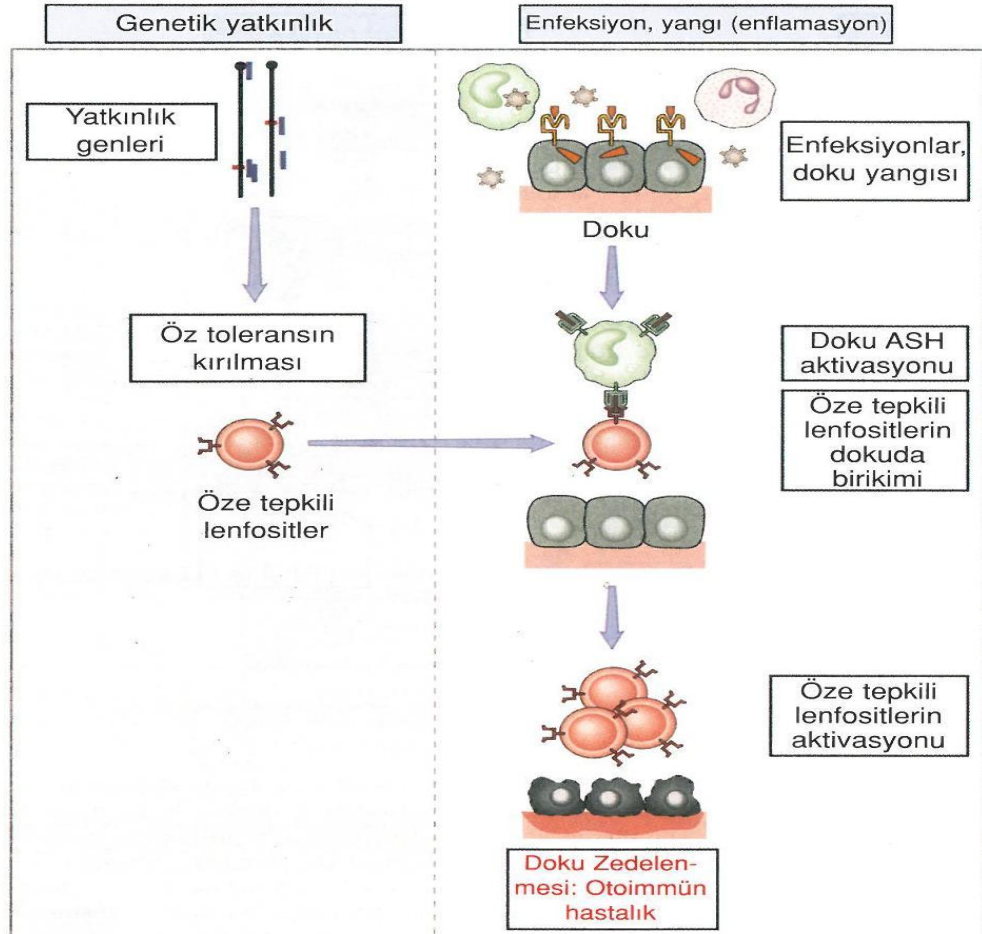
güzel örneklerden biri *Streptokok pyogenes*'in M proteini ile kalp kası miyozin arasındaki ilişkidir.

2.3.4. Normal Proteinlerde Değişim

İlaçlar normal proteinlere bağlanabilir ve bunları immünojenik hale getirebilir. Bu duruma birçok ilaç neden olabilir. En sık görüleni prokainamide bağlı gelişen SLE'dir. Ayrıca kimyasal ve biyolojik birçok faktör de proteinlerin yapısında değişime neden olabilir.

Otoimmün hastalıklar etkilerine göre spesifik bir hücre ya da organı etkileyen ve sistemik etki oluşturan hastalıklar olarak ikiye ayrılır (6).

Antijen özel bir dokuda lokalize ise Tip 2 aşırı duyarlılık reaksiyonu rol oynar (otoimmün hemolitik anemi, trombositopeni, Good Pasture sendromu, Myastenia Gravis); sistemik otoimmünitede dokularda immün kompleks birikimi, kompleman aktivasyonu ve fagosit artışında rol oynadığı Tip 3 aşırı duyarlılık reaksiyonu sonucu inflamasyon ve doku hasarı oluşur (7).



Şekil 2. Otoimmün hastalık oluşumu (1)

Organa Özgü Otoimmün Hastalıklar: Tip 1 DM (Diabetes Mellitus), Hashimoto's Tiroiditi, otoimmün atrofik gastrit, otoimmün (alerjik) ensefalit, otoimmün hemolitik anemi, Myastenia Gravis (MG), Graves hastalığı, Multiple Skleroz (MS) primer biliyer siroz, otoimmün hepatit, Guillain-Barre Sendromu, Good-Pasture sendromu, Addison hastalığı (2).

Sistemik Etkili Otoimmün Hastalıklar: Sistemik Lupus Eritematozus (SLE), Romatoid Artrit (RA), akut romatizmal ateş, polimiyozit-dermatomyozit,

Ankilozan Spondilit, skleroderma, Sjögren sendromu, Poliarteritis Nodosa, Wegener Granülomatozis, Reiter sendromu (6).

2.4. Otoimmünite Gelişiminde Rol Oynayan Faktörler

Self tolerans normal fizyoloji için gereklidir, self toleransın neden kırıldığı tam olarak açık değildir çünkü oldukça multifaktöriyeldir. Otoimmün hastalıkların gelişmesinde birçok faktör rol oynamaktadır. Bunlardan en önemlileri genetik faktörler, hormonal faktörler, çevresel faktörler ve enfeksiyon ajanlarıdır (4). Buna otoimmünite mozaïği denilir (8).

2.4.1. Genetik ve Epigenetik Faktörler

Otoimmünite gelişiminde genetik de rol oynar. Bunun kanıtı tek veya çift yumurta ikizlerinde veya aynı ailenin bireylerinde otoimmün hastalıklara sık rastlanmasıdır (9). Fakat her zaman aynı genetik yapıya sahip olan ikizlerin ikisinde de otoimmün hastalık görülmez çünkü; otoimmünite genetik faktörlerin zemininde çevresel faktörlerin etkisi ile tetiklenir (10).

Son çalışmalarda çevrenin oluşturduğu genetik değişikliklerin (özellikle DNA'nın metilasyon değişikliğı gibi) otoimmünitenin bazı formlarının şekillenmesinde rolü olduğunu ortaya konulmuştur. Çevresel etkilerle oluşan genetik değişiklikler spesifik hücrelerde anormal gen ekspresyonuna neden olarak self toleransın kaybına neden olur (9).

Otoimmün hastalıklarda artmış immün yanıt olduğu için yapılan genetik çalışmalar öncelikle lökosit antijenleri (HLA) üzerinde yapılmıştır (11).

Bazı HLA tipleri otoimmüniteye yatkınlığı arttırmırlar. Romatoid artrit HLA DR4 geni taşıyan kişilerde sık görülür. Ankilozan Spondilit HLA-B27 geni taşıyanlarda 100 kat fazladır. Bu genler aynı zamanda organa spesifiteyi de kontrol etmektedirler. Bu nedenle pernisiyöz anemisi olan hastaların ailelerinde gastrik otoantikorlar, Hashimoto Tiroiditi olanların ailelerinde ise tiroid otoantikorları saptanabilir (4). Fakat bu genleri taşıyanlarda kesin olarak otoimmün hastalık gelişecek demek değildir. Çünkü otoimmün hastalık gelişimi oldukça multifaktöriyeldir (9).

HLA ilişkili genetik çalışmalardan sonra HLA dışı genlerde de araştırma yapılmış ve bazı HLA dışı genlerin de otoimmünite gelişiminde rol oynayabileceği bulunmuştur. AIRE geni, CTLA-4 geni, Fox P3 genlerinin degenlerinde otoimmünite ile ilişkili olabileceği araştırılmaktadır. AIRE gen mutasyonunda otoimmün poliendokrin sendrom gelişir bu hastalıkta endokrin organlarda ve deride otoimmün hastalıklar görülür (12).

2.4.2. Hormonal Faktörler

Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar otoimmün hastalıklara kadınlarda sık rastlanıldığını göstermiştir. Otoimmün hastalıkların yaklaşık %90'ı kadınlarda görülür. X kromozomu 1100 civarında gen kodlar bu da Y kromozomunun kodladığından 100 kadar fazla gen demektir. Bu da otoimmünite gelişme olasılığını arttırır.

Otoimmünite fizyolojik, farmakolojik, hormonal faktörlerden etkilenmektedir. Kadınların yaşam dönemleri içinde otoimmüniteyle üreme

çağında sık karşılaştıkları saptanmıştır. SLE, MS, Sjögren's sendromu, RA, Hashimoto's Tiroiditi kadınlarda ağırlıklı olarak görülmektedir. Cinsiyetler arasındaki görülme farklılığı ABD'de 10\1 oranındadır. Bu farklılık hormonlarla büyük oranda da östrojenle bağlantılıdır.

Östrojen ve prolaktinin lenfohematopoetik hücreler üzerinde pek çok etkisi vardır. Östrojen lenfoid hücrelerin büyümesi farklılaşması, antijen sunumu, sitokin üretimi, antikor üretimi, apoptoz, hücrel immünite ilişkili antikor yanıtını düzenler.

SLE'de östrojenin etkisi çok belirgindir. Anormal östrojen düzeyleri olan SLE'li kadınlarda hormonal terapi ile SLE semptomları azalmaktadır. SLE'li kadınlarda T hücrelerinde CD40 ekspresyonu artmaktadır. Bu etki erkek hastalarda ve sağlam kadınlarda gözlenmemiştir. Oral kontraseptif kullanan veya postmenopozal östrojen tedavisi alan SLE'li hastalarda alevlenmelere sık rastlanılmaktadır (13).

2.4.3. Çevresel Faktörler

Kişinin genetik yatkınlığının üzerine çevresel etkenlerin de eklenmesi otoimmünite gelişimini tetikler. Bu çevresel etkenler enfeksiyon ajanları, yaşam tarzı, diyet, sigara, vitamin D alınması, hormonal ve mesleki maruziyetler, güneş ışınlarına maruz kalma, psikolojik stres, saç boyaları, ilaçlar'dır (14).

Diyette uzun zincirli yüksek oranda çoklu doymamış omega-3 yağlarını içeren balık yağları RA'lı hastalara iyi gelmektedir.

SLE'de güneş ışınları deri lezyonları için tetikleyicidir.

Organik çözücülerle temas Good Pasture sendromuna yol açan membran otoimmünesine yol açabilir. Kuru temizlemeciler ve petrol istasyonlarında çalışanlar HLA-DR2 kişilerde bu hastalığın yüksek insidansla görüldüğü tesbit edilmiştir (15).

Çevresel faktörlerin başında enfeksiyon etkenleri gelir (14).

2.4.3.1. Enfeksiyon etkenleri ve otoimmünite

Virus, bakteri, mantar, parazit enfeksiyonları otoimmüniteye neden olabilir (14).

Enfeksiyon etkenlerinin otoreaktif lenfositleri uyarmasında iki mekanizma çok önemlidir.

- a) Enfeksiyon etkenleriyle doku antijenleri arasındaki çapraz reaksiyonlarla immünolojik toleransın kırılması otoimmün yanıtı neden olur.
- b) Mikrobiyal antijenlerin adjuvant etkisiyle, B lenfositlerde poliklonal aktivasyon olabilir. T lenfositleri ise süper antijen etkisiyle otoimmün yanıtı yol açabilir.

Kronik enfeksiyonlarda T helper (Th) uyarılması ile şiddetli sitokin salgılanır özellikle de IFN γ salgılanır. IFN γ salgısı MHC II antijeninin ifade edilmesini artırır. Bu da hücre yüzeyindeki otoantijenlerin Th hücresine sunulmasını sağlar ve otoimmün yanıtı yol açar. Birçok virus enfeksiyonunda, tüberküloz, lepra, sıtma ve trypanosomiyazis gibi kronik enfeksiyonlarda otoimmün yanıtın oluşu, bu şekilde açıklanabilmektedir (16,17). Tablo1’de

otoimmün hastalıkların ilişkili olduğu enfeksiyon etkenleri ve genler özetlenmiştir.

Tablo 1. Otoimmün hastalıkların ilişkili olduğu enfeksiyon etkenleri ve genler (16,17)

Mikroorganizma	Otoimmün Hastalık	HLA ilişkisi
Bakteri		
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Romatoid ateş	
<i>Campylobacter jejuni</i>	Guillain-Barre sendromu	
<i>Escherichia coli</i>	Primer bilier siroz	
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Reaktif artrit	HLA B27
<i>Shigella spp.</i>	Reaktif artrit	HLA B27
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Reaktif artrit	HLA B27
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Lyme artriti	HLA –DR4- HLA –DR1
<i>Helicobacter pylori</i>	Otoimmün gastrit	
Viruslar		
Hepatit B Virusu	Multiple Skleroz	
Hepatit C Virusu	Miks kriyoglobülinemi	
Kızamık Virus	Alerjik ensefalit	
Coxsackie virus B3	Myokardit	
Coxsackie virus B3	DM Tip 1	
Sitomegalovirus	Skleroderma	
İnsan T-Hücre Lösemi virusu	HTLV ilişkili miyelopati	

Ebstein Barr virus (EBV): Pek çok epidemiyolojik çalışmada EBV'nin SLE, RA, MS gelişimde etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu hastaların serumlarında yüksek anti EBV düzeyleri ölçülmüştür (18).

Sitomegalovirus (CMV): CMV'nin SLE ve Guillain Barre sendromu gelişiminde rolü olduğu bilinmektedir (19).

Hepatit B virus (HBV): HBV virusla enfekte hastaların yaklaşık %20'sinde ekstra hepatik bulgular görülmektedir. En sık ekstra hepatik bulgular nöropatiler, miyalji, artralji, Sjögren's sendromu, glomerulonefrit, üveit, Raynaud sendromu, poliarteritis nodosa, psöriazis'tir.

HBV enfeksiyonu ile otoimmünite gelişiminde en çok üzerinde durulan teori HBe ve HBs antijenlerini içeren immün komplekslerin hastalık oluşturmalarıdır. Bu kompleksler kompleman aktivasyonu yapar ve lokal inflamatuvar yanıtı uyarır, küçük damarlarda vaskülit gelişir (20,21).

Hepatit C virüs (HCV): HCV enfeksiyonuna immunolojik ve ekstrahepatik sendromların sık olarak eşlik ettiği gösterilmiştir. Hepatit C virusu esansiyel miks kriyoglobulinemi, nefropati, sicca sendromu, idiopatik pulmoner fibrozis, liken planus, diabet, kronik poliartrit, porfiriya cutanea tarda ve tiroidite neden olabilir.

Kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastaların yaklaşık olarak %20-40'ında organa özgün olmayan otoantikorlar serumda saptanabilir. Enfeksiyon ve

otoimmünite arasındaki ilişkide; direkt otoimmüniteye neden olan moleküler benzerlik ve otoreaktif B ve T lenfositlerin indirekt aktivasyonu etkilidir (22).

2.4.3.2. Aşılar, ilaçlar ve otoimmünite

Bazı viral aşılarından sonra otoimmünite gelişimi artabilir. Hepatit B aşısı, influenza aşısı, kuduz aşısı sonrası bazı otoimmün reaksiyonlar gözlenmektedir (14). Bu otoimmün olaylar SLE, Guillain- Barre sendromu, üveit, liken planus, MS'dur (23).

Hepatit B aşısıyla birlikte otoimmünite oluşumu içeriğindeki HBsAg, adjuvant olarak kullanılan alüminyum, koruyucu olarak kullanılan civa ile ilişkili moleküler benzeşme olduğu düşünülmektedir.

Farelerde yapılan deneylerde civalı hidroklorür enjeksiyonu sonrası otoimmün hastalık oluşturdıkları saptanmıştır.

İlaçlar tarafından indüklenen; SLE, Myasthenia Gravis, otoimmün hemolitik anemi gibi birçok hastalık mevcuttur (15).

2.4.3.3. Sitokinler ve otoimmünite

İnterferon (IFN) gibi bazı sitokinlerle hücrelerin yüzeylerinde MHC II'nin fazla salgılanması otoreaktif T helperları uyarabilir ve otoimmün yanıt gelişebilir. IL-12, TNF, IFN γ gibi proinflamatuvar sitokinlerin salgılanması ve patolojik T helper1 yanıtını uyararak organ spesifik otoimmün hastalıkları uyarabilir. Sitokinlerin farklı hücre tipleri üzerindeki etkileri ve birbirleriyle pozitif ve

negatif etkileşimleri otoimmünite ve sitokin ilişkisinde bir takım belirsizliklere yol açmaktadır (15).

2.4.3.4. Otoimmün hastalıklarda tedavi

Tedavide çoğu yaklaşım doğal olarak oluşan immünolojik cevabın manüplasyonudur. Tedavide nonsteroidal antiinflatuarlar, steroid, immünsupresifler, anti TNF tedavide kullanılmaktadır (15).

2.5. Otoantikorlar

Teorik olarak insan hücreesindeki her yapıya karşı otoantikor gelişebilir. Bu moleküllerden hücre bölünmesinde görevli özellikle 30 kadar proteine karşı otoantikor gelişmiştir. Otoimmün cevap hücreyel veya humoral olarak gelişebilir. Humoral cevap sonucu oluşan antikorlara otoantikorlar denilir.

Nükleusa karşı gelişen otoantikorlara antinükleer antikorlar (ANA), sitoplazmik elemanlara karşı gelişenlere antisitoplazmik antikorlar (ACA), membranöz komponentlere karşı oluşana antimembran antikorlar veya antifosfolipid antikorlar (APA) denilmektedir (24).

Birçok otoimmün hastalıkta değişik otoantikorlar oluşur ve bunlar hastalıkların tanısında ve tedavi takibinde de anlamlıdır (25). Tablo 2’de oluşan antikor ve ilişkili olduğu hastalıklar gösterilmiştir.

Tablo 2. Otoantikorların Klinik Tanıda Yeri (25)

Antikor Spesifitesi	Moleküler Spesifite	Klinik İlişkili Hastalık
<u>Sistemik Otoimmün Hastalıklar</u>		
Anti-dsDNA	DNA	SLE
Anti-Sm	U1,U2,U4,U6 snRNP	SLE
Anti-nRNP	U1 snRNP	Miks konnektif doku hastalığı, SLE
Anti-SS-A(Ro)	RNP kompleksi ilişkili proteinler	Sistemik Skleroz, Neonatal Lupus, SLE
Anti-SS-B(La)	RNA polimeraz III transkriptindeki fosforile proteinler	Sistemik Skleroz, neonatal lupus, SLE
Anti Jo-1	Histidil t-RNA sentetaz	Polimiyozit
Anti-Fibrillarin	U3 snRNP	Skleroderma
Anti-RNA polimeraz 1	RNA polimeraz 1 kompleksi	Skleroderma
Anti –Scl-70	DNA topoizomeraz 1	Skleroderma
Antisentromer	Sentromerik proteinler CENP-A,B,C	CREST (skleroderma alt tipi)
c-ANCA	Proteinaz3 (serin proteinaz)	Wegener's vaskülit
Anti-asetilkolinreseptör	Asetilkolin reseptör	Myastenia Gravis
Anti-TSH reseptör	TSH reseptör	Graves hastalığı
Anti-tiroglobulin	Tiroglobülin	Kronik tiroidit
Anti-tiroid peroksidaz	Tiroid peroksidaz	Kronik tiroidit
Anti-mitokondrial antikor	Pirüvat dehidrogenaz kompleksi	Primer bilier siroz

2.5.1. Anti Nükleer Antikor (ANA)

ANA terimi, hücrenin herhangi bir bölgesindeki (nükleus veya sitoplazma) nükleik asit veya ribonükleoproteinlere karşı gelişen otoantikorları tanımlamak için kullanılır. Bu antikorlar; nükleer kromatin komponentlerine, sitoplazmik veya diğer hücresel elemanlara bağlanmalarına göre sınıflandırılır. ANA pozitifliği denildiğinde tüm ANA spektrumunu kapsayan genel bir pozitiflik söz konusudur (7). Bu antikorlar normal insanların dolaşımında yaklaşık %5'e kadar bulunabilir. Yaş ilerledikçe %15'e kadar çıkabilir (24).

ANA değişik bağ doku hastalıklarında değişik oranda pozitif bulunabilmektedir. Bu oranlar tablo 3'te gösterilmiştir.

ANA Holborow ve arkadaşları tarafından 1957 yılında ilk kez indirekt immünfloresan yöntemi ile gösterilmiştir. Bu test hala tarama testi olarak kullanılmaktadır. Daha sonra ELISA, immünodifüzyon, immünopresipitasyon ve immunoblot yöntemi de ANA'nın gösterilmesinde kullanıma girmiştir (3,27).

Tablo 3. Değişik bağ doku hastalıklarında ANA pozitifliği (26)

Hastalık	ANA pozitifliği %
SLE	95-100
RA	40-60
Sistemik skleroz	60-90
Polimiyozit-dermatomiyozit	49-74
Miks bağ doku hastalığı	100

Afşar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada IFA ve immunoblot yöntemi karşılaştırılmış. Sonuç olarak IFA'nin tarama amaçlı, immunoblot testinin tanımlama ve doğrulama amaçlı kullanılması vurgulanmış (28).

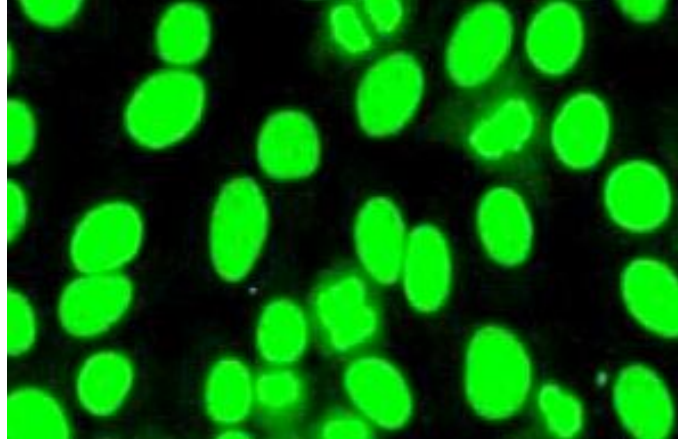
IFA diğerlerine göre daha hızlı ve daha ucuz olmasından dolayı ilk test olarak tercih edilir ve ANA tespitinde altın standarttır. Bu antikörlerin tayini tanıda önemli olduğu gibi prognozun takibinde de önemlidir. ANA tayininde başlıca IFA kullanılır. Hep-2 hücre kültürleri ile bu test uygulanmaktadır. Hep-2 kullanmanın avantajı daha büyük nükleus içermeleri bölünme sürelerinin daha kısa olması ve aynı zamanda bu sistemlerde antisentromer antikörlerinin da bakılabiliyor olmasıdır (29).

IFAT'da hasta serumu tampon solüsyonlarla seyreltilir. Hep-2 hücrelerinin fikse edildiği lamlara eklenir, antikörler hücrelerin içerisine girip bağlanır. Bu antikörler floresan işaretli anti-insan antikörleri ile işaretlenip immünfloresan mikroskopta incelenir.

Boyanma paternleri ve antijenleri:

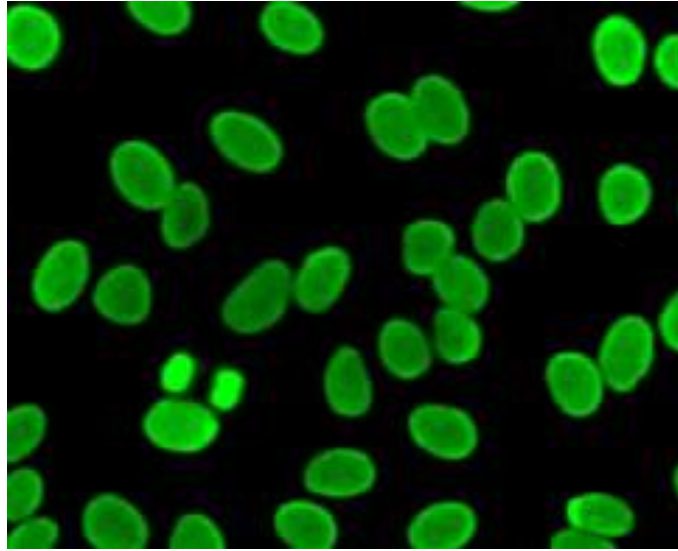
ANA IFAT ile başlıca görülen ANA boyanmaları şu şekildedir;

Homojen patern → Nükleusun homojen bir şekilde boyanması ile karakterizedir. Kromatine karşı oluşmuş otoantikörleri içermektedir..DNA histon kompleksi (H1, H2A, H2B, H3, H4), dsDNA (double-stranded DNA), nükleozomlar, ssDNA (single stranded DNA) boyanmasında görülür (30). Şekil 3'de ANA IFAT ile homojen patern gösterilmiştir.



Şekil 3. Homojen patern (31)

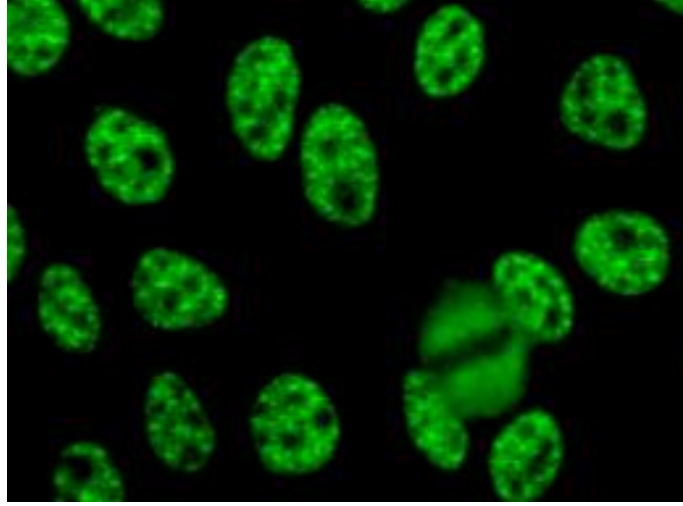
Periferal veya rim boyanma → DNA boyanmasını gösterir (30,32). Şekil 4’de ANA IFAT ile periferal boyanma gösterilmiştir.



Şekil 4. Periferal veya rim boyanma (31)

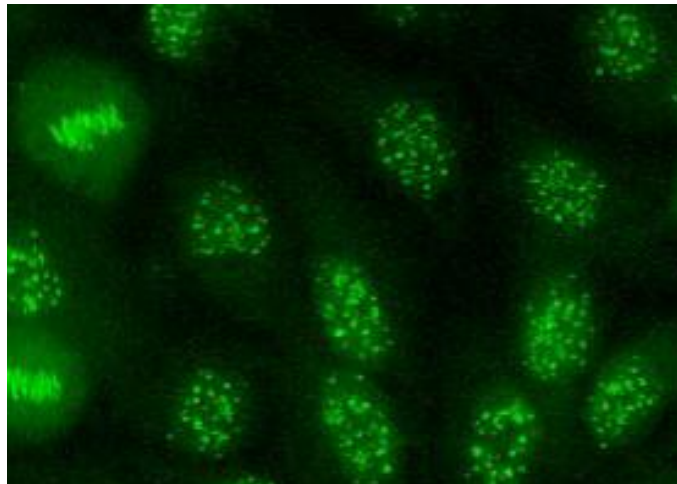
İnce granüler → Ekstraktable nükleer antijenler (ENA) (SS-A, SS-B, Sm, Ku, U1 RNP)’e karşı antikor oluşması durumunda ince granüler nükleus

boyanması saptanır. Şekil 5’de ANA IFAT ile ince granüler boyanma gösterilmiştir.



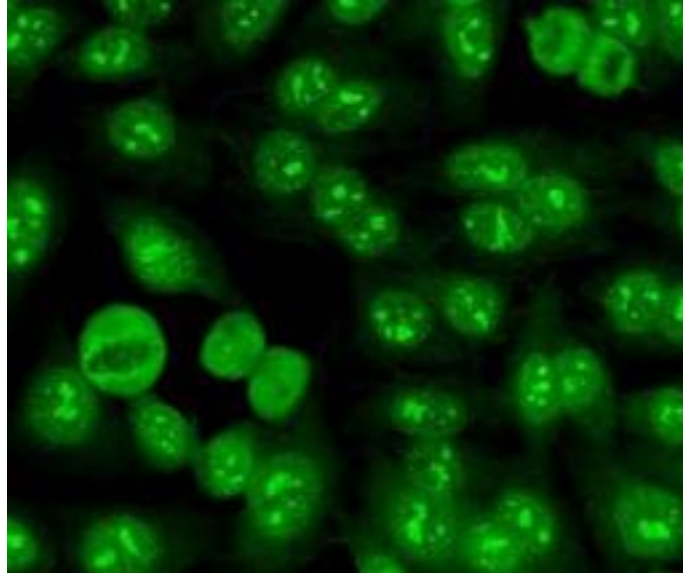
Şekil 5. İnce granüler boyanma (31)

Antisentromer paterni → Sentromere karşı antikor oluşmuştur. Şekil 5’de antisentromerik boyanma görülmektedir. Sentromer proteinleri olan CENP-A, CENP-B, CENP-C’ye karşı antikor oluşmuştur (30, 32).



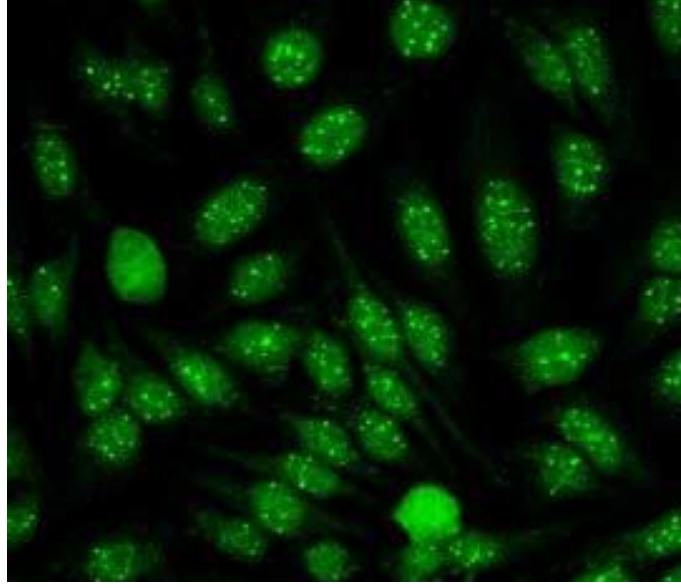
Şekil 6. Antisentromer paterni (31)

Nükleolar → Nükleolusa karşı oluşmuş antikorları kapsamaktadır. RNA polimeraz-1, nükleolar RNP, fibrillarin, NOR 90'a karşı otoantikorlar oluşmuştur (30, 32).



Şekil 7. Nükleolar patern (31)

Nükleer dots: Boyutları değişken olabilen ve istirahat halindeki hücrelerde hücre başına ortalama 10 nokta şeklinde boyanma gösterirler. Bölünen hücre kromatinleri boyanmaz. Antikorlar Sp-100 proteinine karşı oluşmuştur. Primer bilier sirozlu hastaların %30'dan fazlasında, sıklıkla Sjögren sendromlu hastalarda, SLE ve diğer kronik inflamatuvar bağ dokusu hastalıklarında tespit edilebilirler (31).



Şekil 8 Nükleer dots (31).

ANA otoimmün hastalıklardan; Hashimoto's tiroiditi, Graves hastalığı, otoimmün hepatit, primer bilier siroz, primer otoimmün kolanjit, primer pulmoner hipertansiyon, SLE (%100), sistemik skleroz (%70-90), miks bağ doku hastalıkları, polimiyozit/dermatomyozit (%70-90) romatoid artrit (%40-50), sjögren sendromu (%60-80), ilaçla ilişkili lupus (%100), Multiple Skleroz (%20-30) ve diskoid lupusda pozitif bulunabilir (33, 34).

ANA IFAT testi pozitif bulunduktan sonra ikinci aşamada paterne neden olan antijenin belirlenmesi işlemi gelir. Araştırmalar sonucunda SS-A, SS-B, U1-snRNP, dsDNA ve Scl-70 gibi bazı antijen tipleri ayrıştırılmıştır. Gerektiğinde pozitif ANA sonucundan sonra antijenin belirlenebilmesi için ENA adı verilen test uygulanmaktadır. Örneğin ANA test sonucu granüler patern pozitif çıkan bir hastada ENA testiyle de U1-snRNP pozitif bulunur ise hastanın SLE olasılığının

yüksek olduğu düşünülmektedir. ENA testinin maliyeti yüksektir. O yüzden sadece yeni tanı almış hastalara uygulanmalıdır (33).

2.5.2. ANA Subtipleri

2.5.2.1. Anti-dsDNA antikorları

Tek sarmal veya çift sarmal DNA'ya karşı antikor gelişebilir. Çift sarmal (dsDNA) DNA'ya karşı oluşan antikorların SLE'de tanı koyduruculuğu yüksektir. Hastaların %60-83'ünde pozitifdir.

Sistemik lupusta ve nefritte dsDNA antikorları pozitifdir. Tanısında en önemli testler ELISA, radyoaktif immunoassay ve *Crithidia luciliae* (tek flajellalı bir parazit)'den hazırlanmış IFA (CLİF) testidir (33).

2.5.2.2. Ekstrakte edilebilir nükleer antijenlere karşı antikorlar (anti-ENA)

Anti-Ro/SS-A ve Anti-La /SS-B antikorları: Moleküler olarak 60 ve 52 kDa olmak üzere 2 adet Ro proteini vardır. Anti-SSA, anti-Ro52 ve anti-SSB otoantikorları SLE ve SS'de görülürler. Gebe SLE'li kadınlardaki bu antikorlar neonatal lupus sendromuna yol açarlar. Bunun için gebe kadınlarda bakılması önemlidir.

Anti Ribozomal P proteinleri: Bu antikorlar protein sentezini inhibe ederler. Anti-Jo1 Histidil tRNA sentetaza karşı antikor oluşmuştur. Polimiyozit ve dermatomyozitli hastalarda görülür. Hastalık remisyon girince kaybolduklarından remisyon takibinde kullanılır (7).

Anti-Sm ve anti-RNP: Bu iki antikor sıklıkla SLE'de birlikte saptanır. Anti Sm antikorları U1, U2, U4-6, U5 RNP'ye karşı oluşur. Anti-Sm antikorları da anti dsDNA gibi SLE için spesifiktir (7, 24).

Anti-histon antikorlar: Sklerodermada pozitif olabilir. Anti Scl-70 ve antisentromer antikor sistemik sklerozda saptanan antikorlardır. Anti Scl-70 topoizomerez enzimine karşı gelişmiştir (7, 24).

2.5.2.3. Romatoid faktör (RF)

RF romatizmal hastalıkların tanısında sık kullanılan önemli bir parametredir. IgG' nin Fc kısmına karşı oluşan antikorlara romatoid faktör denir. Bu antikorlar sıklıkla IgM yapısında olmakla birlikte IgG, IgE ve IgA yapısında da olabilirler. Sağlıklı insanlarda da pozitif olabilir (36, 37).

Romatoid artrit, SLE, skleroderma, Sjögren's sendromu, subakut bakteriyel endokardit, tüberküloz, AIDS, influenza, parazitozlar, silikosis, sarkoidosis, bronşiyal astım, yaşlanma, malignensiler, siroz gibi bir çok farklı hastalıkta pozitif bulunabilir.

RF birçok hastalıkla ilişkili olduğu için tanısal değerinin iyi bilinmesi gerekir. Öncelikle hastanın şikayetlerinin ve klinisyenin muayenesinin iyi değerlendirilmesi ve ona göre RF istenmesi gerekir.

RF tanısında birçok test kullanılmaktadır. Bunlar latex aglütinasyonu yöntemi, Rose Waaler Testi, RIA, ELISA, nefelometrik yöntemlerdir (37).

2.5.2.4. Anti-CCP (Anti- Cyclic Citrullinated Peptide)

Romatoid artritli hastalarda saptanan antisitrüline protein antikorları, merkezinde sitrülil yapısı bulunan bulunan protein epitoplarını hedef alır. Yapılan çalışmalarda RA'ya RF 'den daha spesifik olduğu tesbit edilmiştir. (38).

2.5.2.5. Anti nötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA)

Anti nötrofil sitoplazmik antikorlar monositlerin lizozomları ve nötrofillerin primer granüllerine karşı oluşan genellikle IgG tipinde otoantikorlardır. ANCA 1982 yılından beri vaskülitlerin laboratuvar tanısında kullanılır.

1985 yılında van der Woude ve arkadaşları Wegener's granülomatozisli hastaların nötrofillerinde immunfloresan ile sitoplazmik boyanmayı; cANCA 'yı saptamışlardır.

1988'de Falk ve Jennette sistemik vaskülitlerde ve idiopatik nekrotizan kresentrik glomerülonefritli hastalarda perinükleer paterni göstermiştir. Bu araştırmacılar ELISA ile perinükleer ANCA' da hedefin myeloperoksidaz (MPO) olduğunu göstermişlerdir.

1990 yılında ise Jenne ve arkadaşları tarafından Wegener's granülomatozisli hastalarda saptanan sitoplazmik paternin proteinaz 3'e karşı oluştuğu gösterilmiş (39).

ANCA IFAT tanısında etanolle fikse edilmiş nötrofil preparatları tanıda kullanılmaktadır (40).

PR3 bir serin proteazdır. Nötrofillerin azurofilik granüllerinde ve monositlerin peroksidaz pozitif lizozomlarında bulunur. Endotel yüzeyinde de olduğuna dair tartışmalar devam etmektedir. PR3 eğer nötrofil yüzeyinden eksprese ediliyorsa ANCA ilişkili vaskülitler daha yüksek oranda görülür.

Myeloperoksidaz nötrofildeki total proteinin %5'ini oluşturur. PR3'le aynı yerlerde lokalizedir (41).

ANCA'nın tanısında IFAT ve ELISA birlikte kullanılmaktadır. İmmunfloresan belirli merkezlerde yapılabildiği için ELISA'nın tanıda kullanılması daha avantajlı olabilir.

ANCA IFAT da görünümüne göre çeşitli paternlere ayrılmıştır. Bunlar;

- c-ANCA
- p -ANCA
- Atipik ANCA 'dır (39).

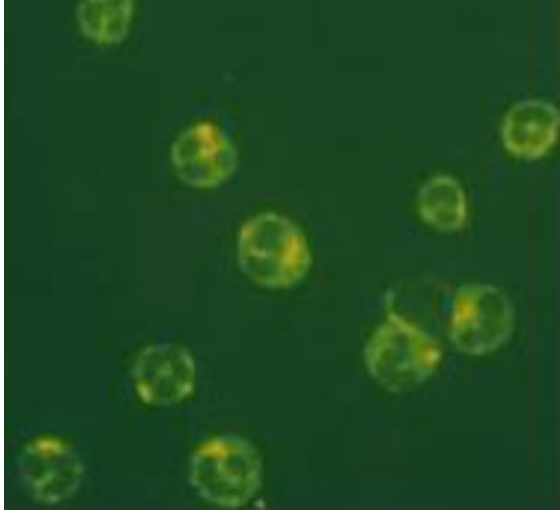
Vaskülitlerin oluşum mekanizmalarının anlaşılmasından sonra ANCA'nın önemi daha da artmıştır. Avrupa standardizasyon çalışmaları sonucunda IFAT ile periferik kan nötrofillerini görmek ve ELISA ile proteinaz ve myeloperoksidaz antikorlarını doğrulamanın ANCA için en güzel ve doğru tanı yaklaşımı olduğu kabul edilmiştir (39,41).

c-ANCA: IFAT ile interlobüler belirginleşme ve sitoplazmik granüler floresans verir. c-ANCA'da sıklıkla ELISA ile PR3 (Proteinaz-3) saptanmaktadır.

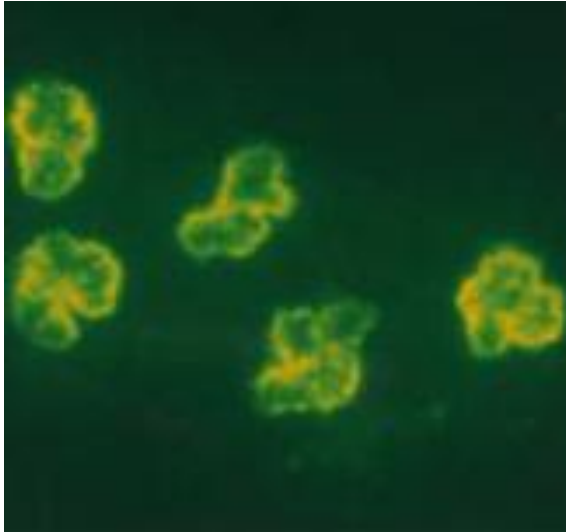
Bu durumda sıklıkla Wegener's granülomatozisi ile ilişkilidir, PR3'e karşı antikor oluşur ve spesifiktir (39,41).

p-ANCA: Nükleer uzantı vardır ve perinükleer floresans verir. Myeloperoksidaza (MPO) karşı antikor oluşur ve spesifiktir. Tipik olarak mikroskobik polianjiitis, Churg-Strauss sendromu ve ilaca bağlı vaskülitlerde saptanmaktadır,%10 sıklıkta Wegener's granülomatozisli hastalarda da saptanabilir. İlaça bağlı vaskülitlerde yüksek titrede MPO'ya rastlanılmaktadır (39).

Atipik ANCA: Sitoplazmik ve perinükleer floresans birlikte görülür. Antijenler p-ANCA ile aynıdır (41). Atipik ANCA paternlerine geniş bir hastalık grubunda rastlanılmaktadır. En önemlileri inflamatuvar barsak hastalıkları sistemik immünite ilişkili hastalıklar ve enfeksiyonlardır. Atipik ANCA paternleri sıklıkla p-ANCA'dan zor ayırtedilmektedirler. Genellikle bakteriyel permeabilite inhibe eden protein (BPI), laktoferrin, elastaza karşı oluşmuş antikorlardır (39,41). Şekil 9 ve 10'da ANCA IFAT paternleri gösterilmiştir.



Şekil 9. c-ANCA (42)



Şekil 10. p-ANCA (42)

Tüm bu antijenlerden farklı olarak yapılan son çalışmalarda ANCA için yeni proteinler gösterilmiştir. Bunlar yüksek mobilite grubu, non histon kromozomal proteinler (43), alfa enolaz (44), beta glukronidaz (45), azurosidin (46), aktin (47), insan lizozom ilişkili membran proteini- 2 (48)'dir.

p-ANCA aynı zamanda inflamatuvar barsak hastalıklarında özellikle de ülseratif kolitte %60-80 oranında pozitif olarak bulunabilmektedir (49). Chron's hastalığında ise %10-30'unda bulunur (50).

p-ANCA kolon mukozasındaki B hücreleri tarafından üretilir ve nötrofillerin nükleer zarf proteini ile reaksiyona girer İnflamatuvar barsak hastalıklarında hedef antijen tanımlanamamıştır (51).

Vaskülitlerin tanısında pozitif ANCA IFAT sonuçları ELISA yöntemi ile desteklenmelidir (39).

ANCA Wegener granülomatozu ya da mikroskobik polianjit için %95 duyarlı, %90 özgül bir testtir. ANCA seviyeleri genellikle Wegener granülomatozu, mikroskobik polianjit, Churg-Strauss Sendromu ve Pauciimmün Segmental Nekrotizan Glomerülonefrit'te hastalığın aktivitesiyle korelasyon gösterir. ANCA hastalığın akut evresinde genellikle pozitifdir ve kanda saptanır. Tedaviye başladıktan sonra ANCA negatifleşebilir. Eğer hastalık tekrar alevlenirse yeniden pozitifleşme görülür. Bu açıdan laboratuvarın hastaya ait yeni tanı-relaps, tedavi alıyor-almıyor gibi soruları bilmesi gerekir.

Yılmaz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ANCA varlığının tanısal önemi saptanmaya çalışılmış. Çeşitli inflamatuvar hastalık ön tanılı 137 hastadan alınan serum örnekleri ELISA ile incelenmiş. Bunlardan 10 hasta (%7.3) ANCA (+), 3 hasta (%2.2) kuşkulu pozitif saptanmış. Sonuç olarak ANCA ELISA' nın iyi bir tarama testi olduğu, ancak olumlu ve kuşkulu olumlu sonuçlar söz konusu olduğunda, örneklerin sitoplazmik ANCA (c-ANCA) ve perinükleer ANCA (p-ANCA) yönünden, örneğin IFAT gibi farklı bir test yöntemi ile incelenmesi ve

süreç boyunca laboratuvar ile klinik arasında sürekli bir iletişimin kurulması gerekliliği kanısı edinilmiş (52).

2.5.2.6. Anti glomerül bazal membran antikor (Anti GBM)

Glomerül bazal membranında bulunan tip 4 kollajene karşı oluşur. Böbrek dokusuna ek olarak akciğer gibi tip 4 kollajenin bulunduğu diğer dokuları da etkileyebilir. IFAT yine tanı için ilk aşamada kullanılacak testdir. IFAT’ de kanda, alveol kapiller duvarı ve glomerüllerde IgG’ nin lineer depolanması gösterilir. Genellikle depolanmayı göstermek için glomerüller sık kullanılır. Kullanılan diğer bir test ELISA ‘dır. ELISA’nın duyarlılığı ve özgüllüğü yüksektir (duyarlılık %95, özgüllük %97) ancak bu testi uygulayan merkez sayısı azdır.

Anti GBM Goodpasture Sendromu tanısında diagnostik önem taşımaktadır. Ayrıca idiopatik pulmoner fibroziste de tanı koymada yardımcıdır (53).

2.5.2.7. Anti-mitokondriyal Antikor (AMA)

Mitokondriyal antijenlere karşı oluşur ve pirüvat dehidrogenaz enzim kompleksinin E2 subuniti ile reaksiyona girer. Primer Bilier Sirozun tanısında önemlidir (54).

İlk kez 1958 yılında Primer Biliyer Sirozlu bir kadının serumunda yüksek titrede fark edilmiş.

1967 yılında Berg tripsin duyarlı mitokondriyal antijeni M2 antijeni ve anti kardiyolipin antikorunu da M1 antikoru olarak isimlendirmiş.

Daha sonra mitokondriyal antikorları 9 alt gruba ayırmış. Fakat bu 9 tip günümüzde pek kullanılmamakta çünkü birkaç tip çok sık görülürken diğerleri nadir görülmektedir. Özellikle M2 otoimmün hastalıklarla ilişkisi ve görülme oranı açısından çok değerlidir. Özellikle Primer Biliyer Siroz (PBS) tanısında önemlidir. PBS'lu hastaların %85-90'ında pozitifdir.

AMA IFAT ile bakıldığında hücre sitoplazmasında ince benekli floresans verir. Fakat yanlış negatif sonuçlara neden olduğundan AMA tespitinde immün floresans pek kullanılan bir yöntem değildir. AMA tespitinde ELISA ve immunoblot yöntemi tercih edilebilir.

2.5.2.8. ASMA (anti smooth muscle antibody, anti düz kas antikoru)

Özellikle otoimmün hepatit (OİH) tip1 tanısında kullanılan bir otoantikordur. OİH'de ASMA anti-aktin spesifite gösterir ve böbrek glomerülü, proksimal renal tübüler hücreler, mide pariyetal hücreleri ve karaciğer hücreleri ile çapraz reaksiyon verir (41).

IFAT'da rat dokuları kullanılır. Yine belirli oranlarda dilüsyon yapılır. Sonra immün floresan mikroskobu altında slayttaki sahalar incelenir (mide, karaciğer, böbrek). Esas olarak ASMA incelenmesinde mide önem taşır. ASMA tanısında IFAT özgüllük ve duyarlılık açısından iyi ve yeterli bir testtir (55).

2.5.2.9. Anti- liver kidney mikrozomal antijen tip (LKM-1)

Anti LKM-1 mikrozomal enzim sitokrom P450'yi etkiler. Tanımlanmış 3 alt tipi bulunmaktadır; LKM-1, LKM-2 ve LKM-3. Bu 3 alt tip de farklı

antijenleri etkiler ve immünfloresan mikroskobu altında farklı şekilde görülür. Anti LKM-1 parlak bir şekilde proksimal renal tübülün 3. kısmını ve hepatositlerin sitoplazmasını boyarken gastrik mukoza hücrelerini boyamaz ya da zayıf boyar. Bu otoantikorun gösterilmesinde IFAT ve immunoblot ELISA'ya göre daha iyi ve tercih edilen testlerdir. Özellikle Anti LKM-1 tip 2 otoimmün hepatit tanısında kullanılan bir parametredir (55).

2.5.2.10. Anti-liver sitosol antikor (Anti- LC 1)

Bu antikor genellikle Anti LKM-1 'le birliktelik gösterir ve otoimmün hepatit tip 2'de görülür. Anti LC-1 antikorları kendine hedef olarak formiminotransferaz siklodeaminaz enzimini seçer. IFAT ile bakıldığında karaciğerde zonal hasar yaparak hepatosit sitoplazması boyanır (55).

Otoimmün hepatit tip-1 ANA ve ASMA pozitifliği ile karakterizedir.

Otoimmün hepatit tip-2 anti-LKM -1 ve anti- LC-1 pozitifliği ile birliktedir (55).

2.6. Otoantikor Tayininde Kullanılan Yöntemler

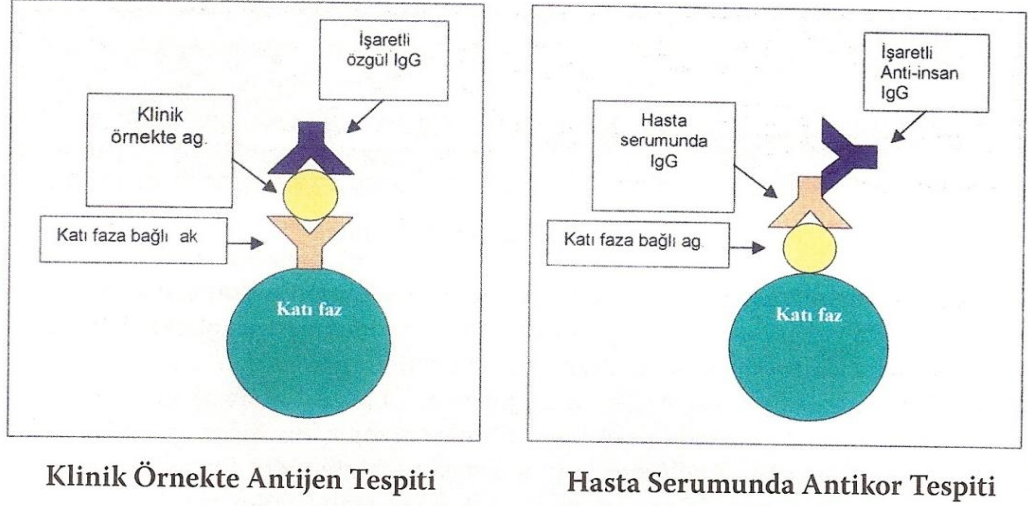
- 1- İndirekt immunofloresan (IFA)
- 2- İmmünoassays
- 3- Enzimimmünassay (ELISA)
- 4 - İmmünoradiometrik assay (IRMA)
- 5- İmmunoblot, Western blot, Dot blot
- 6- Aglütinasyon (hemaglütinasyon ve latex aglütinasyon)

- 7- İmmünopresipitasyon
- 8- Nefelometri
- 9- İmmünodifüzyon
- 10- İmmünoelektroforez (56).

Kullanılan testler işaretli katı faz yöntemlerindendir. İşaretli katı faz yöntemleri antijen ve antikor saptamada kullanılan hızlı yöntemlerdir. Reaktiflerden biri (antijen veya antikor) katı bir faza bağlanarak hareketsizleştirilir. Sonra örnek koyulur ve özgül birleşme işaretli bir reaktif kullanılarak gösterilir.

Katı faz yöntemlerinde kullanılan işaretli konjugat molekülleri; genellikle insan immünglobulinlerine karşı hayvanda (örn. keçi ve tavşan) hazırlanmış ve işaretlenmiş anti-insan IgG, IgM ve IgA molekülleri ya da araştırılacak olan antijene özgül işaretli antikor molekülleridir. Bu yöntemlerde monoklonal antikorların kullanılması özgüllük ve duyarlılığı arttırır. Aşağıda şekil 11’de antikor ve antijen tespitinde kullanılan işaretli katı faz yöntemlerinin temel mekanizması gösterilmiştir.

İşaretli Katı Faz Yöntemlerinin Temel Mekanizması



Şekil 11. İşaretli katı faz yöntemlerinin temel mekanizması (57)

2.6.1. İndirekt İmmüno Floresan Antikor (IFAT)

Bu yöntemde hasta serumunda antikor tespiti yapılır. Burada kullanılan lamalar üzerine istenen antijenlerin fikse edilmesi ile hazırlanır. Hasta serumları bu lamalar üzerindeki alanlara damlatılır ve inkübe edilir. Fosfatlı tampon ile yıkama işleminden sonra “fluorescein isothiocyanate” ile işaretli anti-insan antikor (konjugat) eklenir. Tekrar inkübasyon ve tekrar yıkamadan sonra kurutulur ve gliserol damlatılarak lamelle kapatılır ve incelenir (57).

2.6.2. İmmunoblot Testi

Antikor spesifitesini tanımlamak için zorunlu bir test haline gelmiştir. Temel olarak, antijen preparasyonları poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) ile ayrılmakta ve nitrosellüloz membrana elektrotransferi gerçekleştirilmektedir. Sonraki

aşamada dilüe edilmiş hasta serumu ile inkübasyon geręekleřmekte ve antikor reaktivitesi radyoaktif işaretli veya enzim işaretli ikinci bir reagent ile belirlenmektedir.

Çözünmüş proteinlerin poliakrilamid jelden nitrosellüloz membrana elektrotransfery proteinlerin kantitatif tayinini mümkün hale getirdiği gibi transfer süreci içinde ayrılmış proteinlerin tamamen çözülmesini sağlamaktadır. Bir sonraki adımda katı yüzeye tutunmuş antijenler antikor veya diğer reagentlerle kolaylıkla birleşebilmektedir (58).

2.6.3. ELISA ile antikor tespiti

Mikropleyt çukurlarına özgül antijen bağlıdır. Çukurlara hasta serumu dilüsyonları eklenir. Özgül antikor (IgG veya IgM) varsa antijenle birleşir.

- Inkübasyon ve yıkama işleminden sonra hangi tip antikor araştırılıyorsa ona özgül konjugat eklenir (IgG araştırılıyorsa enzimle işaretli anti-insan IgG, IgM araştırılıyorsa enzimle işaretli anti-insan IgM)
- Inkübasyon ve yıkama sonrası çukurlara kromojenik substrat eklenir.
- Reaksiyon sonucu oluşan renk değişikliği hasta serumundaki antikor miktarı ile doğru orantılıdır ve spektrofotometrik olarak değerlendirilir (57).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Hasta Grubu

Çalışmamıza Gazi Üniversitesi Hastanesi Merkez İmmünoloji Laboratuvarına 2009 - 2012 tarihleri arasında başvurmuş 253 hasta dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- 1) ANA'sı IFA ile pozitif saptanmış ve immunoblotla en az bir antikoru pozitif bulunan 224 hasta ile
- 2) ANCA'sı IFA ile pozitif saptanmış ve ELISA ile en az bir antikoru pozitif bulunan 29 hastanın sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

Bu hastalarda anti-dsDNA ELISA, ASMA IFAT, RF, anti-CCP, karaciğer profili (immunoblot), ASMA sonuçları da değerlendirilmiştir. Fakat bu tetkikler çalışmaya dahil edilme kriteri olarak kabul edilmemiştir.

Çalışmamızla ilgili etik kurul kararı Gazi Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 13.06.2012 tarih ve 239 numaralı kararı ile alınmıştır.

3.2. Yöntemler

Çalışmamızda hastaların test sonuçları retrospektif olarak hastanemizin bilgisayar sisteminden elde edilmiştir.

3.2.1. ANA ve ANCA Pozitifliğinin IFAT ile Belirlenmesi

Hastaların ANA ve ANCA sonuçları hastanemiz bilgisayar sisteminden retrospektif olarak edinilmiştir. ANA ve ANCA pozitifliğinin değerlendirilmesinde IFA yöntemi kullanılmıştır. IFA yönteminde ticari kit olarak Euroimmun (Germany) kullanılmıştır.

ANA IFA Testinin Çalışma Prosedürü

1. Çalışmada kullanılmak üzere 1 lt distile suya bir poşet kristalize fosfat tampon solüsyonu (PBS) koyulup, çözününce üzerine tween 20 eklenilmiştir.
2. Hasta örneklerinin 10µl 'si üzerine 1000 µl PBS konularak 1\100' lük dilüsyon hazırlanmıştır.
3. Bu dilüsyondan 25µl alınıp inkübasyon tepsisinin üzerine uyumlu kuyucuklara konulmuştur. Tepsinin üzerine bir pozitif kontrol bir de negatif kontrol konulmuştur.
4. İnkübasyon tepsisinin üzerine ANA için hazırlanmış olan slaytlar yerleştirilip 30 dk beklenmiştir.
5. Slaytlar inkübasyon tepsisinin üzerinden alınıp PBS solüsyonu içinde iki kez 5' er dk yıkanmıştır.
6. İnkübasyon tepsisinin kuyucuklarına 20 µl konjugat koyulup (floresans işaretli anti IgG) üzerine slaytlar konularak 30 dk beklenmiştir.
7. Yıkama işlemi tekrar edilmiştir.

8. İnkübasyon tepsisinin kuyucuklu kısımları çıkarılır üzerine lam yerleştirilir. Onun üzerine 1 damla gliserol konulur.
9. Değerlendirme aşamasında floresans mikroskobu Carl Zeiss objektif olarak Eurostar marka kullanılmıştır. Bu aşamada pozitifliğin yanında hücre nükleusu ve sitoplazmik komponentlere karşı gelişen homojen, nükleer dots, nükleolar, granüler, sitoplazmik patern dikkate alınmıştır. Her serum için uygulanacak titreler sırasıyla: 1/40, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600 ve 1/3200 olarak belirlenmiştir. 1/40'lık dilüsyondan başlanarak çalışılan serumlar pozitiflik yakalandıkça her defasında bir üst titreye alınmıştır. Negatifliğin olduğu titrenin bir altındaki değer pozitif olarak kabul edilmiştir. Son olarak 1/3200'de hala pozitif veren serumlar için '1/3200 ve üzeri pozitif' sonucu verilmiştir.

3.2.2. ANCA IFA Testinin Çalışma Prosedürü

1. Çalışmada kullanılmak üzere 1lt distile suya bir poşet kristalize PBS koyulur, çözününce üzerine tween 20 eklenilmiştir.
2. Hasta örneklerinin 10 µl' si üzerine 100 µl PBS konularak 1\10 luk dilüsyon hazırlanmıştır.
3. Bu dilüsyondan 25 µl alınıp inkübasyon tepsisinin üzerine uyumlu kuyucuklara konulmuştur. Tepsinin üzerine bir pozitif kontrol bir de negatif kontrol konulmuştur.

4. İnkübasyon tepsisinin üzerine ANCA için hazırlanmış olan slaytlar yerleştirilip 30 dk beklenmiştir.
5. Slaytlar inkübasyon tepsisinin üzerinden alınıp PBS solüsyonu içinde iki kez 5' er dk yıkanmıştır.
6. İnkübasyon tepsisinin kuyucuklarına 20 µl konjugat koyulup (floresans işaretli anti IgG) üzerine slaytlar konularak 30 dk beklenmiştir. Yıkama işlemi tekrar edilir.
7. İnkübasyon tepsisinin kuyucuklu kısımları çıkarılır üzerine lam yerleştirilir. Onun üzerine 1 damla gliserol konulur.
8. Değerlendirme aşamasında floresans mikroskobu Carl Zeiss, objektif olarak Eurostar marka kullanılmıştır. Negatif veya p-ANCA pozitif, c-ANCA pozitif olarak sonuçlar verilmiştir.

3.2.3. Otoantikör Profilinin Değerlendirilmesi

Hastaların otoantikör profili sonuçları hastanemiz bilgisayar sisteminden retrospektif olarak edinilmiştir. Bu sonuçlar immunoblot ile elde edilmiştir. Ticari kit olarak Euroimmun kullanılmış ve çalışmalar üretici firmanın önerileri doğrultusunda prosedüre uygun olarak laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

İmmunoblot Çalışma prosedürü:

1. Çalışmaya başlamadan önce inkübasyon kanallarına yerleştirilen membran striptleri, 1,5 ml kullanıma hazır sample buffer ile 5 dakika inkübe edilmiştir.

2. Sample buffer ile 1/101 oranında dilüe edilmiş serumlardan inkübasyon kanallarına 1.5 ml pipetlenerek 30 dakika shakerda inkübasyona bırakılmıştır.
3. Distile su ile 1/10 oranında dilüe edilen 1.5 ml wash buffer ile her kanal 5 dakika yıkanmış ve bu işlem üç kez tekrarlanarak toplam 15 dakika uygulanmıştır.
4. Sample buffer ile 1/10 oranında dilüe edilen konjugattan her bir inkübasyon kanalına 1.5 ml ilave edilerek 30 dakika shakerda inkübasyona bırakılmıştır.
5. 2. aşamadaki yıkama işlemi aynen uygulanmıştır.
6. Kullanıma hazır olan substrat her bir inkübasyon kanalına 1.5 ml pipetlenmiş ve 10 dakika shakerda inkübasyona bırakılmıştır.
7. Her bir inkübasyon kanalına 1.5 ml distile su ilave edilerek reaksiyon durdurulmuş ve striplerde pozitif kontrole uygun bir renklenmenin olup olmadığına bakılmıştır. Sonuçlar negatif (-) ve pozitif (1 pozitif ile 3 pozitif arası) olarak değerlendirilmiştir.

Membran striplerinde, ANA alt grubu olarak kabul edilen anti-ENA antikorlarının her birine ait özel bir çizgi bulunmaktadır. Stripin en alt kısmında ise çalışma sonunda tüm striptlerde renklenmesi beklenen pozitif kontrol bulunmaktadır.

Sonuçlar pozitif kontrol çizgisine göre değerlendirilmiştir. Strip üzerinde 1 pozitif kontrol ve 7 alt grup bulunmaktadır. Bu alt gruplar sırasıyla: SS-A, SS-B, Sm, Scl-70, Ro-52, RNP/Sm-, Jo-1, alt gruplarıdır.

3.2.4. Anti-dsDNA, Anti-CCP ve RF, ANCA Profili ve Karaciğer Profilinin Değerlendirilmesi

Hastaların Anti-dsDNA, anti-CCP, ve RF, ANCA profili, profili ve karaciğer profili sonuçları hastanemiz bilgisayar sisteminden retrospektif olarak elde edilmiştir. Anti-dsDNA (Euroimmun), anti CCP (Medipan), ANCA Profili (AIDA) ELISA yöntemi ile üretici firmaların önerileri doğrultusunda çalışılmıştır

Karaciğer profili immunoblot yöntemi ile üretici firmanın (Euroimmun) önerileri doğrultusunda çalışılmıştır.

RF (Romatoid Faktör) Immage 800 cihazında (Beckman Coulter Ireland) nefelometrik olarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda kantitatif olarak çalışılmıştır. Test sonucu $\geq 20\text{IU/mL}$ olan hastalar pozitif, $< 20\text{IU/mL}$ olan hastalar negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.3. İstatistiksel İncelemeler

İstatistiksel değerlendirme SPSS 15.0 (spss Inc., USA) bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Verilerin değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi ve Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı, yapılan tüm analizlerde $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma, frekans dağılımı yüzde olarak sunulmuştur.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grupları

Çalışmamızda bir grup ANA IFAT pozitif saptanmış olan hastalardı. İkinci grup ise ANCA IFAT pozitif saptanmış olan hastalardı.

4.2. ANA IFAT Pozitif Çalışma Grubundaki Hastaların Genel Özellikleri

Çalışmamıza dahil edilen ANA IFAT pozitif hastaların cinsiyete göre dağılımı tablo 4 'da verilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 224 ANA IFAT pozitif hastanın 196'sı kadın, 28'i erkek hastadan oluşmaktadır.

Tablo 4. ANA IFAT pozitif hastalarda cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Sayı	Yüzde
Kadın	196	%87,5
Erkek	28	%12,5
Toplam	224	%100.0

Hastaların başvurdukları iller Ankara ve Ankara dışı olarak gruplandırılmıştır. Tablo 5'da bu gruplar yer almaktadır.

Tablo 5. Hastaların başvurdukları iller

	Sayı	Yüzde
Ankara	165	%73,7
Ankara dışı	59	%26,3

ANA IFAT pozitif bulunan 224 hasta 19 farklı klinikten gönderilmiştir. Hastaların geldiği klinikler tablo 6’da gösterilmiştir.

Tablo 6. Kliniklerden gelen ANA IFAT pozitif hasta sayıları

KLİNİK	HASTA SAYISI	YÜZDE
Romatoloji	158	%70,5
Hematoloji	9	%4
Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	8	%3,6
Pediyatri	8	%3,6
Dahiliye	6	%2,7
Nefroloji	6	%2,7
Diğer (Endokrin, onkoloji, gastroenteroloji, kardiyoloji, göğüs hastalıkları, dermatoloji, nöroloji, kadın doğum, genel cerrahi, kardiyovasküler cerrahi, göz, enfeksiyon hastalıkları, kulak burun boğaz hastalıkları)	29	%12,9
Toplam	224	%100

Dahiliye kliniğini yan dallarıyla (genel dahiliye, romatoloji, endokrin, hematoloji, nefroloji, gastroenteroloji kliniği) birlikte ele alacak olursak 183 hasta dahiliye polikliniğinden (%81,7) gönderilmiştir.

Diğer olarak isimlendirdiğimiz kliniklerden yapılan başvurular; endokrin 1 hasta, onkoloji 1 hasta, gastroenteroloji 2 hasta, kardiyoloji 1 hasta, göğüs hastalıkları 4 hasta, dermatoloji 4 hasta, nöroloji 3 hasta, kadın doğum 2 hasta, genel cerrahi 1 hasta, kardiyovasküler cerrahi 2 hasta, göz 2 hasta, enfeksiyon hastalıkları 4 hasta, kulak burun boğaz hastalıkları 2 hasta içermektedir.

Hastaların yaşları 4-79 yaş aralığındadır. ANA IFAT pozitif hastalardaki yaş (ortalama $\pm$ SD) 47,7 $\pm$ 15,2 idi. Başvuran hastaların yaş gruplaması yapılmıştır. Sonuçlar tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grubu	Sayı	Yüzde
0-9 yaş	2	%0,9
10-19 yaş	6	%2,7
20-29 yaş	21	%9,4
30-39 yaş	41	%18,3
40-49 yaş	41	%18,3
50-59 yaş	57	%25,4
60-69 yaş	43	%19,2
70 ve üzeri yaş	13	%5,8
Toplam	224	%100

4.2.1. ANA Pozitifliğinin Dağılımı

ANA IFAT pozitif 224 hastanın 79’u (%35,5) 1 pozitif, 66’sı 2 pozitif (%29,5), 69’u 3 pozitif (%30,8), 10 tanesi 4 pozitif (%4,5) olarak boyanmıştı. Tablo 8’de ANA pozitifliği dağılımı açıklanmıştır.

Çalışmamızdaki 224 ANA IFAT pozitif hastanın ANA pozitifliklerinin dağılımı tablo 8’de gösterilmektedir.

Tablo 8. ANA Pozitifliği Dağılımı

ANA Pozitifliği	Sayı	Yüzde
1 pozitif	79	%35,3
2 pozitif	66	%29,5
3 pozitif	69	%30,8
4 pozitif	10	%4,5

4.2.2. ANA Pozitif Hastaların Paterne Göre Dağılımı

Çalışmamızda en fazla (%70,5) ince granüler patern tesbit edilmiştir. ANA pozitif hastaların paterne göre dağılımı tablo 9’da gösterilmektedir.

Tablo 9. ANA pozitif hastaların paterne göre dağılımı

Patern	Sayı	Yüzde
İnce granüler	158	70,5
Homojen	18	8
Nükleolar	12	5,4
Antisentromer	10	4,5
İnce granüler + nükleolar	10	4,5
Nükleer dots	5	2,2
İnce granüler + homojen	4	1,8
Sitoplazmik + ince granüler	3	1,3
Sitoplazmik + antisentromer	2	0,9
Sitoplazmik + homojen	1	0,4
Sitoplazmik + nükleolar	1	0,4

4.2.3. ANA Pozitif Hastaların Antikor Dağılımının İmmunoblot ile İncelenmesi

İmmunoblot ile hastalarda 7 tip antikorun varlığı araştırılmış ve toplam 418 antikor pozitif saptanmıştır. Bu antikorların dağılımı tablo 10’da gösterilmiştir.

Tablo 10. ANA pozitif hastaların antikor dağılımının immunoblot ile dağılımı

İmmunoblot ile saptanan antikor	Sayı	Yüzde
Anti-SS-A	137	32,8
Anti-Ro-52	150	35,9
Anti-SS-B	64	15,3
Anti-Sm	9	2,2
Anti-Sm/RNP	34	8,1
Anti-Scl-70	17	4,1
Anti-Jo1	7	1,7
Toplam	418	

İmmunoblot ile hastaların 104’inde (%46,4) bir antikor pozitif, 52’sinde (%23,2) iki antikor pozitif, 58’sinde (%26), 3 antikor pozitif, 9’unda (%4) ise 4 antikor pozitif olarak tesbit edilmiştir. Bu oranlar tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11. Hastaların immunoblotla pozitif antikor sayısı

İmmunoblotla pozitif antikor sayısı	Hasta sayısı	Yüzde
Bir antikor pozitifliği	104	%46,4
İki antikor pozitifliği	52	%23,2
Üç antikor pozitifliği	58	%26
Dört antikor pozitifliği	9	%4
Toplam	224	

Tek antikor pozitifliği en fazla anti-Ro52 pozitifliği şeklinde 40 hastada (%17,9) tesbit edilmiştir. İkinci sıklıkta 29 hastada anti-SS-A (%13) tesbit edilmiştir. Bu oranlar tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12. Tek antikoru pozitif olan hastaların dağılımları

Antikor	Hasta Sayısı	Yüzde
Anti-Ro52	40	17,9
Anti-SSA	29	13
Anti-SSB	4	1,8
Anti-Sm	4	1,8
Anti-Sm/RNP	13	5,8
Anti-Scl 70	11	4,9
Anti-Jo1	3	1,3

İki antikor birlikteliği en sık 37 hastada (%16,5) anti-SSA/anti-Ro52 birlikteliği olarak saptanmıştır. Bu oranlar tablo 13’de gösterilmiştir.

Tablo 13. İki antikoru pozitif olan hastaların dağılımları

Antikor	Hasta Sayısı	Yüzde
Anti-SSA/Anti-Ro52	37	16,5
Anti-Ro52/ Anti-Sm/RNP	4	1,8
Anti-Ro52/ Anti-Jo1	2	0,9
Anti-SSA/ Anti-Scl 70	2	0,9
Anti-SSA/ Anti-Sm/RNP	3	1,3
Anti-SSA/ Anti-SSB	1	0,4
Anti-Ro52/ Anti-Scl 70	1	0,4
Anti-Sm /Anti-Sm/RNP	2	0,9

Üç antikor pozitifliği olan en çok Anti-SSA/Anti-Ro52/ Anti-SSB birlikteliği şeklinde 51 hastada (%22,8) saptanmıştır. Bu dağılımlar tablo 14’de gösterilmiştir.

Tablo 14. Üç antikoru pozitif olan hastaların dağılımları

Antikor	Hasta sayısı	Yüzde
Anti-SSA/Anti-Ro52/ Anti-SSB	51	22,8
Anti-SSA/Anti-Ro52/ Anti-Sm/RNP	4	1,8
Anti-Sm/RNP/ Anti-Scl 70/ Anti-Jo1	1	0,4
Anti-Ro52/ Anti-Sm/RNP/ Anti-Sm	1	0,4
Anti-SSA/Anti-Ro52/ Anti-Jo1	1	0,4

Dört antikoru pozitif olan hastaların dağılımları tablo 15’de gösterilmektedir.

Tablo 15. Dört antikoru pozitif olan hastaların dağılımları

Antikor	Hasta Sayısı	Yüzde
Anti-SSA/Anti-Ro52/ Anti-SSB/ Anti-Sm/RNP	5	2,2
Anti-SSA/Anti-Ro52/ Anti-SSB/ Anti-Scl 70	2	0,9
Anti-SSA/Anti-Ro52/ Anti-SSB/ Anti-Sm	1	0,4
Anti-SSA/Anti-Ro52/ Anti-Sm/RNP/ Anti-Sm	1	0,4

Çalışmamızda ANA paternine göre antikor dağılımını incelediğimizde en fazla saptadığımız patern olarak ince granüler boyanma ve ince granüler paternde

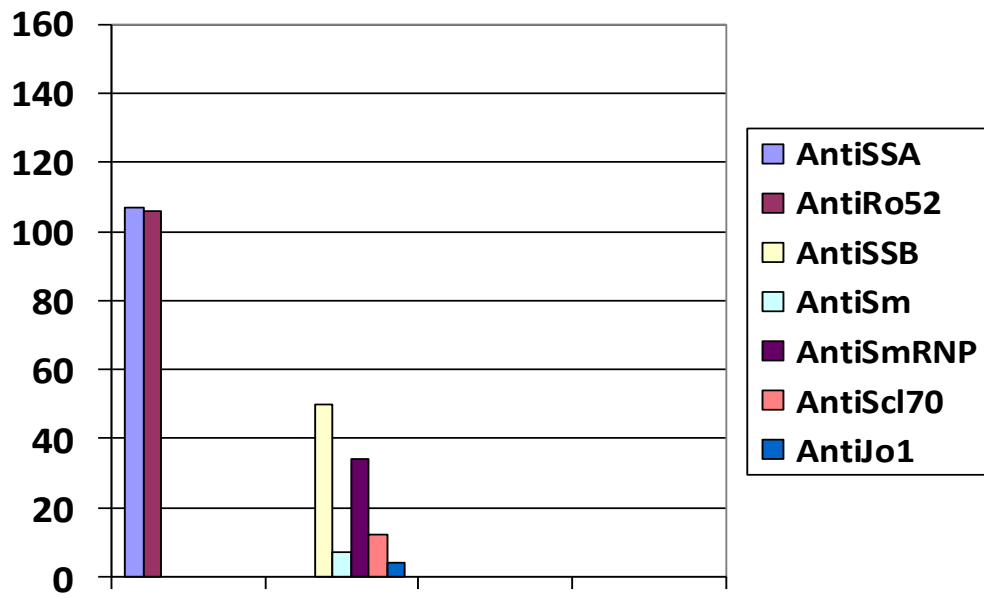
en sık antikor olarak anti-SS-A ve anti-SS-B'yi tesbit ettik. Sonuçlar tablo 16'da gösterilmiştir.

Tablo 16. Paterne göre immunoblot antikor pozitifliğinin dağılımı

	Anti SSA	Anti Ro52	Anti SSB	Anti Sm	Anti Sm/ RNP	Anti Scl 70	Anti Jo-1
İnce granüler	107	106	50	7	29	12	4
Homojen	8	12	3	–	2	3	–
Nükleolar	2	7	1	1	1	–	3
Antisentromer	3	7	–	–	2	–	–
İnce granüler+nükleolar	7	7	5	–	–	2	–
Nükleer dots	3	3	1	-	–	–	–
İnce granüler+homojen	2	3	1	–	–	–	–
Sitoplazmik+ince granüler	2	3	2	1	–	–	–
Sitoplazmik+ antisentromer	1	2	1	–	–	–	–
Sitoplazmik+homojen	1	–	–	–	–	–	–
Sitoplazmik+nükleolar	1	–	–	–	–	–	–
Toplam	137	150	64	9	34	17	7

İnce granüler paterne sahip 158 hasta bulundu. Bu hastaların anti-SS-A 107, anti-Ro52 106, anti-SS-B 50, anti-Sm 7, anti-Sm/RNP 34, anti-Scl70 12, anti-Jo1 ise 4'ünde pozitif bulundu. İnce granüler paterne sahip hastaların antikor dağılımları şekil 12' de verilmiştir. ANA paterni ile immunoblot pozitifliği ilişkisi araştırıldığında istatistiksel olarak anti-SSA ve anti-Jo-1'in patern ilişkisi anlamlı

olarak bulunmuştur. Çalışmamızda ince granüler paterni yüksek oranda tesbit ettiğimiz için bu paterne ait olan antikorlar olan anti-SS-A, anti-Ro52'yi de immunoblotla yüksek olarak tesbit ettik.



Şekil 12. İnce granüler paterne sahip hastaların antikor dağılımları

4.2.4. ANA IFAT Pozitifliğiyle Birlikte Anti-CCP Pozitifliği

Hastaların 85'inde anti-CCP bakılmıştır, 17'sinde (%20) pozitif saptanmıştır, bunların 14'ü (%82,4) ince granüler, 1'i nükleolar, 1'i homojen, 1'i ince granüler + nükleolar paterne sahiptir. Yapılan analizde ANA paterni ile anti-CCP pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p > 0,05$).

4.2.5. ANA IFAT Pozitifliğiyle Birlikte RF Pozitifliği

RF 13 hastada bakılmıştır 5'inde (%38,3) pozitif tesbit edilmiştir. Romatoid faktör (RF) pozitif hastaların 4 tanesi ince granüler, 1 tanesi homojen patern olarak tesbit edilmiştir. Yapılan analizde ANA paterni ile RF pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p > 0.05$).

4.2.6. ANA IFAT Pozitifliğiyle Birlikte Karaciğer Profili Pozitifliği

Karaciğer profili 31 hastada bakılmış, 4 hastada AMA-M2 pozitif bulunmuştur. LKM -1, LC-1 ve anti-soluble Liver/Liver Pankreas (SLA/LP)'ye karşı pozitifliği bulunmamıştır. AMA-M2 pozitif hastaların 1'i ince granüler, 1'i antisentromer, 1'i nükleer dots, 1'i anti-sentromer+sitoplazmik paterne sahiptir. ANA IFAT paterni ile karaciğer profili arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p < 0.05$).

4.2.7. ANA IFAT Pozitifliğiyle Birlikte ASMA Pozitifliği

10 hastada ASMA bakılmış ve 1'inde pozitif bulunmuştur. Bu hastanın ANA paterni ince granüler olarak bulunmuştur.

4.2.8 ANA IFAT Pozitifliğiyle Birlikte Anti-dsDNA ELISA Pozitifliği

ANA IFAT pozitif 188 hastada anti-dsDNA ELISA bakılmıştır. Bunların 55 tanesi (%29,3) pozitif, 133 tanesi (%70,7) negatif bulunmuştur. ANA IFAT paterni ile anti-dsDNA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 17’da anti-dsDNA ELISA pozitif hastaların ANA paternlerine göre dağılımı verilmiştir.

Tablo 17. Anti-dsDNA ELISA pozitif hastaların ANA paternlerine göre dağılımı

ANA paterni	Hasta sayısı	Yüzde
İnce granüler	39	%70,9
Homojen	8	%14,6
İnce granüler+homojen	2	%3,6
İnce granüler+nükleolar	2	%3,6
Nükleolar	2	%3,6
Antisentromer	1	%1,8
Homojen+sitoplazmik	1	%1,8
Toplam	55	100

4.2.9. ANA IFAT Pozitifliğiyle Birlikte ANCA Pozitifliği

ANA IFAT pozitif ve immunoblotla en az bir antikoru pozitif bulunan 224 hastanın 28 tanesinde ANCA IFAT çalışılmıştır. ANCA negatif 20 hasta, 7 hastada p-ANCA pozitif, 1 hastada ise c-ANCA pozitif bulunmuştur. p-ANCA pozitif 4 hasta ince granüler paterne sahiptir. ANA ile ANCA IFAT paterni arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p > 0,05$).

4.3. ANCA Pozitif Hastalardaki Bulgular

IFAT ile ANCA pozitif bulunup ELISA ile profil bakılmış 29 hasta çalışmaya alınmıştır. Bu hastaların 23’ü Ankara 6’sı Ankara dışından başvuran

hastalardı. Bu hastaların 24'ü kadın, 5'i erkektir. Hastaların cinsiyete göre dağılımı tablo 18'de verilmiştir.

Tablo 18. Cinsiyete göre ANCA IFAT pozitifliği dağılımı

Cinsiyet	Frekans (%)
Kadın	24 (%82,8)
Erkek	5 (%17,2)

Hastaların yaş ortalamaları 53 ± 18 (ortalama $\pm$ standart sapma)'dir, yaş dağılımları tablo19'de gösterilmektedir.

Tablo 19. ANCA pozitif hastaların yaş dağılımları

Yaş Grup	Sayı	Yüzde
20-29 yaş	4	%13,8
30-39 yaş	2	%6,9
40-49 yaş	5	%17,2
50- 59 yaş	7	%24,1
60-69 yaş	7	%24,1
70 ve üzeri yaş	4	%13,8

Bu hastaların 12'si romatoloji kliniğine başvuran hastalardı, kliniklere göre dağılımları tablo 20'de gösterilmiştir.

Tablo 20. ANCA pozitif hastaların kliniklere göre dağılımı

Klinik	Sayı	%
Romatoloji	12	%41,4
Dahiliye	5	%17,2
Gastroenteroloji	5	%17,2
Nöroloji	3	%10,3
Diğer (Göğüs hastalıkları, göz hastalıkları, enfeksiyon hastalıkları)	4	%13,6
Toplam	29	100

ANCA IFAT ile 18 hastada p-ANCA (%62,1), 10 hastada c-ANCA (%34,5) pozitif bulunmuştur. Sadece 1 hastada c-ANCAve p-ANCA aynı anda pozitif bulunmuştur. ANCA IFAT pozitifliğinin patern dağılımı tablo 21'de gösterilmiştir.

Tablo 21. ANCA dağılımı

ANCA IFAT pozitifliğinin patern dağılımı	Yüzde
p-ANCA pozitif	18 (%62,1)
c-ANCA pozitif	10 (%34,5)
p-ANCA+ c-ANCA	1 (%3,4)

4.3.1. ANCA IFAT Pozitifliğinin ANCA ELISA İlişkisi

ANCA pozitif hastalarda ELISA ile antikor dağılımına bakılmıştır. Toplam 33 antikor pozitif bulunmuştur. ANCA pozitif 25 hastada bir antikor pozitif bulunmuş, dört hastada ikişer antikor pozitif bulunmuştur.

Çalışmamızda ELISA ile MPO %45,5 (15 hasta), PR3 %30,3 (10 hasta), antielastaz %15,1 (5 hasta), BPI %6,1 (2 hasta), laktoferrin %3 (1 hasta) oranında tesbit edilmiştir.

c-ANCA pozitif 10 hastanın 8 'inde (%80) PR3 pozitif idi. p-ANCA pozitif 21 hastanın 14'ünde (%66,7) MPO pozitif idi. Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi yapıldı ve ANCA IFAT paterni ile ANCA ELISA ilişkisi istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Çalışmamızda cANCA pozitifliğinde PR3, pANCA pozitifliğinde ise MPO tesbit edilmesini istatistiksel olarak anlamlı saptadık.

pANCA pozitif iki hastada aynı anda MPO ve antielastaz tesbit edilmiştir. pANCA pozitif bir hastada MPO ve laktoferrin, pANCA pozitif bir hastada MPO ve laktoferrin tesbit edilmiştir.

ANCA IFAT pozitifliğinin ANCA ELISA ilişkisi tablo 22'de gösterilmiştir.

Tablo 22. ANCA IFAT pozitifliğinin ANCA ELISA ilişkisi

	PR3	MPO	Laktoferrin	BPI	Antielastaz	Toplam
p-ANCA	2	14	1	-	4	21
c-ANCA	8	-	-	1	1	10
p-ANCA+ c-ANCA	-	1	-	1	-	2
Toplam	10	15	1	2	5	
	p=0,001	p=0,000	p=0,737	p=0,001	p=0,651	

4.3.2. ANCA IFAT Pozitif Hastalarda ANA IFAT Pozitifliği

Çalışmamızdaki toplam 21 hastanın ANA IFAT'ına bakılmış olup 9 hastada pozitif bulunmuştur. ANCA IFAT paterni ile ANA IFAT pozitiflik derecesi arasında ilişki saptanmamıştır ($p > 0,05$). ANCA IFAT pozitif hastalarda ANA IFAT pozitifliği tablo 23'de gösterilmiştir.

Çalışmamızda ANA IFAT ince granüler paternli dört hastanın pANCA'sı pozitif bulunmuştur. Fakat ANCA IFAT paterni ve ANA IFAT paterni arasında ilişki saptanmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 23. ANCA IFAT pozitifliği ile ANA IFAT paterni arasında ilişki

ANCA IFAT	ANA IFAT patern					Toplam
	Negatif	İnce granüler	İnce granüler +sitoplazmik	Sitoplazmik	Homojen+ sitoplazmik	
PANCA	8	4	1	1	1	15
cANCA	4	-	-	1	-	5
pANCA+ cANCA	-	1	-	-	-	1
Toplam	12	5	2	1	1	21

5. TARTIŞMA

İmmün sistem mevcut ya da daha sonra karşılaşılabilcek tüm mikrobiyal moleküllerin tanınması ve yakalanması için imkan sağlamaktadır. İmmün sistem bu fonksiyonunu gerçekleştirirken vücudun kendi yapı taşlarına karşı reaksiyon gösteren lenfositlerin yapılmasının önüne geçmektedir. Bu da büyük oranda T lenfositlerinin timusta seleksiyonu ile gerçekleşir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte pek çok sistemde olduğu gibi immün sistemde de kırılma olasılığı artmaktadır (15).

Otoimmün hastalıkların tanısında antijenlere karşı oluşmuş otoantikorların önemi büyüktür. Antinükleer antikorlar otoimmün hastalıklar dışında bazı durumlarda da (yaşlılar, sitotoksik ilaç kullananlar, kanserli hastalar) pozitif saptanabilmektedir. Bu yüzden ANA IFAT pozitifliğini tek başına değerlendirmek yanıltıcı olabilir, ANA subtiplerinden bir veya birkaçının varlığının saptanması gerekmektedir (59).

Otoimmün hastalıkların yaklaşık %90'ı kadınlarda görülür (13). Temel olarak hormonal farklılıklardan dolayı kadınlarda otoimmün hastalıklara daha fazla rastlanmaktadır. SLE'li farelere erkeklik hormonlarının verilmesiyle hastalığın şiddetinde azalma olduğu görülmüştür. Hamilelikte prolaktin gibi hormonların etkisiyle özellikle RA'te hastalığın şiddeti azalmaktadır (15).

Ekşi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada SLE ön tanılı 59 hastanın 49'u kadın (%83,1), 10'u erkek (%16) idi (60).

Çağlayan'ın tez çalışmasında kadın hastalar %72,6, erkek %27,4 oranında bulunmuştur.

Çalışmamızda ANA pozitif 224 hastanın 196'sı kadın (%87,5), 28'i (%12,5) erkektir. Diğer çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızda da kadın hastalar çoğunlukta idi. Çalışmamıza dahil edilen kadın hastaların çoğunlukta olması otoimmün hastalıkların kadınlarda sık görülmesinden kaynaklanmaktadır.

Yumuk ve arkadaşlarının çalışmasında anti-ENA pozitif bulunan 126 hastanın en sık dermatoloji ve dahiliye polikliniğinden başvurduğu saptanmıştır (33).

Bradwell ve arkadaşları da çalışmalarında otoantikör testlerinin en sık dermatoloji ve dahiliye bölümlerinden istendiğini bildirmişlerdir (41).

Çağlayan'ın tez çalışmasında hastaların en fazla dahiliye %44,2, fizik tedavi ve rehabilitasyon %17,9 kliniğinden geldiğini tesbit etmişlerdir (61).

Çalışmamızdaki hastalar en sık (%70,5) romatoloji polikliniğinden başvuran hastalardı. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde dahiliye polikliniği yan dallarına ayrılmış olduğu için en çok başvuru romatoloji kliniğinden olmuştur. Dahiliye kliniğini yan dallarıyla (genel dahiliye, romatoloji, endokrin, hematoloji, nefroloji, gastroenteroloji kliniği) birlikte düşündüğümüzde 183 hasta (%81,7) başvurusu tesbit edilmiştir. Bunu 9 hasta ile hematoloji, 8 hasta ile fizik tedavi ve rehabilitasyon, 8 hasta ile pediatri, 6'sar hasta ile dahiliye ve nefroloji kliniği ve 29 hastayla diğer klinikler izlemiştir.

Diğer klinikler olarak yaptığımız sınıflamanın içinde endokrin, onkoloji, gastroenteroloji, kardiyoloji, göğüs hastalıkları, dermatoloji, nöroloji, kadın doğum hastalıkları, genel cerrahi, kardiyovasküler cerrahi, göz hastalıkları, enfeksiyon hastalıkları, kulak burun boğaz hastalıkları gelmektedir.

Dermatoloji kliniğinden gelen başvuru sayısı çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak düşük (%1,8) bulunmuştur.

Aksu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada en sık rastlanan patern %26 oranında homojen ve %25 ince granüler paterndir (62).

ANA IFAT ile nükleus boyanmasına göre değişik paternler ortaya çıkmaktadır. Her patern ise bir takım antijenleri işaret etmektedir. Bu yüzden paternin uzman bir göz tarafından tanımlanması önemlidir.

Gonzales ve arkadaşları 292 hastada ANA IFA ile %44,5'inde ince granüler, %32,5'inde homojen, %5,5'inde antisentromer, %8,9'unda nükleolar, %3'ünde nükleer dots, %5,5'inde ise miks boyanma paterni tesbit etmişlerdir (63).

Sebastian ve arkadaşları Hindistan'da yaptıkları çalışmada ANA IFAT paternini %46 homojen, %36 granüler, %5 antisentromer, %5 nükleolar, %6 nükleolar+homojen,%2 nükleolar+granüler,%1 periferik rim boyanma olarak tesbit etmişlerdir (64).

Thomson ve arkadaşları çalışmalarında %39,1 homojen patern, ince granüler %20,1, nükleolar %8,4, anti-sentromer %4,3, nükleer dots %2,2 olarak saptamışlardır (65).

Yılmaz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ANA IFAT pozitif 84 hastanın %51,2'sini homojen, %13,2'sini granüler patern olarak tesbit etmişlerdir (66).

Güdücüoğlu ve arkadaşları çalışmalarında 367 IFAT pozitif hastanın patern dağılımını %41,4 homojen patern, %26,1 nükleolar patern, %22,3 granüler patern, %9 sitoplazmik patern ve %2,5 nükleer dots olarak tesbit etmişlerdir (67).

Çalışmamızda en fazla %70,5 oranla ince granüler paterni saptadık. Bunu %8 oran ile homojen patern izledi. Nükleolar %5,4, antisentromer %4,5, ince granüler+nükleolar %4,5, nükleer dots %2,2, kalanlar ise sitoplazmik patern+diğer paternlerin miks birlikteliği idi.

Genel yaklaşım olarak ANA IFAT ile pozitiflik saptandıktan sonra antikor profilini araştırmak için ELISA veya immunoblot testleri yapılmaktadır.

Güdücüoğlu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hastaların %58'inde tek bir antikor, %42'sinde birden fazla antikor pozitif tesbit edilmiştir. (67).

Thomson ve arkadaşları çalışmalarında tek antikor pozitif olarak anti-SS-A'yı (%30,2), iki antikor birlikte pozitif olarak anti-SSA/anti-SSB'yi yüksek oranda (%25,6) saptamışlardır. Üç ve üzeri antikor birlikte pozitifliğinde en sık anti-SSA/anti-Sm/anti-RNP'yi (%1,1) saptamışlardır (65).

Us ve arkadaşları anti-ENA testinde pozitif 5 tip %4,6, üç tip %13,9, iki tip %51,2 ve tek tip %30,2 olarak antikor belirlemiştir (59).

Çalışmamızda immunoblot ile hastaların %46,4'ünde bir antikor pozitif, %23,2'sinde iki antikor pozitif, %25,9'unda 3 antikor pozitif, %4'ünde 4 antikor pozitif olarak tesbit edilmiştir.

Afşar ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 402 antikor saptamışlardır. Hastalarının büyük kısmında SS-A/Ro52 ile SS-B birlikteliği tesbit etmişlerdir (28).

Çalışmamızda iki antikor birlikteliği en sık %16,5 anti-SSA/anti-Ro52 birlikteliği olarak saptanmıştır. Üç antikor pozitifliği olan en çok Anti-SSA/Anti-Ro52/ Anti-SSB birlikteliği şeklinde %22,8 oranında saptanmıştır.

Afşar ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 171 hastada toplam 402 antikor saptamışlardır. En fazla anti-Ro-52 ve anti-SSA tesbit etmişlerdir (28).

Çağlayan'ın tez çalışmasında blotting ile antikor dağılımı anti-SS-A %23,1, anti-SS-B %12, anti-Sm %3,4, anti-Scl-70 %2,6, anti-Pm-Scl %12,8, anti-Ro-52 %26,5, anti-Sm/RNP %4,3, anti-nükleozom %10,3, anti-Jo-1 %0,9, anti-histon %1,7, anti-CENP-B %12,0, anti-dsDNA %8,5, AMA-M2 %11,1 olarak tesbit edilmiştir (61).

Cabides ve arkadaşları çalışmalarında ince granüler paterni olan hastaların immunoblotla antikor profillerini araştırdıklarında anti-SS-A ve anti-Ro52 %55, anti-SS-B %5, anti-Sm/RNP %10 oranında göstermişlerdir. Kaba granüler paterni olan hastalarda %65 oranında anti-Sm/RNP, %36 anti-Ro52, %5 anti-SS-B, %32 CENP-B 'ye karşı oluşmuş antikor saptamışlardır (31).

Yumuk ve arkadaşları en fazla SS-A antijenine karşı antikor tesbit etmiştir. 126 hastanın 13'ünde anti-Sm/RNP, 17'sinde anti-SS-A, 4'ünde anti-SS-B, 4'ünde anti-CENP-B, 7'sinde anti-dsDNA, 6'sında anti-nükleozom, 13'ünde anti-histon, 3'ünde anti-AMA-M2 pozitif bulunmuştur. (33).

Aksu ve arkadaşları ANA IFAT ve immunoblotu pozitif 91 hastada en fazla anti-dsDNA (%39), anti-Ro52 (%39), anti SS-A (%26), %18 oranında da anti- histon ve anti-ribozom saptamışlardır (62).

Çalışmamızda antikor tipleri incelendiğinde en fazla anti-Ro-52 (150) %35,9 oranında saptanmıştır. Anti-SS-A (137) %32,8, anti-SS-B (64) %15,3 anti-Sm/RNP (34) %8,1, anti-Scl-70 (17) % 4,1, anti-Sm (9) %2,2, anti Jo-1 (7) %1,7 oranında saptanmıştır. Çalışmamızda ince granüler paterni yüksek oranda tesbit

ettiğimiz için bu paterne ait olan antikorlar olan anti-SS-A, anti-Ro52'yi de immunoblotla yüksek olarak tesbit ettik.

Cruellas ve arkadaşları polimiyozit ve dermatomiyozit tanısı almış hastalarda Anti-Jo-1'i %18,9 oranında pozitif olarak saptamışlar. Anti-Jo-1 antikorunu özellikle miyozitlere spesifik bir antikordur (68)

Çalışmamızın otoantikorların dağılımına genel bir bakış olmasını hedeflediğimiz için spesifik bir hasta grubu seçmedik, bu sebeple de miyozitlerde sık görülen anti-Jo-1'i Cruellas ve arkadaşlarının çalışmasından daha düşük (%3,1) saptadık.

Yılmaz ve arkadaşları çalışmalarında nükleolar +homojen paterne sahip 3 hastada Sm/RNP pozitif tesbit etmişlerdir. (69).

Güdücüoğlu ve arkadaşları immunoblot ile antikor dağılımında anti-dsDNA'yı daha yüksek oranda saptamışlardır. Bu da aynı çalışmada homojen paternin diğer paternlere göre daha yüksek oranda bulunmasından kaynaklanmaktadır. En fazla %21 anti-dsDNA tesbit edilirken %16 oranında anti-Ro-52 tesbit edilmiştir (67).

Us ve arkadaşlarının çalışmalarında anti-ENA testi ile hastaların %65,1 'inde anti SSA, %55'inde anti-nRNP, %27,9 'nda anti-SS-B, %18,6'sında anti-Sm ve anti-Scl-70, %11,6'sında anti-Jo-1'e karşı antikor saptanmıştır (59).

Yumuk ve arkadaşları 90 adet homojen paternli hastanın serum örneğinde anti-ENA testi çalışmışlar. Serumların 25'inde homojen paternle uyumlu ENA sonucu (dsDNA, anti-nükleozom, anti-histon, Scl-70, PM-Scl) bulmuşlardır. Buna ek olarak 17 serumda granüler (Sm/RNP, Sm, anti-Ro52), 10 serumda ise

sitoplazmik paternle (Ribozomal P protein, AMA) uyumlu ENA sonucu bulunmuştur. Bu da homojen paternin diğer paternleri örtebileceğini göstermektedir. (33).

Güdücüoğlu ve arkadaşları 155 ANA IFAT ve immunoblot pozitif hastayı çalışmaya almışlardır. İmmunoblot ile 342 antikor saptamışlardır. En fazla ds-DNA antijenine karşı %20.8 hastada antikor saptamışlardır, Ro-52 antijenine karşı %16.4, SS-A ya %12, histona %9.4, nükleozoma %7.9, Scl-70' e %7, SS-B %5.8, Sm ye %4,AMA-M2 ye %2.3, Rib- P proteine %2, Cent-B' ye %2,, Jo-1 e %1.2, Pm-Scl'ye %0.9 antikor saptamışlardır (67).

Romatoid faktör (RF) romatoid artrit tanısında kullanılır, fakat romatoid artrite spesifik değildir diğer otoimmün hastalıklarda da pozitif olabilir.

Harputlu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 6636 RF istenmiş hastayı incelemişler. Bunlardan 508 tanesinde (%7,65) RF pozitif tesbit edilmiştir (37).

Bizim çalışmamızda ANA pozitif hastalardan 13'ünde RF bakılmıştır, 5'inde pozitif bulunmuş. RF bakılan hasta sayısı düşük olmakla birlikte pozitiflik oranı %38,5 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda RF pozitifliği daha yüksek olarak saptanmıştır. Fakat ANA pozitif hastalarda, yani yüksek olasılıkla otoimmün hastalığı olan hastalarda RF araştırdığımız için pozitiflik oranının daha yüksek bulunması normal olarak değerlendirilmelidir.

Ekşi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada SLE ön tanılı 59 hastanın, anti-dsDNA ELISA ile 30'unda (%50,8) pozitiflik saptamışlardır (60).

Yılmaz ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, ANA IFA ile saptanan farklı floresan paternlerinin anti-dsDNA sonuçları ile uyumunu

değerlendirmişlerdir. Anti-dsDNA pozitif saptanan serumların üçünde mikst patern, dördünde ise homojen patern saptanmıştır. IFA yöntemi ile elde edilen ANA ve ds-DNA sonuçlarının Western blot test sonuçları ile uyumlu olduğunu gözlemlemişlerdir. (66).

Çalışmamızda anti-dsDNA ELISA pozitif olan 55 hastanın ANA IFAT dağılımını 39 ince granüler (%70,9), 8 (%14,6) homojen patern olarak tesbit ettik. ANA paterni ve anti-dsDNA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda ANCA pozitif hastaların yaş, cinsiyet dağılımlarını ANCA paterni ve ELISA profili arasındaki ilişkiyi araştırmayı da planladık.

Sezer ve arkadaşları çalışmalarında ANCA-IFAT pozitif %36,4 kadın, %63 erkek hasta saptamışlardır (70).

Çalışmamızda ANCA IFAT pozitif kadın sayısı 24 (%82,8), ANCA IFAT pozitif erkek sayısı 5 (%17,2) bulunmuştur. Çalışmamızda kadın hastalar çoğunlukta idi.

Lochman ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 357 ANCA IFAT pozitif hastada %70,6 atipik ANCA, %15,7 p-ANCA, %12,0 c-ANCA, %1,1' ünde p-ANCA+c ANCA, %0,5 atipik p-ANCA saptamışlardır (71).

Sezer ve arkadaşları çalışmalarında ANCA-IFAT' la pozitif hastaların %9,1' ini p-ANCA, %90,9' unu c-ANCA olarak tesbit etmişlerdir (70).

Çalışmamızda ANCA paterni olarak p-ANCA oranını yüksek tesbit ettik. Çalışmamızda 18 hasta (%62,1) p-ANCA pozitif idi. c-ANCA 10 hastada (%34,5)

pozitif idi. p- ANCA ve c-ANCA ‘nın birlikte pozitif olduğu bir hasta (%3,4) mevcut idi.

ANCA’nın tanısında IFAT ve ELISA birlikte kullanılmaktadır.. Avrupa standardizasyon çalışmaları sonucunda IFAT ile periferik kan ntrofillerini görmek ve ELISA ile proteinaz ve myeloperoksidaz antikorlarını doğrulamanın ANCA için en güzel ve doğru tanı yaklaşımı olduğu kabul edilmiştir (39,41).

Feng ve arkadaşları Wegener’s Granülomatozis’li hastalarda %84,7 c-ANCA pozitifliği saptamışlar, anti-PR3 ELISA ile %74’ünde antikor saptamışlardır (72).

Çalışmamızda ANCA pozitif hastalarda ELISA ile antikor dağılımına bakılmıştır. Toplam 33 antikor pozitif bulunmuştur. ANCA pozitif 25 hastada bir antikor pozitif bulunmuş, dört hastada ikişer antikor pozitif bulunmuştur.

Wong ve arkadaşları IFAT ile c-ANCA paternine sahip hastalarda ANCA ELISA ile PR3’ %92.6 oranında pozitif bulmuşlardır (73).

Baslund ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise Wegener’s granülomatozisli 14 hastanın ANCA IFAT ile 11’inde (%79) pozitiflik bulmuşlar, PR3 ANCA ELISA ile 10’unda pozitif bulmuşlardır (74).

Çalışmamızda tüm ANCA pozitif hastalarda ELISA ile MPO %45,5, PR3 %30,3, antielastaz %15,1, BPI %6,1 laktoferrin %3 oranında tesbit edilmiştir. c-ANCA pozitif hastaların %80’inde PR3 pozitif idi. p-ANCA pozitif hastaların %66,7’sinde MPO pozitif idi. ANCA IFAT paterni ile ANCA ELISA ilişkisi istatistiki olarak anlamlı saptanmıştır.

Sonuç olarak; yapılan çalışmaların büyük bir kısmı ANA IFAT paternini tesbit etmeye yönelik çalışmalardır. Hastalıklara karşı immün yanıtın türü ve antikorların tipi konağın immün durumuna, immün yanıtın tipine, kişiden kişiye, demografik özelliklere, popülasyondan popülasyona değişmektedir. Her toplumun antikor çeşitlilik yanıtının farklı olabileceği düşünülmelidir. Bu bağlamda otoantikor profilleri de her toplumda farklı olabilmektedir. Çalışmamızda hastalarda en fazla boyanma paterni olarak ince granüler patern tesbit edilmiştir.. ANA paterni ile immunoblot pozitifliği ilişkisi araştırıldığında istatistiksel olarak anti-SSA ve anti-Jo-1'in patern ilişkisi anlamlı olarak bulunmuştur. İnce granüler boyanması olan hastaların immunoblotla antikor profiline baktığımızda bu hastalarda anlamlı bir şekilde anti-Ro52 ve anti SS-A yüksekliği saptadık.

Çalışmamızda c-ANCA pozitif hastaların %80'inde PR3 pozitif idi. p-ANCA pozitif hastaların %66,7'sinde MPO pozitif idi. ANCA IFAT pozitifliği ile ANCA ELISA ilişkisi istatistiki olarak anlamlı saptanmıştır.

Çalışmamızın ANA IFAT paterniyle beraber antikor dağılımını saptama açısından ülkemizdeki az sayıdaki çalışmadan biri olması açısından önemli olduğunu ve bu konu üzerinde daha fazla çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

Çalışmamıza Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Laboratuvarına 2009 - 2012 tarihleri arasında başvurmuş 253 hasta dahil edildi. Bu hastaların sonuçları hastanemizin bilgisayar sisteminden retrospektif olarak tarandı. Çalışmamızda iki grup oluşturuldu.

Grup 1: ANA'sı IFA ile pozitif saptanmış ve immunoblotla en az bir antikor pozitif bulunan 224 hastanın antikor dağılımı araştırılmıştır.

Grup 2: ANCA'sı IFA ile pozitif saptanmış ve ELISA ile en az bir antikor pozitif bulunan 29 hastanın antikor dağılımı araştırılmıştır.

1. Çalışmaya dahil edilen 224 ANA IFAT pozitif hastanın %87,5'u kadın, %12,5'u erkek hastadan oluşmaktadır.
2. Hastaların yaşları 4-79 yaş aralığındadır. ANA IFAT pozitif hastalardaki yaş ortalaması $47,8 \pm 15,2$ olarak saptanmıştır.
3. ANA IFAT pozitif hastaların %35,5'i 1 pozitif, %29,5 'i 2 pozitif, %30,8'i 3 pozitif, %4,5'ü 4 pozitif boyanmıştır.
4. ANA IFAT ile %70,5 ince granüler, homojen %8, nükleolar %5,4, anti-sentromer %4,5, ince granüler+nükleolar %4,5, nükleer dots %2,2, kalanlar ise sitoplazmik patern+diğer paternlerin birlikteliği idi.
5. İmmunoblot ile 418 antikor tesbit edilmiştir. Antikor tipleri incelendiğinde en fazla anti-Ro-52 %35,88 oranında saptanmıştır. Anti-SS-A %32,8, anti-Sm/RNP %8,1, anti-Scl-70 % 4,7, anti-Sm %2,1, anti Jo-1 %1,7 oranında saptanmıştır.

6. ANA paterni ile immunoblot pozitifliği ilişkisi araştırıldığında istatistiksel olarak anti-SSA ve anti-Jo-1'in patern ilişkisi anlamlı olarak bulunmuştur.
7. Çalışmamızda ince granüler paterni yüksek oranda tesbit ettiğimiz için bu paterne ait olan antikorlar olan anti-SS-A, anti-Ro52'yi de immunoblotla yüksek olarak tesbit ettik.
8. İmmunoblot ile hastaların %46,4'sında bir antikor pozitif, %23,2'inde iki antikor pozitif, %26'sında 3 antikor pozitif, %4'ünde 4 antikor pozitif olarak tesbit edilmiştir.
9. Karaciğer profili ile ANA paterni arasındaki ilişki anlamlı olarak tesbit edilmiştir.
10. . ANA IFAT paterni ile anti-dsDNA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır
11. RF istenen hastaların pozitiflik oranı %38,5 olarak bulunmuştur. ANA IFAT paterni ile RF arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.
12. ANCA IFAT pozitif hastaların %82,8'i kadın, %17,2'si erkek hastalardan oluşmaktadır. ANCA IFAT pozitif hastaların yaş ortalaması 53 ± 18 idi.
13. ANCA IFAT pozitif hastaların %62,1'i pANCA pozitif, %34,5'i cANCA pozitif, %3,4 hastada pANCA+cANCA pozitif olarak tesbit edilmiştir.

14. Çalışmamızda ANCA pozitif hastalarda ELISA ile antikor dağılımına bakılmıştır. Toplam 33 antikor pozitif bulunmuştur. ANCA pozitif 25 hastada bir antikor pozitif bulunmuş, dört hastada ikişer antikor pozitif bulunmuştur. Çalışmamızda ELISA ile MPO %45,5 (15 hasta), PR3 %30,3 (10 hasta), antielastaz %15,1 (5 hasta), BPI %6,1 (2 hasta), laktoferrin %3 (1 hasta) oranında tesbit edilmiştir.
15. c-ANCA pozitif hastaların %80'inde PR3 pozitif idi. p-ANCA pozitif hastaların %66,7'sinde MPO pozitif idi. ANCA IFAT pozitifliği ile ANCA ELISA ilişkisi istatistiki olarak anlamlı saptanmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and Molecular Immunology. USA: Saunders Company 2000;161-176.
2. Ortiz Maslloréns F. Autoimmune diseases and physiological autoimmunity: recognition of self. Alergol Immunol Clin 2000;15:5-12.
3. Rivers TN, Sprunt DH, Berry GP. Observations on attempts to produce acute disseminated encephalomyelitis in monkey. J Exp Med 1933;58: 39-54.
4. Roth D, Male D, Roitt I, Brostoff J. İmir T, editör. İmmünoloji. 1.Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2008:343-383
5. Kamradt T, Mitchison A. Tolerance and autoimmunity. N Engl J Med 2001;344:655-666.
6. Levinson W. Özgünen T, editör. Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. 9.baskı, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2008:483-491.
7. İyidir Ö, Erten Ş. Bağ dokusu hastalıklarında otoantikorların klinikte kullanımı. Türkiye klinikleri J Med Sci 2007;27:236-246
8. Shoenfeld Y, Zandman-Goddard G The mosaic of autoimmunity: hormonal and environmental factors involved in autoimmune diseases. IMAJ 2008;10:8–12.
9. Hewagama A, Richardson B. The genetics and epigenetics of autoimmune diseases. J Autoimmun 2009;33(1):3-11

10. Alarcon-Riquelme ME. Recent advances in the genetics of autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1110:1–9.
11. Wandstrat A, Wakeland E. The genetics of complex autoimmune diseases: non-MHC susceptibility genes. *Nat Immunol.* 2001;2(9):802-809.
12. Rioux JD, Abbas AK. Paths to understanding the genetic basis of autoimmune disease. *Nature Publishing Group* 2005; 435:584-589.
13. Pennell L.M., Carole L, Galligan Eleanor N. Sex affects immunity. *Journal of Autoimmunity* 2012;38:282-291.
14. Canpınar H. Otoimmunitede çevresel ve diğer faktörlerin rolü. *Türkiye Klinikleri J Immunol Rheumatol-Special Topics* 2011;4(2) 59-64.
15. Roitt I. İlman M N, editör. Roitt's Temel İmmünoloji. 11.baskı, Ankara: Atlas kitapçılık; 2008:410-455.
16. Ercolini A M, Miller S D. The role of infections in autoimmune disease. *Clinical and Experimental Immunology* 2008; 155: 1–15.
17. Wucherpfennig K W, Farber D. Mechanisms for the induction of autoimmunity by infectious agents. *J Clin Invest* 2001;108(8):1097-1104
18. Lossius A, Johansen JN, Torkildsen Ø, Vartdal F, Holmøy T. Epstein-Barr virus in systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and multiple sclerosis—association and causation. *Viruses* 2012;4(12):3701-3730.

19. Sekigawa I, Nawata M, Seta N, Yamada M, Iida N, Hashimoto H. Cytomegalovirus infection in patients with systemic lupus erythematosus. Clin Exp Rheumatol 2002;20(4):559-64.
20. Budak F, Otoimmünitede enfeksiyon etkenlerinin rolü. Türkiye Klinikleri J Immunol Rheumatol-Special 46 Topics. 2011;4(2): 43-47.
21. P Cacoub, Terrier B, Hepatitis B- related autoimmune manifestations. Rheum Dis Clin North Am 2009;35:125–137.
22. Fidan I, İmir T, Rota S, Karakuş R, Duran H, **Ertaş M**, Lale Z. Kronik hepatit C hastalarında otoantikor sıklığı ve HCV RNA pozitifliği ile ilişkisi. Ankem Derg 2012;26(1):35-41.
23. Maya R, Gershwin M, Shoenfeld Y. Hepatitis B virus and autoimmune disease. Clinic Rev Allerg Immunol 2008; 34:85-102.
24. Şener S, Şenol M. Dermatoloji’de Otoantikorlar. Tıp Araşt Derg 2008; 6(2):105 -115.
25. Tan EM. Pathophysiology of antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus and related diseases. Adv Dent Res. 1996;10(1):44-46.
26. Özbal Y. Temel İmmünoloji. 2.baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000.
27. Smeenk RJT, Feltkamp TEW. Anti-nuclear antibodies. Encyclopedia of Immunology: Elsevier;1998;125-133.

28. Afşar İ, Şener AG, Vural A, Hızlı N, Türker M. Antinökleer antikorların pozitif saptandığı hastalarda immunoblotting test sonuçlarının değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2007;37 (1): 39-42.
29. Us D. Antinökleer Antikorlar ve Hastalıklarla İlişkileri. Mikrobiyol Bült, 1992;26 379-389.
30. Erdem H. Otoantikorların Klinik Kullanımı, İç Hastalıklarında Karar Verme- Ankara: GATA Basımevi;2002:485-490.
31. <http://www.duzen.com.tr/workshop/2006/huseyin.pdf>. Ulaşım tarihi: 18.06.2013.
32. Schur P H. Edited by Lahita RG. Systemic Lupus Erythematosus. II. Clinical Aspects of Disease. Chapter 34: Laboratory evaluation of patients with systemic lupus erythematosus, Elsevier 2011:629-653.
33. Yumuk Z, Çalışkan Ş. Klinik laboratuvarında kullanılan otoantikor tanı testlerinin değerlendirilmesi. Türk mikrobiyol Cem Derg 2008;38 (1):37-41.
34. Kılıçturgay K. İmmünolojiye Giriş. 2.Basım. Bursa: Güneş Kitabevi, 1991.
35. Egner W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. J.Clin Pathol 2000; 53: 424-432.
36. Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Diker SK. İmmünoloji. 1.basım. Ankara: Medisan Yayınevi,1994;243-250

37. Harputlu HH. Romatoid Faktörün Romatoid Artrit ve diğer romatolojik hastalıklardaki tanı değeri ve klinik kullanımı. Uzmanlık Tezi. Ankara: Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2007.
38. Vincent C, Nogueira L, Clavel C, Sebbag M, Serre G. Autoantibodies to citrullinated proteins: ACPA. *Autoimmunity* 2005;38(1):17-24.
39. Bosch X, Guilabert A, Font J, Seo P. The Antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitides. *Lancet* 2006;368: 404–418.
40. Bogdanos DP, Mieli-Vergani D. Autoantibodies and their antigens in autoimmune hepatitis. *Semin liver dis* 2009;29:241-253.
41. Bradwell AR, Stokes RP, Mead GP, *Advanced Atlas of Autoantibody Patterns*, 1999.
42. Paspaliaris B, Pamio M, Savige J. Indirect immunofluorescence (IIF) of normal washed peripheral blood cells to demonstrate antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *J Clin Pathol* 2000;53:774–777.
43. Sobajima J et al. Novel autoantigens of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (P-ANCA) in ulcerative colitis: non-histone chromosomal proteins, HMG1 and HMG2. *Clin Exp Immunol* 1997 107: 135-140.
44. Moodie FD, Leaker B, Cambridge G, Totty NF, Segal AW. Alpha-enolase: a novel cytosolic autoantigen in ANCA positive vasculitis. *Kidney Int* 1993; 43(3): 675-681.

45. Nassberger L, Ljungh A, Schumacher G, Kollberg B. Beta-Glucuronidase antibodies in ulcerative colitis. *Lancet* 1992; 340(8821): 734-735.
46. Zhao MH, Lockwood CM. Azurocidin is a novel antigen for anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in systemic vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1996; 103(3): 397-402.
47. Orth T, Gerken G, Kellner R, Meyer zum Büschenfelde KH, Mayet WJ. Actin is a target antigen of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in autoimmune hepatitis type-1. *Hepatology* 1997; 26(1):37-47.
48. Kain R, Matsui K, Exner M, Binder S, Schaffner G, Sommer EM, Kerjaschki D. A novel class of autoantigens of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in necrotizing and crescentic glomerulonephritis: the lysosomal membrane glycoprotein h-lamp-2 in neutrophil granulocytes and a related membrane protein in glomerular endothelial cells. *J Exp Med* 1995; 181(2): 585-597.
49. Güral-Polat N. İnflamatuvar barsak hastalığında otoantikorlar. *Türk mikrobiyoloji cemiyeti dergisi* 2008; 38 (3-4):162-166.
50. Hoffenberg E J, Fidanza S, Sauaia A. Serologic testing for inflammatory bowel disease. *J pediatr* 1999;134:447-452.
51. Bossuyt X. Serologic marker in inflammatory bowel disease. *Clinical Chemistry*. 2006;52:2,171-181.
52. Yılmaz Ö, Taşlı H, Bahar İH, Baskın H, Yuluğ N Anti-Nötrofil Sitoplazmik Otoantikorların (ANCA) Varlığının Tanısal Önemi, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003;33:160-162.

53. Yurt S, Koşar F, Alveolar Hemoraji Sendromları. Solunum; Diffüz Parankimal Akciğer Hastalıkları Özel Sayısı. 2008;10: 86-91.
54. F. İlhan, B. Coşkun. Behçet hastalarında otoantikorların araştırılması. Fırat Tıp Dergisi 2006;11.30-32.
55. Bogdanos DP, İvernizzi P, Mackay JR, Vergani D. Autoimmune liver serology: Current diagnostic and clinical challenges. World J Gastroenterol 2008; 14 (21):3374-3387.
56. Hasson SS, Al-Balushi, AA Al-Jabri. The role of the autoimmunity laboratory in autoimmune diseases. Asian Pacific Journal of Tropical Disease 2012;159-162.
57. Us D. Serolojik Tanı Yöntemleri, Uygulama ve Değerlendirme. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları 2006; 31-37.
58. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets; procedure and some applications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1979;76, 4350-4354.
59. Us D, Şener B, Haşcelik G, Günalp A. Sistemik lupus eritematozuslu hastalarda ekstrakte edilebilir nükleer antijenlere karşı antikor varlığının immunoblot yöntemiyle yöntemiyle araştırılması. Mikrobiyoloji bülteni 1997;31:155-163.
60. Ekşi F, Doğan E, Gayyurhan E, Karslıgil T, Bayram A. Sistemik lupus ön tanısıyla araştırılan hastaların serumlarında antinükleer ve anti-double

- stranded DNA antikorlarının saptanmasında iki farklı yöntemin karşılaştırılması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 2008;38(2):95-99.
- 61.** Çağlayan E. S. Antinükleer Antikorların Farklı Yöntemlerle Bakılması Ve Alt Gruplarının Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Afyon: Kocatepe Üniversitesi,2006.
- 62.** Aksu G, Gülez N, Karaca N, Kütükçüler N. Antinükleer antikor saptanmasında immünfloresan ve immüno blot tekniklerinin karşılaştırılması. 20. Ulusal İmmünoloji Kongresi Bildiri ve Özet Kitabı, 102-103.
- 63.** González C, Guevara P, Alarcón I, Hernando M, Navajo JA, González-Buitrago JM. Antinuclear antibodies (ANA) screening by enzyme immunoassay with nuclear HEp-2 cell extract and recombinant antigens: analytical and clinical evaluation. Clin Biochem. 2002;35(6):463-469.
- 64.** Sebastian W, Roy A, Kini U, Mullick S. Correlation of antinuclear antibody immunofluorescence patterns with immune profile using line immunoassay in the Indian scenario.Indian J Pathol Microbiol.2010;53(3):427-432.
- 65.** Roberts-Thomson PJ, Nikoloutsopoulos T, Cox S, Walker JG, Gordon TP. Antinuclear antibody testing in a regional immunopathology laboratory. Immunol Cell Biol. 2003;81(5):409-12.
- 66.** Konnektif Doku Hastalıklarının Tanısında Antinükleer (ANA) ve anti-Double Stranded DNA (Anti-dsDNA) Antikorlarının Önemi. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2005; 29(4): 287-290.

67. Güdücüoğlu H, Yaman G,ıkman A. U. alışır, Mustafa Berktaş. Antinkleer antikor pozitif hastalarda immnoblottıng (IB). test sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. Türk Klinik Laboratuvar Dergisi. 2011;2: 59-63.
68. Cruellas MG et al. Myositis-specific and myositis-associated autoantibody profiles and their clinical associations in a large series of patients with polymyositis and dermatomyositis Clinics (Sao Paulo). 2013; 68(7): 909–914.
69. Yılmaz , Karaman M, Ergon M.C. Bahar İ. H, Yuluğ N.:Antinkleer antikorların saptanmasında indirekt immnofloresan ve enzim immn yöntemlerinin karşılaştırılması. Mikrobiyol. Blt, 2004;38:85-90.
70. Sezer S, Dzgn N. Glomerlonefritlerde Anti Nötrofil Sitoplazmik Antikor (ANCA) Sıklığı ve nemi. Ankara Üniversitesi Mecmuası, Cilt 49, Sayı2, 1996, 61-66.
71. Lochman I, ANCA in the diagnosis of neutrophil-mediated Inflammation. Autoimmunity Reviews 2011; 10:295-298
72. Feng Z, Liu P, Li Z, Sui B. Clinical Relevance of Anti-PR3 Capture ELISA in Diagnosing Wegener’s Granulomatosis Journal of Clinical Laboratory Analysis 2008;22:73–76.
73. Wong RCW, Silvestrini RA, Savige JA, Fulcher DA, Benson EM. Diagnostic value of classical and atypical antineutrophil cytoplasmic

antibody (ANCA) immunofluorescence patterns. J Clin Pathol 1999;52:124-128.

74. Baslund B et al. Screening for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): is indirect immunofluorescence the method of choice? Clin Exp Immunol 1995; 99: 486-492

8. ÖZET

Çevresel faktörler, ilaçlar ve enfeksiyonlarla genetik yatkınlığı olan bireylerde bir çok otoimmün hastalık oluşabilmektedir. Otoimmün hastalıklar, organizmanın kendi doku ve hücrelerine karşı reaksiyon geliştirmesi sonucu oluşmaktadır. Otoimmün hastalıkların önemli bulgularından birisi otoantikorlardır. Hasta serumlarında anti nükleer antikor (ANA) varlığının saptanması, çeşitli konnektif doku hastalıklarının gerek tanı gerekse izlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. IFA tarama amaçlı olarak otoimmün bağ dokusu hastalıklarının tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Otoimmün hastalıkların tipinin belirlenmesinde serum fizyolojik ile ekstrakte edilebilen nükleer antijenlere karşı oluşmuş antikorların (anti-ENA) tipinin tesbit edilmesi önemlidir.

Çalışmamıza Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez İmmünoloji Laboratuvarına 2009 - 2012 tarihleri arasında başvurmuş 224 ANA IFAT pozitif hasta ile ANCA IFAT pozitif 29 hasta retrospektif olarak dahil edilmiştir.

İmmunoblot ile 418 antikor tesbit edilmiştir. Çalışmamızda antikor tipleri incelendiğinde en fazla anti-Ro-52 (150) %35,9 oranında saptanmıştır. Anti-SS-A (137) %32,8, anti-SS-B (64) %15,3 anti-Sm/RNP (34) %8,1, anti-Scl-70 (17) %4,1, anti-Sm (9) %2,2, anti Jo-1 (7) %1,7 oranında saptanmıştır.

Çalışmamızda ANCA pozitif hastalarda ELISA ile antikor dağılımına bakılmıştır. Toplam 33 antikor pozitif bulunmuştur.

Çalışmamızda ELISA ile MPO %45,5 (15 hasta), PR3 %30,3 (10 hasta), antielastaz %15,1 (5 hasta), BPI %6,1 (2 hasta), laktoferrin %3 (1 hasta) oranında tesbit edilmiştir.

Otoimmün hastalıkların tanısında IFA tarama amaçlı kullanıldıktan sonra hastalığın tipinin belirlenmesi için antikor dağılımının belirlenmesi önemlidir. Bu konuda yeni çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır.

9. SUMMARY

Autoimmune disease may occur, by environmental factors, drugs and infections in people with genetic tendency. Autoimmune diseases occur as a result of the immune response to self antigens and tissues of the organism and the detection of autoantibodies is very important in the diagnosis of autoimmune diseases. A number of methods are available for the detection of ANA. Indirect immunofluorescence antibody (IFA) method is widely used for screening and monitoring of connective tissue diseases. Indirect immunofluorescence assay (IFA) is the standard method which is more often preferred for detecting these antibodies. Differentiation of autoantibodies is the basis of correct diagnosis in autoimmune diseases. This method allows the extracted antigens (ENA) to be used for the differentiation of autoantibodies clearly.

The aim of this study was to retrospectively evaluate the distribution of autoantibodies on the patients who have applied to Central Immunology Laboratory of Gazi University School of Medicine between 2009 and 2012.

ANA positive patients are scanned for the distribution of antibodies by immunoblot. As a result, totally 418 antibodies are determined by immunoblot and the characterization of these antibodies were as follows in 150 patients anti-Ro-52 (35.9%), in 137 patients anti-SS-A (32.8%), in 64 patients anti-SS-B (15,3 %), in 34 patients anti-Sm/RNP (8,1%), in 17 patients anti-Scl-70 (4,1%), in 9 patients anti-Sm (2,2%) and in 7 patients anti Jo-1 (1,7%) were positive.

In our study the ANCA positive patients are scanned for the distribution of antibodies by ELISA. Totally 33 antibody positive are observed. As a result,

totally 33 antibodies are determined by ELISA and the characterization of these antibodies were as follows in 15 patients MPO (45,5%), in 10 patients PR3 (30,3%), in 5 patients antielastasis (15,1%), in 2 patients BPI (6,1%), in 1 patient lactoferrin (3 %) were positive.

Determining the distribution of antibodies is important in the diagnosis of autoimmune disorders after their IFA scan is completed. New research is required on this subject. We consider our study as a small scale revision of this matter.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Melek

Soyadı : İzmir

Doğum tarihi ve yeri: 21.01.1977 / Sivrihisar

Eğitimi: 02.12.2008 tarihinde Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım.

1999 yılında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum.

1993 yılında Eskişehir Süleyman Çakır Lisesi'nden mezun oldum.

Yabancı Dili: İngilizce

Üye olduğu bilimsel kuruluşlar: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Derneği

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlar Derneği

Bilimsel etkinlikleri:

Fidan I, İmir T, Rota S, Karakuş R, Duran H, **Ertaş M**, Lale Z. Kronik hepatit C hastalarında otoantikor sıklığı ve HCV RNA pozitifliği ile ilişkisi. ANKEM Derg 2012;26(1):35-41.