T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

BÖLGEMİZDEKİ BAZI OTOİMMUN HASTALIKLARDA ANTİNÜKLEER ANTİKOR PREVALANSI, ASO, CRP VE RF İLİŞKİSİ

Dr. Nazım NASUHBEYOĞLU

TEZ DANIŞMANI : Prof. Dr.Ahmet AYYILDIZ

UZMANLIK TEZİ
ERZURUM-1995

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İÇİNDEKİLER

I.GİRİŞ VE AMAÇ.....1

II.GENEL BİLGİLER.....2

1.OTOİMMUNİTE VE OTOİMMUN HASTALIKLAR.....2

2.OTOANTİKORLAR.....10

a.Antinükleer antikorlar.....11

b.Romatoid Faktör.....24

3.ANTİSTREPTOLİZİN - O.....28

4.C- REAKTİF PROTEİN.....28

5.ANA,RF,ASO VE CRP'NİN HASTALIKLARLA İLİŞKİLERİ...29

III:MATERYAL VE METOD.....39

1.MATERYAL.....39

2.METOD.....41

IV.BULGULAR.....45

V.TARTIŞMA.....52

VI.SONUÇ.....63

VII.ÖZET.....65

VIII.SUMMARY.....66

IX.KAYNAKLAR.....67

TEŞEKKÜR

Hayatımızda öyle ender anlar vardır ki, insan bu anlarda yıllar boyu aldığı eğitiminin bir hülasasını ortaya koymak durumundadır. Bu hülasa, bizlere emekleri geçen tüm insanların ürünüdür aslında. Bu tez çalışması da benim için aynı anlamı ifade etmektedir. Ta öğrencilik yıllarımdan bu yana , anlayışlılığı, babacanlığı, ilmi kişiliği ile takdir ettiğim, tıp ve mikrobiyoloji nosyonu almama , hatta mikrobiyoloji dalında uzmanlaşmaya ilgi duymama vesile olan kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Mete BABACAN'a teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Ayrıca yine bu süreçte önemli katkılarını gördüğüm değerli hocalarım sayın Prof. Dr.Erdal TUNCEL'in, aynı zamanda tez danışmanım olan ,tezimin hazırlanışı boyunca ilgi ve hoşgörüsünü esirgemeyen sayın Prof. Dr. Ahmet AYYILDIZ'ın kıymetli yardımları , bu çalışmada benim için en büyük yol gösterici olmuştur. Kendilerine sonsuz teşekkürlerimi ifade ederim.

Rutin laboratuvarda, bilgi , deneyim ve hazırladıkları çalışma ortamı nedeniyle sayın Doç. Dr. Selahattin ÇELEBİ'ye , tezimin hazırlanışındaki değerli görüş ve katkılarıyla sayın Yrd.Doç.Dr. Osman AKTAŞ'a, materyal toplamamda yardımcı olan özellikle Dahiliye ve FTR kliniklerinin kıymetli hoca ve asistanlarına, bu arada beraber çalıştığımız ,sevinç ve üzüntülerimizi paylaştığımız tüm asistan arkadaşlarıma, Mikrobiyoloji Anabilim Dalının tüm personeline teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Dr.Nazım NASUHBEYOĞLU

I.GİRİŞ ve AMAÇ

İmmun sistemi gelişmiş canlılar, fötal ya da neonatal periodda kendi yapı maddelerine karşı yaşamları boyunca antikor oluşturmazlar. Ancak, bazı patolojik durumlarda organizmanın kendi maddelerinin denatürasyonu ya da dış kaynaklı bazı haptenlerle birleşerek değişmeleri sonucunda ve daha pek çok nedenlerle organizma bu maddeleri kendine yabancı sayar ve bağışık yanıt vermeye başlar. Organizmanın, kendisine yabancılaşmış ***otoantijen*** adı verilen bu maddelere karşı oluşturduğu immun cevap sonucunda ortaya çıkan hastalıklara ***otoimmün hastalıklar*** adı verilir (1,2).

Otoantikorlar; hücre yüzeyine , sitoplazma komponentlerine ya da hücre çekirdeğine karşı oluşmaktadır (3). Bu antikorların mevcudiyetinin araştırılması otoimmün hastalıkların tanısında önemli bir yer tutmaktadır. Şimdiye kadar otoimmüniteye ilişkin pek çok hastalık tanımlanmış ve pek çok yöntemlerle otoantikorların varlığı araştırılmıştır. Bunlardan ELISA yöntemi, son yıllarda otoantikorların ve bunlardan bir çeşidi olan ***Antinükleer Antikorlar*** (ANA) 'ın araştırılmasında sıklıkla kullanılan bir test olmuştur.

Yöremizde otoimmun hastalıkların prevalansı konusunda şimdiye kadar yapılmış bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle, gerek otoimmün hastalıkların gerekse de bu hastalıklarda ANA prevalansının, yöremizdeki durumunu tespit etmenin bilimsel bir hizmet olacağı gerçeğinden yola çıkarak bu çalışmayı planladık. Çalışmamızda ayrıca; bazı otoimmun hastalıklarda pozitifleşebilen ASO, CRP ve RF ile, bu hastalıklar için daha spesifik olan ANA arasındaki ilişkiyi, dolayısıyla bu parametrelerin, otoimmun hastalıkların tanısındaki değerini araştırmayı amaçladık.

II. GENEL BİLGİLER

1. OTOİMMUNİTE VE OTOİMMUN HASTALIKLAR

Otoimmunite ve otoimmun hastalıklara genel bir bakış

İmmun sistemin en önemli görevi, kendi antijenleriyle kendinden olmayan antijeni ayırdedebilmesi ve yabancı antijene karşı konağı koruyabilmesidir (1,2). Canlıların kendi antijenlerine karşı cevap vermemesi olayı esasta üç mekanizma ile olur:

(1) Klonal delesyon veya klonal anerji ile daha T hücreleri oluşurken konağın kendi hücrelerine karşı reaksiyon veren T hücrelerinin yok edilmesi veya reaksiyonsuz hale getirilmesi

(2) Baskılayıcı sistemlerle bu cevapsızlığın kontrol altında tutulması

(3) Bazı antijenlerin immun sistemle karşılaşmasının engellenmesi (sekestre antijenler)

Genel olarak özetlenirse, immun sistem canlı daha embriyonik evrede iken, timusta kendi antijenleri ile karşılaşmakta ve bunlara reaksiyon vermemesi sağlanmaktadır.Buna ***merkezi tolerans*** denir.Bu evrede henüz timusa taşınmamış antijenlere yanıt vermesinin engellenmesi için bir de periferik kontrol sistemi (idiotipik antijen sistemi,baskılayıcı sistem vb.) gerekir.Buna da ***periferik tolerans*** adı verilir. (4).

Bu durumun bazı patolojik durumlara bağlı olarak bozulmasına ve sonuçta vücudun kendi parçalarına karşı gösterdiği immun yanıta ***otoimmunite;*** bu otoimmunizasyona bağlı olarak ortaya çıkan hastalıklara ise

otoimmun hastalıklar (O.İ.H.) denir (1,2). Otoantikorlar ise; hücre yüzeyi veya sitoplazma komponentleri ya da hücre çekirdeğine karşı ortaya çıkmaktadır.

Otoimmun hastalıklar klinikte hastalığın bulunduğu organa göre başlıca iki grupta toplanırlar.(2):

a. Organa Özgül O.İ.H.	b. Organa Özgül olmayan O.İ.H.
Hashimato troiditi	Sjögren sendromu
Primer miksödem	Romatoid artrit
Tirotoksikoz	Dermatomiyozit
Pernisiyöz anemi	Skleroderma
Addison hastalığı	Sistemik lupus eritematozus(SLE)
Juvenil diabet	
Good pasture sendromu	
Otoimmun hemolitik anemi	
Primer bilier siroz	
Aktif kronik hepatit	
Ülseratif kolit	
Myastenia gravis	

Bu iki grubun başlıca özellikleri şunlardır:

(1) Organospesifik otoimmun hastalıkların, bir kişide beraber bulunmaları daha sıktır. Örneğin; Hashimato troiditi ile Pernisiyöz anemi birlikte görülür (2).

(2) Organospesifik otoimmun hastalıklarda, diğer otoantikorlar hastalık olmadan da beraber bulunabilir.

(3) Birinci derecede akrabalarda da, hastalık olmadan otoantikorlar bulunabilir. Bu ilerde hastalık oluşacağının göstergesi değildir.

(4) Ailesel olarak daha sık görülürler. Bu durum genetik bir temeli düşündürmektedir. Bu şahıslarda bazı doku uygunluk antijenleri, daha sık beraberlik gösterir. Örneğin; Addison' da HLA B8 ve DR3 , İnsulin bağımlı Diabetes Mellitus 'ta HLA B8 ve DR3/DR4, Romatoid artrit (RA)' te HLA DR4, Tirotoksikozda (Graves) DR3, SLE de HLA DR3 gibi

(5) Genel anlamda organospesifik otoimmun hastalıklar, sıklıkla tiroid, adrenal, mide ve pankreası tutarken; organononspesifik otoimmun hastalıklar deri, böbrek,kas ve eklemleri tutar (4).

(6) Kadınlarda ve ileri yaşlarda daha sık görülür.

(7) Otoimmun hastalıklarda immunolojik bazı bozukluklara daha sık rastlanır. Örneğin; kompleman yetmezliği ve IgA selektif yetmezliği olanlarda SLE ve RA daha sıktır.

(8) Kanser olguları otoimmun hastalıklarla beraber daha sıktır (2).

Otoimmun hastalıklarda immunopatolojik mekanizmalar

Her ne kadar herhangi bir otoimmun hastalıkta birden fazla mekanizma etkinse de, genel olarak otoimmun hastalıklarda üç ana immunopatolojik mekanizma rol oynar:

(1) Humoral yanıt sonucu oluşan otoantikorlar, özgül antikorların antijenle birleşmesi kompleman aktivasyonu ve antikorlara bağlı sitotoksik etki (K hücresi) ile doku zararlanmasına yol açar. (sitolitik mekanizma-Tip II Aşırı Duyarlılık) Bazı durumlarda, fonksiyonel hücresel reseptörlere yönelmiş

otoantikorlar hücre tahribatı yapmadan özel hücresel fonksiyonları teşvik eder veya engeller. Bu mekanizma; otoimmun hemolitik anemi, nötropeni, lemfopeni ve trombopeni yanısıra; otoantikorların neden olduğu anti bazal membran hastalıkları , çeşitli otoimmun endokrinopatiler ve oto-anti reseptörlerin neden olduğu hastalıklarda yer alan başlıca patogenez olarak kabul edilir (5).

(2) Otoantijen -otoantikor immun kompleksi, (Tip III Aşırı Duyarlılık) inter sellüler sıvıda veya genel dolaşımda oluşabilir. Sonuçta doku ve doku fonksiyon bozukluğunu gerçekleştirir. Bu tip kompleksler , komplekse katılan iki reaktanın oranıyla belirlenen büyüklüklerine bağlı olarak yaygın şekilde dolaşabilirler. Vücuttaki dokularda, özellikle geniş süzücü zarlarda (böbrek,eklem vs.), depolanabilirler. Sonra fagositik etkili granülosit ve monosit hücrelerin yanısıra, kompleman faktörleri bu birikim bölgelerine cezbedilir.Sonuçta da hücre ölümleri gerçekleşir (5). SLE ve RA' te en çok bu mekanizma geçerlidir. Burada, kandaki antijen ve antikor bileşikleri dokulara yapışır. Bir yandan kompleman sistemi aktive edilirken, diğer yandan da kemotaktik mekanizmalarla olay yerine PNL' ler çekilir. PNL'ler immun kompleksleri fagosite etmek isterler. Ancak fagosite edemezler. Bu kez dışarıya lizozomal enzimler salarlar. Bu enzimler kanda nötralize edilebilirken, dokularda edilemez. Bunun etkisiyle dokular zarar görür (4,5).

İmmunkompleks oluşumunda ; büyüklükleri (-ki büyükler daha kolay temizlenir ve zor birikir, orta ve küçükler daha zor temizlenir ancak daha kolay birikir-) RES 'in temizleme yeteneğinin bozulması, elektrik yükü, anatomik ve hemo-dinamik faktörler (kan basıncı veya tirbulansın daha kolay olduğu damarlarda) etkili faktörlerdir (2).

(3) Duyarlı T lenfositlerin oluşturduğu hücresel immun yanıtta doku hasarı meydana getirir. Ancak, bu mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. Muhtemelen ya tahrip edici lenfokinlerle veya diğer zararlandırıcı hücrelerin lezyona cezbedilmesiyle ilgili olabilir (2,5).

Otoimmunite oluşumu ile ilgili teoriler

Otoimmunite oluşumu ile ilgili çok sayıda teori vardır. Bu teorilere her geçen gün yenileri eklenmektedir.Bunları aşağıdaki şekilde sıralayabiliriz.(2)

(1) Gizli antijenlerin açığa çıkması:

Burada, embriyoner hayatta immun sistemle teması olmayan, immun sistemin tanımadığı antijenlerin dolaşıma katılarak bu sistemle ilk defa karşılaşmaları sözkonusudur. Bir vasektomi ameliyatı sonrası antisperm antikorların ortaya çıkması, göz zedelenmelerinden sonra kristalin lens dokusuna karşı antikor oluşması gibi. Özetle , lenfoid hücrelerin bu antijenlere embriyonel hayatta temas edememesi sonucu immunolojik tolerans oluşmaması esas mekanizma olarak kabul edilmektedir. Bu durumlarda otoantikor varlığının devamı, otoantijenin devamlı açığa çıkması ile mümkündür ve hastalığın başlama ve gelişmesi ile paraleldir. Yani doku harabiyetinin devam etmesi gerekir.

(2) Supressör T hücre bozukluğu:

Bir çok otoimmun hastalıkta supressör T'lerde azalma saptanmıştır.Bu gibi bazı hastalıklarda Ts' 'lerde değişiklik saptanamadığından,Ts azlığı veya fonksiyon eksikliği tüm otoimmun hastalıkları izah edememektedir.

(3) İmmunolojik toleransın kırılması:

İmmun cevapta T hücre toleransının, özellikle indükleyici ve düzenleyici rolü önemlidir. Yardımcı T (TH) hücresinin toleransının kırılmasının, otoimmunite olayında öneminin büyük olduğu kabul edilir.

(4) TH hücrelerinin otoantijenlere karşı toleransının kırılması:

(a) Otoimmun hastalıklarda vücut antijenleri ile çapraz reaksiyona giren bazı antijenlerin önemi vardır. Bu gibi antijenler doğada spontan olarak bulunabilir. Örneğin; A grubu β hemolitik streptokokların bazı antijenleri ile myokard arasındaki çapraz reaksiyonun romatizmal kardite, metil dopa'nın otoimmun hemolitik anemiye, hidralazin, izoniazid, prokainamid'in ANA'ya bağlı hastalıklara neden olması gibi.

Bu kişilerde çapraz reaksiyona rağmen otoimmun reaksiyonun az olması, antijene özgü genetik kökenli bir immunolojik bozukluğu düşündürür.

(b) Yardımcı T hücre toleransının kırılması poliklonal B hücre aktivatörleriyle de olabilir. Lipopolisakkarid S. aureus A proteini, lipid assosiye protein polianyonlar (dextran sülfat gibi), bazı viruslar veya komponentleri (EBV, gp 70) poliklonal B aktivatör etki gösterirler. Bu maddeler TH olmadan mitojenik etkileri veya birbirinin aynı çok sayıda determinanta sahip olmaları nedeniyle, B hücre uyarımı yapabilirler. B hücresinin hiperaktivitesi otoantijenlere karşı tolerans eksikliği ve otoimmun yanıta yol açar. Bu etkiye ***T by pass etkisi*** denir. Bu aktivatörler ile geçici süre ve IgM türü antikor oluşması otoimmunite oluşturan faktörlerden biri olduğunu düşündürmektedir.

(5) Timus bozuklukları:

Timus, immun sistemin olgunlaşmasında, özellikle T lenfositlerin gelişmesinde önemli bir merkezi organdır.T lenfositler olgunlaşmamış olarak timus korteksine gelince, stromal hücrelere temas ederek doku antijenlerini tanır hale gelmektedir. Bu dönemde yüksek affinitedeki T lenfositleri, MHC antijenleri ile temasla şiddetli uyarımlar oluşturmaktadır. Şiddetli uyarım sonucu hızlı çoğalan bu T lenfositleri ölmektedir. (***Negatif seleksiyon***) Bu şekilde otoreaktif T lenfositleri elimine olmaktadır. Böylece, otoantijenlere karşı immunolojik tolerans oluştuğu iddia edilmektedir.

Bu iddiaya karşılık, timusta organizmada var olan bütün antijenlerin olmadığı ve negatif seleksiyonla bütün otoantijenlere karşı reaktif T lenfositleri eliminasyonunun mümkün olmadığı da ileri sürülmüştür.

(6) İdiotipik ve antiidiotipik mekanizmada bozukluklar:

Bir antijenin kendisine karşı oluşan antikor (Ak-1) ile birleşmesini sağlayan, antijene özgüllüğünü veren farklı epitoplar bulunmaktadır. Bu epitoplara karşı da antikorlar oluşmaktadır ki, bunlara ***anti idiotip antikorlar*** (Ak-2) denir. Bu anti idiotip antikorların orjinal antijenler ile benzerliği de olabilmektedir. Bu durumda Ak-1 antikor ile ve Ak-2 antikorunun antijen ile birleşmesi sırasında bir rekabet olur. Ak-2 antikoruna karşı oluşan ***anti-anti idiopatik antikor*** (Ak-3) ise Ak-1 antikor ile benzerlik gösterir. Burada da Ak-2 ile birleşmede Ak-1 ve Ak-3 antikorları rekabete girerler. Bu sistem bir yerde immun yanıtın bir düzeyde kalmasını sağlar. Bu sistemin bozulması da, B lenfosit uyarımında hiperaktiviteye yolaçmaktadır. Bu da T by pass mekanizması ile otoantikor yapımına neden olmaktadır.

(7) Anormal genlerin varlığı:

Son çalışmalarda otoimmun hastalıklara yakalanan kişilerin MHC klas - II antijenlerinin aminoasit sıralamasında bazı farklılıklar bulunmuştur. Örneğin; HLA DR4 tipindeki RA' li hastaların MHC klas-II molekülü β zincirindeki 65-75 numaralı aminoasitlerin sıralamaları aynıdır. Bu ve benzeri başka bulgular otoimmun hastalıklarda MHC klas-II antijenleri aminoasit sıralamasının önemini göstermektedir.

(8) Enfeksiyonlar:

İnfeksiyon etkenlerinin otoreaktif lenfositleri uyarmasında iki mekanizma etkindir:

(a) İnfeksiyon etkenleriyle doku antijenleri arasındaki çapraz reaksiyonlarla immunolojik toleransın kırılması oto immun yanıta yolaçabilir.

(b) Mikroorganizma antijenlerinin adjuvant etkisi ile B lenfositler poliklonal aktivasyona uğrayabilirler. T lenfositleri ise süper antijen etkisi ile otoimmun yanıta yolaçabilir. Bir çok virus enfeksiyonunda; Tüberküloz, Lepra, Sıtma ve Tripanazomiyaz gibi enfeksiyonlarda /otoimmun yanıt bu şekilde açıklanmaktadır. Süper antijenler T hücrelerinde poliklonal uyarım yapar.TH fazla yapımı ile fazla sitokin salgılanır. Bunların içinde özellikle γ interferon salgısı, hücrede MHC artımını; bu da hücre yüzeyindeki otoantijenlerin TH hücresine sunulmasını sağlar. Böylece otoimmun yanıt oluşur (2).

(9) Doku zararlanması:

Değişik nedenlerle, normal kişide doku hasarı oluşursa, o doku antijenlerine karşı otoantikorlar oluştuğu görülmüştür. Yapılan çalışmalar,

değişik hastalıklarda otoimmunite ile doku hasarının değişen oranlarda etkili olduğunu ortaya koymuştur.

Otoimmun hastalıkların izahında; makrofajlarda bozukluklar, hormonal faktörler, ana kök hücre (stem cell) bozuklukları gibi teoriler de bulunmaktadır (2).

Bu arada; bir kısım sağlıklı bireylerde de otoantikorların gösterilmesine rağmen, bunlarda herhangi bir klinik patolojinin gelişmemesi otoantikor ile otoimmun hastalıklar arasında neden - sonuç ilişkisi türünden kesin bir bağ kurmanın yanlış olabileceğini de düşündürmektedir (4).

2.OTOANTİKORLAR

Otoantikorlar; hücre yüzeyi, sitoplazma komponentleri ya da hücre çekirdeğine karşı ortaya çıkmaktadır (3). Bu otoantikorlar, otoimmun hastalıkların tanısında oldukça önemli göstergelerdir.

Organizmanın çeşitli komponentleri, yukarıda bahsedilen mekanizmalar sonucunda otoantijen halini alabilir.

Nükleus , sitoplazmik maddeler (DNA, RNA) ve IgG sınıfı antikorlar immun cevap oluşumuna neden olan antijenlerdir.

Otoimmun hastalıklarda etkin olan otoantijenler ve bunların etkisiyle ortaya çıkan otoimmun hastalıklar aşağıda gösterilmiştir:

Tablo 1: Otoimmun Hastalık -Otoantijen İlişkisi (6,7) :

Hastalık	Otoantijen
Hashimato troiditi	Thyroglobulin
Tirotoksikoz	Hücre membran reseptörü
Pernisiyöz anemi	İntrensek faktör
Myastenia gravis	Asetil kolin
Otoimmun hemolitik anemi	Eritrosit
Kronik aktif hepatit	Düz kas
Atopik allerji	β adrenerjik reseptör
Good pasture sendromu	Glomerul ve akciğer bazal membran
Primer bilier siroz	Başlıca mitokondri
Ülseratif kolit	Kolon lipopolisakkaridi
SLE	Nükleoprotein, DNA, RNA, IgG, Kollajen
Romatoid artrit	IgG, DNA, kollajen, RANA
Sjögren sendromu	Duktus, mitokondri, nukleus, tiroid
Miks konn. doku hast. (MCTD)	Ekstraktabl nuklear

a.Antinükleer antikorlar

Hücre çekirdeğinin bir çok elemanına karşı oluşan geniş bir antikor grubuna ***antinükleer antikor*** (ANA) denir. Bunlar özellikle romatizmal hastalıklarla ilişkilidir ve tarama için yaygın kullanılan otoantikorlardır. Son yıllarda romatizmal hastalıkların tanısında ve tedavilerinin izlenmesinde taşıdıkları önem nedeniyle, bir çok araştırmacının bu konuya eğilmesine ve çok sayıda araştırma yapılmasına yol açmıştır.

İlk olarak 1948 yılında, Hargraves ve arkadaşları lupus eritematozus (LE) hücre faktörünü bulmuş, daha sonra bunu çok sayıda diğerleri izlemiştir. 1960'ların başında, antinükleer faktörlerin, serumun γ globulin fraksiyonuna ait ve antikor yapısında olduğu tesbit edilmiştir. ANA'ların değişik kaynaklardan köken alan çekirdekler ile çapraz reaksiyona girdiği gösterilmiştir. Bu yüzden,

ANA'ların doku ya da türe spesifik olmadığı düşünülmektedir. Ancak tiroid, lökosit, gastrik mukoza. adrenal korteks ve bazı eritrositlerden izole edilen nükleusların ANA özelliğine sahip olan bazı örnekler ile spesifik reaksiyona girdiğini gösteren çalışmalar vardır(8).

Nükleer antijenler; hücrenin kromatin, nükleer zarf ve nükleer porlar, nükleolus, ribonükleoprotein partikülleri (RNP), nükleer sıvı gibi değişik bölümlerine dağılmış olarak bulunurlar (9).

İmmunolojik yapı itibariyle, IgM, IgG, IgA, IgD ve IgE sınıfından ANA'lar belirlenmişse de, anti immunglobulinler kullanılarak yapılan çalışmalarda, ANA'ların büyük bir kısmının IgG yapısında olduğu gösterilmiştir (8,10). ANA aktivitesine sahip IgG'nin de IgG_1, IgG_{2a}, IgG_{2b}, IgG_3 olmak üzere 4 alt grubu vardır. Bu alt sınıfların antikor spesifitesi ve hastalığın şiddeti arasında bir ilişki bulunamamıştır (8).

Ayrıca IFA ANA testinde, boyanma özellikleri ile IgG alt grupları arasında ilişki bulunmuştur. Bu ilişki, periferal boyanma özelliğine sahip antikorların primer olarak IgG_1 ve IgG_3 yapısında, benekli boyanma özelliğine sahip antikorların primer olarak IgG_3 yapısında, homojen boyanma özelliğine sahip olanlarınsa, primer olarak IgG_3 ve daha az olarak da IgG_1 yapısında olmaları şeklindedir (8).

(1) Antinükleer antikor tipleri

Antinükleer antikorlar, otoantijenler ve hastalıklarla ilişkisi tablo 2' de gösterilmiştir:

Tablo 2: Antinükleer Antikorlar, Otoantijenler Ve Hastalıklarla İlişkileri (3):

Antikorlar	Hastalık	Otoantijen
Anti- ssDNA	Özgül değil	Pürin,Pirimidin
Anti- dsDNA	SLE	DNA'nın deoksiriboz fosfat iskeleti
Anti -histon	SLE,RA,ilaca b. Lupus	H1,H2A,H2B,H3,H4,H2A-H2B
Anti -Sm	SLE	U1-U6 RNA proteinleri
Anti -RNP	MCTD,SLE	U1a,U1b proteinleri
Anti -Ro/SS-A	Sjögren Send.,SLE	hY,hY3,hY4,hY5 proteinleri
Anti -La/SS-B	Sjögren Send.,SLE	RNA polimeraz III transkriptlerinde ki fosforile proteinler
Anti -scl-70	S. Skleroz	DNA topoizomeraz I
Anti -sentromer	CREST	Kinetokor proteinleri
Anti -RNA polimeraz I	Yaygın S. Skleroz	RNA polimeraz I
Anti -fibrillarin	S. Skleroz	U3-RNP kompleksinde nükleer proteinler
Anti -PM-Scl	PM, S.Skleroz ve birlikte görüldüğü send.	Bilinmiyor
Anti -Jo-1	PM ve DM	Histidil-tRNA sentetaz
Anti -Pl-7	PM ve DM	Treonil-tRNA sentetaz
Anti -Pl-12	PM ve DM	Alanil-tRNA ve Alanil t-RNA sentetaz
Anti -Ku	S.Skleroz,PM ve SLE'nin birlikte olduğu send.	DNA'ya bağlı Proteinler
Anti -Mi-1	DM ve SLE	Nükleolar proteinler
Anti -Mi-2	DM	Bilinmiyor
Anti -PCNA	SLE	DNA polimeraz delta proteini
Anti -RANA	RA	Muhtemelen EBNA-1
Anti -Ma	SLE	Nükleer asidik protein

Bu antinükleer antikorların bazılarını kısaca şöyle açıklayabiliriz:

Çift iplikli (ds) ve tek iplikli (ss) DNA'ya karşı oluşan antikorlar:

İlk olarak, aktif SLE hastalarına ait örneklerde anti-DNA antikorların varlığı belirlenmiştir (8). 1948'de Hargraves tarafından gösterilen ve SLE için

özgül olan LE hücre fenomeni, bir IgG antikoru olan LE faktörünün desoksiribonükleoproteine bağlanması sonucunda ortaya çıkmaktadır (11). Daha sonraları, ssDNA ve dsDNA'ya karşı antikor varlığı RIA, ELISA ve Crithidia lucillae gibi çeşitli testlerle gösterilmiştir.

Anti-dsDNA antikorları DNA'daki pürin ve pirimidin antijenlerine karşı, anti-ssDNA antikorları ise desoksiriboz iskeletindeki komponentlere karşı oluşmaktadır (12,13). Anti-ssDNA ve anti-dsDNA arasında çapraz reaksiyon görülmemektedir (13). Anti-ssDNA antikorları daha sıklıkla ortaya çıkmakla birlikte, özgül değillerdir. Aksine anti-dsDNA antikorları ise, diğerinin yokluğunda nadiren saptanabilmekle beraber , SLE için oldukça spesifik kabul edilir ve hatta; tanı kriterleri arasında yer alır. (9,12,14).

Anti-dsDNA antikor titresi, hastalığın ciddiyetine bağlı olarak değişmekte ve hastalığın aktivitesini takipte yararlı olmaktadır (3,13). Anti-dsDNA antikorları diğer bağ dokusu hastalıklarında da düşük titrelerde saptanabilmektedir (13).

Histonlara karşı antikorlar:

Histonlara karşı oluşan antikorlar ilk kez, Kunkell ve arkadaşları (8); tarafından SLE'li hastalarda Kompleman Birleşmesi testi ile tanımlanmıştır

Histonlar; desoksiribonükleoprotein oluşumu için DNA ile kompleks yapan küçük, temel, nükleer proteinlerdir. Memelilerde H1,H2A,H2B,H3,H4 olmak üzere 5 histon subfraksiyonu vardır. Bunlardan yalnız birine veya birkaçına karşı antikor oluşabilmektedir (11). Bu antikorlar en sık SLE'de, ilaca bağlı lupus ve RA'de görülmekle birlikte, miks konnektif doku hastalığında (MCTD), ve sistemik skleroz hastalıklarında da rapor edilmişlerdir (3,15).

Anti histon antikorları belirlemek için kullanılan yöntemler ELISA ve İmmunoblotting teknikleridir (9).

Sm antijenine ve nükleer Ribonükleoproteinlere karşı antikorlar:

Sm antijeni ilk kez, Tan ve Kunkell tarafından Smith adlı hastanın serumunda tanımlandığı için bu ad verilmiştir (16). Sm ve RNP antijenleri immunolojik olarak birbirine çok yakın olup, küçük nükleer RNA (snRNA) kompleksleridir.Ayrıca U1-U6 RNA komplekslerini içerdikleri için U-RNA olarak da bilinirler (U nükleer olduğunu ifade etmektedir.)(3). .

Son yıllarda SnRNP'lerin, prekürsör mRNA'ların kesilmesi sırasında rol oynadığı gösterilmiştir. Anti-Sm ve anti-RNP antikorları bu kesilme olayını inhibe etmekte ve fonksiyonel mRNA oluşumunu engellemektedir (3). Bu inhibisyonun büyük önemi olduğu bilinmektedir. Fakat, romatolojik hastalıklardaki patogenezi izah edilememiştir.

Anti-RNP antikorları birçok bağ dokusu hastalığında ortaya çıkmakta, ancak yüksek titrede (>1/10000) saptandıklarında MCTD için tanısal değer taşımaktadır.Hatta bazı araştırmacılar,MCTD' ın alt grubu olan hastalıkların ayırdedilmesinde bir parametre olarak kullanılabileceğini belirtmektedirler (3).

Sm ve nRNP antikorları, immundiffuzyon, hemaglutinasyon, counter immunoelektroforez (CIE) prespite olmuş SnRNA'nın analizi testleriyle belirlenmektedir (13).

Ro/SS-A ve La/SS-B antikorları:

Ro antijeni, sitoplazmik non-nükleik asit antijeni olup buna karşı antikorlar, SLE'li ve Sjögren sendromlu hastalarda sıklıkla ortaya çıkmaktadır. La antijeni ise çözünür sitoplazmik RNA-protein antijenidir ve SLE'li hasta serumlarıyla presipitasyon vermektedir (11). Daha sonraki çalışmalarda , nükleer orjinli olduğu saptanan SS-A'nın Ro ile, SS-B antijenlerinin ise La ile aynı olduğu gösterilmiştir (3).

Bu antijenler, hücrenin fonksiyonel safhalarına bağlı olarak çekirdek ve/veya sitoplazmada bulunabilirler. Ro ve La antijeninin determinantları, polipeptitler üzerinde yerleşik olup tripsine duyarlıdır. Ro'nun antijenitesi substrat fiksasyon işlemi sırasında bozulabildiğinden yıkama işlemi sırasında giderilebilir ve yalancı negatif sonuçlara yol açar (12). Bu nedenle, anti-Ro antikorlarının saptanmasında hücre kültürü sistemleri dondurulmuş dokulardan daha duyarlıdır (3).

Anti-Ro antikorları birçok bağ dokusu hastalığında oluşabildiği gibi en sık SLE ve Sjögren sendromunda ortaya çıkmaktadır. SLE'de yalnız başına bulunduklarında, hastalığın erken dönemlerini ifade eder. HLA-DR2 ve DQWI varlığı ile de ilişkilidir. Anti-La antikorları ile birlikte bulunduklarında ise hastalığın geç dönemlerini ifade eder. Sicca kompleksi, hipergamma globulinemi, romatoid faktör (RF) pozitifliği ve düşük insidansta renal tutulumun göstergesi olabilir. Anti-Ro antikorları ayrıca C2 ve C4 eksikliği, sub kutanöz Lupus ve neonatal Lupus ile de ilişkili bulunmuştur (11,12).

Anti-Ro antikorları yalnız başlarına veya anti-La antikorları ile birlikte primer veya sekonder Sjögren sendromunda da ortaya çıkmaktadır. Bu antikorların varlığı vaskulit, kriyoglobulinemi, lökopeni, lemfopeni ve anemi

gibi hematolojik anomaliler ve merkezi sinir sistemi ile ilişkili bulunmuştur (11). Anti-Ro antikorları ayrıca primer bilier siroz, kronik aktif hepatit ve normal kişilerde de rapor edilmiştir (12).

Scl-70 ve sentromer (kinetokor) antikorları:

Scl-70 ve sentromer antikorları (ACA), sistemik sklerozlu hastalarda belirlenmekte olup; tanıda, hastalığın tipinin tayininde ve prognozunda yarar sağlamaktadır. Bu iki antikorun, birlikte saptanması nadirdir.

Scl-70, antijeni temel kromozomal nonhiston proteini olup 70 kDa ağırlığındadır. Bu antijenin DNA topoizomeraz I enziminin parçalanma ürünlerinden biri olduğu ve anti-Scl 70 antikorlarının ise, süpersarmal DNA'nın bu enzim tarafından gerçekleştirilen açılma olayını inhibe etmek suretiyle etki gösterdiği ortaya konulmuştur (3).

Anti-Scl 70 antikorları; sistemik sklerozlu hastalarda yüzde 20-28, bu hastalığın diffüz formunda ise yüzde 33 oranında saptanmaktadır (11).

Sentromer antijenleri ise üç tabakalı kinetokor yapısının iç ve dış tabakalarına lokalize olmuş 17/19, 80 ve 140 kDa ağırlığındaki üç proteinden oluşmaktadır (17). Anti sentromer antikorları sıklıkla sistemik sklerozun bir varyantı olan CREST sendromunda ortaya çıkmaktadır ve çok özgüldür.

Anti sentromer antikorları ayrıca; sistemik skleroz, primer Raynaud fenomeni, SLE, MCTD ve primer bilier sirozda da ortaya çıkmaktadır (11).

Çekirdekçik (nükleolus) antijenlerine karşı antikorlar:

Nükleolus antijenleri ile reksiyon veren antikorlar ilk olarak Beck tarafından bulunmuştur (8). Nükleolar antijenlere karşı oluşan antikorlar,

primer olarak sistemik sklerozda, bazen de SLE, Sjögren sendromu ve Raynaud fenomeninde görülebilmektedir. Bugüne kadar, immunofloresan boyama teknikleriyle çok sayıda nükleoler antijen tanımlanmıştır (9).

(a) RNA polimeraz I: rRNA'nın öncül molekülünü kodlayan geni transkribe eden enzim kompleksidir. Buna karşı oluşan antikorlar, noktalı nükleolar boyanma özelliği gösterir.Sistemik sklerozlu hastaların yüzde 4'ünde anti RNA polimeraz I antikorları pozitiftir (3).

(b) Fibrillarin : U3-RNP kompleksi ile ilişkili 34 kDa ağırlığında bir nükleolar proteindir.Anti fibrillarin antikorları da sistemik skleroz için özgüldür ve hastaların yüzde 8'inde saptanmaktadır.Bu antikorların varlığı, kalp ve akciğer tutulumunu ifade etmektedir (3). Boyanmaları kümeli nükleolar şekil gösterir.

(c) Poly (ADP-riboz) polimeraz

Önceden PM-1 olarak bilinen PM-Scl antijeni, 20-110 kDa arasında değişen ağırlıklarda 11 polipeptitlerden oluşmuştur (11). Fonksiyonu henüz bilinmemekle beraber, pre-ribosomal partikül olduğu düşünülmektedir.Hem nükleolusta hem de nükleoplasmada bulunur.Anti Pm-Scl antikorları homojen nükleolar boyanma paterni gösterir.Polimiyozit, sistemik sklerozda ortaya çıkmaktadır. Son yıllarda bazı sistemik sklerozlu hastalarda, nükleolus organize eden bölgelere karşı antikor oluşumu gösterilmiştir.Antijen ***NOR-90*** olarak adlandırılan, 90kDa ağırlığında bir proteindir. Ancak, bu antijenlere karşı oluşan antikorların önemi henüz aydınlatılamamıştır.

Nükleer/Sitoplazmik antijenlere karşı oluşan antikorlar:

Bu grup içinde, Jo-1, PL-7, PL-12, Mi-1, Mi-2, Ku =Ki = P70 / p80 antijenleri yer alır (18).

Jo-1, PL-7, PL-12, özgül aminoaçil - tRNA sentetaz molekülleri olup, protein sentezi sırasında aminoasitleri aktive ederek, kendilerine özgül tRNA moleküllerine bağlanmalarını sağlarlar. Bu antijenlere karşı oluşan antikorlar, daha çok polimiyozit ve dermatomiyozitli hastalarda yüzde 4-30 oranında saptanabilmektedir. (11,19) Anti-Jo ve anti-PL antikorlarının polimiyozitli hastalarda interstisiyel akciğer hastalığı ve artrit ile ilişkileri olduğu bildirilmektedir (3). Anti Jo-1 antikorlarını göstermek için yapılan IFA testinde, Jo-1 antijeninin nükleer olduğu ancak hücre sitoplazmasında yer aldığı görülmüştür (18).

Anti-Mi-1 ve anti-Mi-2 antikorlarının, dermatomiyozit ile yüksek derecede ilişkili olduğu ve birbirinden bağımsız olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu nedenle, bu antikorlar, dermatomiyozit için özgül birer marker olarak kabul edilmişlerdir (3).

Anti-Ku antikorları, sistemik sklerozis, polimiyozit, SLE hastalık kompleksinde sıklıkla saptanır. DNA' ya bağlanan nükleer protein çiftine karşı (p70/p80) oluşmaktadır (11). Bu antikorlar, IFA ile yaygın benekli ve nükleolar şekilde boyanırlar.

PCNA'ya (Cyclin=PL-5) karşı oluşan antikorlar:

Sadece prolifere olan hücrelerde ortaya çıkan antijenlere (PCNA) karşı oluşan antikorlar, SLE'li hastaların yüzde 2-3'ünde pozitiftir (18). Anti-PCNA antikorlarının DNA replikasyonunda regulatör rolü olan bu antijenin

aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir (11,18). Rutin uygulamada IFA tekniği ve daha yeni olarak da ELİSA tekniği ile gösterilebilmektedir (18).

Romatoid Artrit ile ilişkili nükleer antijene (RANA) karşı oluşan antikorlar:

Romatoid artrit ile ilişkili nükleer antijene (RANA) karşı oluşan sadece Epstein Barr virusu ile transforme hücrelerde saptanabilmektedir (3,13). Bu antikorlar IgG yapısında olup RF ile benzerlikleri yoktur. RA'li hastaların çoğunda, diğer bağ dokusu hastalığı olan kişilerde ve normal kişilerde sıklığı daha azdır. RA'deki varlıkları, bu hastalıkta EBV'un muhtemel patojenik rolünü desteklemektedir (11,13).

Anti-Ma antikorları:

Bir nükleer asidik protein olan Ma antijenine karşı oluşan anti-Ma antikorları ise, SLE'li hastalarda saptanmaktadır. Anti-Ma antikor varlığı, hastalığın ciddiyetini ifade eder. Böbrek tutulumu, hipertansiyon, nörolojik hastalık, kompleman düzeyinde azalma, hepatosplenomegali ve lenfadenopati ile ilişkilidir. Ma antijeninin, nefrit atağından hemen önce dolaşımda görülmeye başlandığı bildirilmektedir (3).

(2) Antinükleer antikorların tesbit yöntemleri

ANA tesbitinde; kullanılan antijen yapısına göre farklı teknikler uygulanabilmektedir (9).

Bu yöntemlerden bazıları şunlardır:

İndirekt İmmunofloresan Antikor yöntemi (IFA)

Günümüzde ANA tesbitinde ençok tercih edilen ve yaygın olarak kullanılan yöntem, IFA yöntemidir. İndirekt IFA testi çok duyarlı olup çok sayıda nükleer antijenlere karşı oluşan antikorları belirleme özelliğine sahiptir (8). Substrat olarak çok çeşitli doku kesitleri ve hücre kültürleri kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar hücre kültürlerinin daha duyarlı olduğunu göstermiştir (8, 13, 18, 20, 21, 22). Bu sistemlerde antisentromer antikorlar da çalışılabilmektedir (11).

Bütün bunlara karşılık, IFA tekniği; kullanılan yöntemlerin farklılığı, değişik kaynaklı substrat kullanımı, konjugatlar için belirli bir standardın bulunmaması, yorumlama güçlüğü ve fluoresans mikroskopisinin kendinden kaynaklanan problemler gibi dezavantajlara da sahiptir (8). Farklı laboratuarlar arasındaki sonuçlar karşılaştırılacaksa, standardizasyon mutlaka sağlanmalıdır.

Okumada, işaretli nükleuslar sarı-yeşil renkte görülürler (23).

Nükleer Boyanma Özellikleri:

Pozitif ANA testinde 4 temel tipte boyanma şekli görülebilir:

(a) Homojen (b) Benekli (c) Periferal (d) Nükleolar

Boyanma şekli bazı hastalıkların tanısında önem taşımaktadır.

(a) Homojen boyanma:

Bütün nükleus aynı yoğunlukta homojen olarak boyanmıştır. Bazı örneklerde nukleolus boya alırken, bazılarında almamaktadır. Başlangıçta, nükleusun homojen boyanmasını sağlayan çözünmez deoxyribonükleoproteine

(DNP) karşı oluşmuş antikorlar olduğu zannedilmekteydi. Bu antikorların LE faktörü ile aynı spesifiteye sahip olduğu gösterilmiştir (8). Ancak, daha sonra yapılan çalışmalar ile çözünmez DNP'nin yanısıra dsDNA, histonlar ve ssDNA'ya karşı oluşan antikorların da homojen boyanma özelliğine sahip olduğu belirlenmiştir.

(b) Benekli boyanma :

Bu boyanma özelliği Beck tarafından tanımlanmıştır (8). Nükleusta dağılmış birçok antijeni temsil eden noktalı floresan biçimidir. Sm, RNP, SS-A, SS-B ve Scl-70 antijenine karşı antikorlarla oluşan reaksiyona bağlı benekli şekilde görülürler (13). Bu benekler büyüklüklerine göre 3 türde tanımlanmıştır (21):

-Kaba benekli - Kaba benekli ve/veya ince benekli

-İnce benekli

(c) Periferal boyanma:

Nukleus merkezi boya almazken ortadaki koyuluğun çevresinde yoğun floresan boyanma gözlenir.Kondanse olmuş kromozom bölgesinde metafazik hücreler , yoğun, yumuşak ve kenarlı boyanmıştır (21). Bu boyanma şekli daha ziyade dsDNA antikorları içeren örnekler tarafından oluşturulduğu gösterilmiştir (8). Ayrıca DNP, histonlar ve ssDNA antikorları tarafından da oluşturulmaktadır.

(d) Nükleolar boyanma :

Nükleoler boyanma: bu organele karşı gelişen antikorların tanımlanmasına yarayan spesifik bir boyanmadır (8). İki veya daha fazla nükleol yoğun, benekli veya kenarlı olarak boyanır. Kondanse kromozom

bölgesindeki metafazik hücreler genellikle boyanmazlar (21). Genellikle diğer boyanma şekilleriyle birlikte görülerek karışık tipte floresan veren bir boyanma şeklidir. RNAase ve tripsine karşı duyarlılığı nedeniyle bu antijenik aktivitenin nükleolar RNA proteinine ait olduğu düşünülmektedir (8).

İmmunodiffuzyon yöntemi

Bu yöntemde bir monospesifik prototip serum (antikoru belli) ile timus veya dalak doku ekstreleri kullanılır. DNA gibi büyük makromoleküllerin agorda diffüzyonunun zayıf olması bu yöntemle DNA , anti DNA sisteminin tayinini güçleştirmektedir. Bu teknikle görülen çökme reaksiyonlarının RIA ve ELİSA gibi daha hassas tekniklerle değerlendirilmesi gerekir (23).

Counter immunoelektroforez (CIE) yöntemi

Agar diffuzyona göre daha hassastır. DNA ve RNA gibi asidik antijenler katodal (-) bir kuyucuktan özel bir reaksiyon için anodal (+) kuyucuklara gelen özgül antikorlarla elektroforeze tabi tutulur. Yöntemin avantajları; nisbeten artmış bir sensitivite, antijen kaynağı olarak daha kaba ekstrelerin kullanılabilmesi ve yükleri sayesinde değişik antijenlerin daha kolay tanımlanabilmesidir. Dezavantajları ise; basit antijenleri saptayamaması, serumda 0.01-0.05 mg/ml antikor proteinine ihtiyaç göstermesidir.

RIA yöntemi

Özel anti DNA'ları ölçmede kullanılır. Test ve kontrol serumları radyoaktif işaretli ds DNA ile inkube edilir. Sonra, antikora bağlanmış DNA'yı çöktürmek için ya amonyum sülfat eklenir ya da DNA-antikor kompleksi hafif vakum ile sellüloz filtrelere çekilir. Ardından, bağlanmış işaretli DNA sintilasyon sayıcıda sayılır ve inkube edilen DNA'ya oranla yüzde olarak sonuç

sonuç verilir. Çift zincirli DNA çalışmalarında, komplemanın sonucu etkilememesi için serum 56°C 'de inaktive edilmelidir (23).

ELİSA yöntemi

RIA'ya oranla daha ucuz, daha güvenlidir. Duyarlılığı, RIA'ya eşdeğer olup, kantitatif sonuçlar elde edilebilir. Özellikle ds ve ssDNA' ya karşı olan antikorların tayininde kullanılır. Pikogram ve nanogram düzeyinde ölçüm yapılabildiğinden RIA' nın yerini almaktadır (23). ELİSA ile total ANA tesbit edilir. Özellikle geniş hasta taramalarında IFA yöntemine göre daha kullanışlıdır. Nükleus içindeki yaygın yerleşmiş ANA'ları IFA yöntemi ile tesbit zor iken, bu ELİSA ile kolaydır. Homojen ve az benekli hasta serumları en yüksek ELİSA titreleri verir. Ancak antikorlar eğer nükleus içinde kümelenmiş ise bu durumda IFA ile tesbiti daha kolaydır. SS A/SS B , ELİSA ile iyi tesbit edilemezler, çünkü; nükleusta az miktarda bulunurlar. Fakat bu total ANA tesbitinde önemli bir problem oluşturmaz (24).

İmmunoblotting Yöntem

b.Romatoid Faktör

Romatoid faktörler (RF) IgG molekülünün Fc kısmındaki antijenik bölgelerine karşı oluşan otoantikorlardır. IgM, IgA, IgG ve IgE cinsinden immunoglobulinler olabilir. Bir immunoglobulin molekülü üzerinde yer alan pek çok değişik bölgeye karşı otoantikor oluşabileceği ve topluca bunlara ***antiglobulin ailesi*** adı verildiği bilinmektedir. Ancak oluşan antikorun RF kapsamına girebilmesi için mutlaka IgG molekülünün Fc kısmına karşı olması gerekir (23).

Yapılan immunfloresan çalışmalar, RF'ün lenf nodlarının germinal merkezindeki geniş soluk hücrelerde ve bu bölgeyi çevreleyen plazma hücrelerinde yapıldıklarını göstermiştir (25).

Romatoid Faktör Tayin Yöntemleri

RF'ler, vücudun herhangi bir şekilde değişikliğe uğrayarak moleküler yapıları bozulmuş kendi immunoglobulinleriyle reaksiyona girip, immun kompleksler oluşturabildikleri gibi, başka bir canlıya ait yabancı immunoglobulinlerle de reaksiyona girebilmektedir .RF'nin tayininde bu özelliğinden faydalanılır.

Aglutinasyon , presipitasyon, kompleman fiksasyon ve immunofloresans çalışmaları gibi metodların yanısıra RIA ve ELİSA yöntemleri sayesinde miktar olarak daha hassas ölçümler yapılabilmektedir.

IgM RF'ler multivalandır. Aglutinasyon testlerinde sıkça kullanılan insan IgG'si ile pasif olarak kaplanmış lateks boncukları veya bentonit cisimciklerinin etkili aglütinatörleridir. IgG kaplı parçacık ile IgM RF içeren serumun düz bir zeminde birbirine karıştırılması görünür bir çökelti oluşmasına neden olur. IgM RF'ün miktarı bu aglutinasyonun görülebildiği en yüksek sulandırma cinsinden verilir.

(a) Lateks aglütinasyonu yönteminde IgG kaplı lateks partikülleri 56^{o}C inaktive edilmiş hasta serumlarıyla aglutinasyon verirlerse RF (+) olarak kabul edilir. 1/40 ve daha yüksek titrasyonlar RF'ün (+) olduğunu gösterir. Serum yeterince inaktive edilmemişse, hatalı (+) liklere neden olabilir.

(b) Pozitif Rose Waaler testi , pasif bir hemaglutinasyon testidir.(2) Romatoid artrit için daha özgüldür ve yüzde 90 vakada pozitif sonuç verir. Duyarlılığı nisbeten zayıftır. (RA vakaları için yüzde 50-60)

Bu test yerini lateks aglutinasyon testine bırakmıştır.

Lateks testi: daha duyarlı olmasına karşın, RA vakalarında yüzde 75 gerçek pozitif olup, daha az özgüldür. Pozitif test sonuçları tüp titrasyonu ile doğrulanmalıdır. Kompleman sisteminde yer alan C1q molekülü de IgG kaplı taşıyıcıları aglütine etme özelliğine sahiptir. Bu özellik, çalışmada kalsiyum bağlayıcı içeren antikoagulan ile alınmış plazma kullanılıyorsa daha belirginleşir. Bu nedenle, örnek çalışma öncesi 30 dakika 56^{o}C bekletilerek inaktive edilir.

Romatoid faktörlerin tayini için hassas RIA ve ELISA yöntemleri de geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin avantajı 1000-10000 kez dilue edilmiş serumlarda RF tayini yapılabilmesidir. Bu yüksek dilusyonlarda immun-komplekslerin ve serumda bulunan Ig' lerin RF tayinini etkileme oranı düşüktür.

Romatoid artrit veya hipergammaglobulinemik purpura tanısını teyid etmek için IgG RF'ün miktarına yönelik çalışmalar yapmak faydalıdır. Hiperviskozite sendromu ve romatizmal vaskulit vakalarında tedaviye cevabı takip açısından IgG RF faydalıdır. Ancak, IgG RF'in rutinde klinik çalışması belirlenmemiştir.

Sicca sendromunda hastaların tükrüğünde IgA RF vardır.

RF çalışmaları için giderek önem kazanan otomatize sistemler arasında RF içeren serum ile karşılaşınca, aglutine olmuş IgG ' lerin ışık saçılım

özelliğinin değişmesinden faydalananlar mevcuttur. Bunlar arasında ***Laser nefelometresi*** ve ***oran nefelometresi*** vardır. Bu çalışmalar kantitatif aglutinasyon çalışmalarına göre eşit hassasiyete ve özgüllüğe sahipken çoğaltılabilirliği daha iyidir. Nefelometrik çalışmalar ağır lipemiden etkilenebilmektedir.

Romatoid faktörün klinikte kullanımı

Romatizmal hastalıkların teşhisi için RF, özgül bir kriter değildir. Popülasyonda pozitiflik yüzdesi ise, çalışma yöntemine göre farklılık gösterir. Yaşla titresi artar. 70 yaşın üstündekilerin yaklaşık yüzde 25 inde yaşla beraber artışı söz konusudur. (26).

RF titresinin yükseldiği hastalıkların bazıları şunlardır:

(a) Romatizmal hastalıklar: Romatoid artrit, SLE, Skleroderma, MCTD, Sjögren sendromu

(b) Akut viral enfeksiyon: EMN, Hepatit, İnfluenza vb. aşı sonrası

(c)Parazit enfeksiyonları: Tripanasomiasis, Kalaazar, Sıtma, Şistozomiasis, Filariasis vb.

(d)Kronik enflamatuar hastalıklar: Tüberkuloz, Lepra, Sifiliz, Brusellozis, Salmonellozis , Subakut bakterial endokardit vb.

(e) Neoplaziler : Radyasyon tedavisi veya kematerapi sonrası

(f)Diğer hiperglobulinemi durumları: Hipergamma globulinemik purpura , kriyoglobulinemi, kronik karaciğer hastalıkları Sarkoidoz, kronik pulmoner hastalıklar

Yukarıda da belirtildiği gibi, RF hem akut veya kronik enflamasyon durumlarında hem de tamamen normal kişilerde pozitif olabilir(<%5). Ancak, RA' e oranla romatizmal olmayan durumlarda titre, romatizmal artrite oranla genellikle daha düşüktür. Yüksek titre RA tanısına yaklaştırmalıdır.

Olağan poliklonal RF dışında , soğuk reaktif RF denilen bir başka grup daha mevcuttur. Monoklonal olan bu antiglobulinler soğutulduklarında kriyo-presipitat oluşur. SLE, Sjögren sendromu ve viral enfeksiyonlarda rastlanabilen bu soğuk reaktif RF'lere, lenforetikuler malignensilerle, komplike olmuş kriyoglobulinemik durumlarda da rastlanabilir. Bu durumlar 37 ^{o}C da çözünür hale getirilen RF'ün bazı özel metodlarla saptanmasıyla teşhis edilir.

3. ANTİSTREPTOLİZİN - O (ASO)

Streptokoksik ve poststreptokoksik enfeksiyonların araştırılmasında kullanılan serolojik bir testtir. A grubu β hemolitik steptokokların eritrositleri eriten enzim niteliğindeki streptolizin - O antijenine karşı konak tarafından oluşturulan antikorlardır (27).

Ayrıca hiperkolesterolemi, hepatit, karaciğer sirozu, pnömöni, plörit, tüberküloz, malignensi, nefroz gibi durumlarda da yükselir.

4. C - REAKTİF PROTEİN (CRP)

Pnömokokların C kapsül antijenine karşı oluşan, proteinlere benzeyen, 0akut eklem romatizması gibi iltihabi hastalıklarda yükselen, α globulin yapısında, akut faz reaktanıdır. Karaciğerde yapılır (28).

İltihap, hücresel zedelenme, hatta gebelik gibi uyaranlar, insanda akut faz reaktanları denen heterojen grup protein yapımını uyarırlar. Özgül olan ya

da özgül olmayan iltihabi reaksiyonlarda ortaya çıkar. Patolojik bir olayı başlangıçta gösterir.

Romatizmal hastalıklar, kalp yetmezliği , hepatit, malignensi, tüberküloz, viral enfeksiyonlar, bakterial enfeksiyonların bir çoğunda östrojen kullanımında. kontraseptif kullanımında, gebeliğin son üç ayında ve daha birçok durumlarda düzeyi artar (28,29).

5. ANA, RF, ASO VE CRP'NİN HASTALIKLARLA İLİŞKİLERİ

Romatoid Artrit (RA):

RA, etiyolojisi kesin olarak bilinmeyen kronik bir multisistem hastalığıdır. Etiyolojide; genetik faktörler (HLA DR4 yüzde 60-70), infeksiyon ajanları (EBV, Tüberküloz, Klostiridium perfiringens gibi) ve otoimmunite suçlanmaktadır. Pek çok sistemik bulgusuna rağmen, karakteristik özelliği periferik eklemleri simetrik biçimde tutan enflamatuar sinovittir.

Prevalansı ortalama yüzde 1.5 dur. Kadınlarda 2.3 kat fazla görülür. Yaşla prevalansı artar.İleri yaşlarda cinsiyet ayrımı azalır.Hastaların yüzde 80' i 35-50 yaşlarındadır.

Patogenezinde immunolojik mekanizmaların rol aldığına dair birçok delil vardır. Hastaların bir çoğunun serumunda, otolog immunoglobulinler (romatoid faktörler) tesbit edilmiştir. Bu otoantikorların, IgG ile immunkompleksler oluşturup kompleman aktivasyonu ve PNL'lerin olay yerine cezbedilmesi yoluyla sinovit ve vaskulite yol açtığı düşünülmektedir. Bazı romatoid faktörler DNA , histon , hücre iskeleti gibi otoantijenlerle reaksiyona girmektedir (5).

Özellikle, tip II kollajenin antijenik hale gelmesinin, olayı başlattığı ileri sürülmüş fakat kanıtlanamamıştır. IgM tipindeki RF'lerin, hastalığın sürdürülmesinde önemli rolü olmasına karşın, başlatıcı etken olmadığı kabul edilmektedir. CRP daha çok akut fazda pozitiftir. Romatoid faktör yüzde 80-90 pozitiftir. Ancak bu özgül değildir. RF normal populasyonda özellikle yaşlılarda yüzde 5 oranında müsbetleştiği gibi, diğer kollajen doku hastalıklarında da pozitif olabilir. RF 1/80 üzerindeki titreler pozitif kabul edilmelidir. Titre arttıkça RA ihtimali artar. Eklem dışı tutulumlarda RF genelde pozitiftir.

En yüksek titreye splenomegali, vaskülit veya subkutan nodüllerin eşlik ettiği ağır, aktif kronik hastalarda rastlanır. Testler hastalık 6 ay aktif kaldıktan sonra negatifleşirse de yüzde 10-20 sinde pozitif kalabilir.

Osteoartrit, gut, hemakromatozis, AER, süpüratif artrit, ülseratif kolitle ilişkili artrit ve psöriazis ile ilişkili artritte negatiftir.

ANA yüzde 10-15 pozitif olabilirse de ASO normaldir.

Juvenil Romatoid Artrit (JRA):

Yetişkin Romatoid artritten farklı yönleri vardır. Büyük eklemler daha sık tutulur.RF pozitifliği seyrektir, yüzde 30 vakada yüksek ASO' nun olması etiyolojide streptokokların etkili olabileceğini düşündürmektedir. RF'e sık rastlanmaması patogenezdeki rolünü zayıflattığı gibi ANA ile de kesin ilişki kurulamamıştır. ANA en yaygın erken başlangıçlı oligoartiküler grupta bulunurlar.

Mono artiküler ve oligoartiküler tip I de RF negatif, ANA ise yüzde 60-70 pozitiftir.Hatta risk faktörleri arasında ANA pozitifliği de vardır.

Mono artiküler ve oligo artiküler tip II de, (yüzde 25 vakada rastlanır) ANA ve RF negatiftir.

Sistemik başlangıçlı olgularda, aktif dönemlerde CRP oldukça yüksektir. Yarısından çoğunda ASO yüksektir. RF ise, yüzde 15-20 pozitiftir. JRA de RF yüzde 5 pozitif olup, ANA RF negatif olanların yüzde 75 'inde pozitiftir. Poliartiküler tip I de ANA yüzde 60 pozitiftir. Erken yaşlarda tutulumu olan kızlarda ANA daha sık, sistemik formlarda ve erkeklerde ise daha az pozitiftir. En yüksek değere oligoartritli ve üveitli çocuklarda rastlanır (%65-85).

Sistemik Lupus Eritematozus (SLE):

Kronik , sistemik, yangısal bir hastalıktır. 15-33 yaşları arasında başlar. Kadınlarda 10 kat daha fazladır. Akrabalarda görülme şansı yüzde 5 'dir.

İlk defa 1948 yılında, M.M.Hargraves tarafından bu tip hastaların kemik iliğinde LE hücresi gösterilmiştir. SLE çeşitli oto antijenlere karşı otoantikor yapımı ile karakterize bir hastalıktır. Yeni görüşlere göre, otoantikorlar self toleransın yıkılması ile ortaya çıkarlar. Karşılaşılan otoantikorlar arasında en dikkat çekici olanlar: DNA, deoxyribonükleoprotein, histon, RNA, nükleolar antijenler ve çözünebilen extract bileşenlerine karşı oluşanlardır (5). Bu antikorların etkisi ile çeşitli otoimmun tepkimeler ve glomerulonefrit, vaskulit ve non eroziv poliartrit gibi immun kompleks reaksiyonları ortaya çıkar ve tipik hastalık belirtileri meydana gelir.

SLE etiyopatogenezi açısından ençok araştırılan antikor, anti-DNA dır. Normal bireylerin B hücre populasyonunda yüzde 1-5 oranında bulunan anti-DNA antikorlar, hastalıkların aktivitesi ile yakından ilişkilidir.

SLE 'de klasik olarak bulunan antinükleer antikorlar 4 grupta incelenebilir:

(1)Anti-dsDNA'ya karşı antikorlar: Hastaların yüzde 50' sinde bulunur. Lupus için özgündür. Özellikle böbrek tutulumu ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir.

(2)Anti-ssDNA'ya karşı antikorlar: Yüzde 60-70 hastada pozitiftir. Diğer romatizmal hastalıklarda ve enfeksiyonlarda da görülebilir. Dolayısıyla lupusa özgü değildir.

(3)Anti-histon antikor : Yüzde 70 hastada pozitiftir. Özellikle ilaçlara bağlı lupusta pozitif olur.

(4)Nükleik asit-protein komplekslerine karşı antikorlar: Anti-sm antikor SLE 'lerin ancak yüzde 20- 40' ında pozitif olup lupusa özgül kabul edilmektedir.

LE yüzde 80, RF yüzde 20 pozitiftir.

İlaçlar da, lupus benzeri tablo oluşturabilir.Procainamid , hidralazin metil dopa, fenitoin, nöroleptikler, streptomisin, penisillin, INH, sulfanamid, D penisillamin, tetrasiklin,oral kontraseptifler, PAS kullananlarda ,.ANA ve anti histon antikorlar bulunur.Anti DNA negatiftir.

Progressif Sistemik Skleroz (PSS), (Skleroderma):

Derinin sertleşmesi ,fibröz kalınlaşması sinovial dokuda dejeneratif değişiklikler ve fibroz ile karakterize, değişik organları tutan bir hastalıktır. 30-50 yaşları arasında ortaya çıkar ve kadınlarda 3 kat sık görülür.

ANA yüzde 90, RF ise 1/3 vakada pozitiftir.Anti-Scl 70 yüzde 30-40, ACA (anticentromer antikor) yüzde 10-20 pozitiftir. Polimiyozitle birlikte diffuz sklerodermada. PM Scl antikorları yüzde 5-10 görülür. Anti-RNP yüzde 20 pozitiftir.Anti DNA ve anti Sm nadiren ve düşük titrelerde pozitiftir.

PSS ile ilgili iki önemli antikor *ACA* ve ***anti-Scl 70*** dir. ACA cilt tutulumuyla ilgili PSS' de yüzde 50-96 pozitiftir. Diffuz PSS' de yüzde 20-40 pozitif olan anti-Scl 70 böbrek tutulumu gibi kötü prognostik faktörlerle ilişkili bulunmuştur.

Dermatomiyozit - Polimiyozit (DM-PM):

Kasların inflamatuar hastalığı olan, perivaskuler sistemi tutan, kas atrofisi ve kas güçsüzlüğüne neden olan bir konnektif doku hastalığıdır. Bu tablo tipik deri dejenerasyonu ile olursa ***Dermatomiyozit*** denir. En sık 50-60 yaşlarında rastlanır. ANA yüzde 50-80 pozitiftir.Anti-ssDNA yüzde 10-20 mevcuttur. Anti-dsDNA, anti-histon, anti-RNP, anti-Sm, anti-Ro ve La nadiren görülür. Anti-Jo 1 anti-PM 1 anti-PL 7. anti PL-12 tesbit edilir. Dermatomiyozitli hastaların yüzde 20'sinde görülen anti-Mi-2 antikorları hızlı gidişli, ancak prognozu iyi bir klinik tabloda görülür.

DM ve PM'de tanımlanan diğer otoantikorlar, PSS veya SLE ile ilişkili over lap tablolarda görülen anti-PM 1 ya da PM Scl ile anti-Ku dur.

Miks Konnektif Doku hastalığı (MCTD):

SLE, skleroderma ve dermatomiyozitte görülen klinik belirtiler, bu hastalıkta da vardır. Major bulgularından birisi, Raynaud fenomenidir. Klinik olarak tanısı güç olan bu hastalığın, immunolojik tanısı kolaydır.U1 RNA yüzde 95-100 oranında ssDNA yüzde 15 oranında görülür (30).

Tablo 3 :Çeşitli Otoimmun Hastalıklarda ANA'ların ve RF'ün Profili (30,31):

ANA'lar	SLE %	MCTD %	SS %	PSS %	DM %
dsDNA	70-80	-	-	-	-
ssDNA	60-90	10-20	10-20	10-20	10-20
Histonlar	70	-	-	-	-
Sm	30-40	-	-	-	-
U1-RNP	35-45	95-100	-	20	-
SS-A (Ro)	30-50	-	60-70	-	-
SS-B (La)	15	-	45-60	-	-
Scl 70	-	-	-	-	-
Sentromer	-	-	-	25-30	-
Nükleolar	-	-	5-10	50-60	5-10
PM-1	-	-	-	-	50
Jo-1	-	-	-	-	30
Ku	-	-	-	-	55
R.F	20-40	5-25	75-95	5-10	0-5

ANA'nın pozitif olduğu diğer durumlar

(1) Patolojik durumlar:

Primer Bilier Siroz

ANA yüzde 25 pozitiftir. Ayrıca RF' de pozitiftir. ***Anti mitokondrial antikor*** (AMA) yüzde 90-100 bulunur. Yüzde 80' inin titresi 1/80 nin üzerindedir (32).

Otoimmun Kronik Aktif Hepatit

ANA yüzde 80 , AMA yüzde 30 pozitiftir. HbsAg negatif olgularda bu oran söz konusu iken HbsAg pozitif olgularda ANA düşüktür hatta negatiftir. LE hücresi pozitiftir (33).

Atopik Dermatit

Kendine özgü lokalizasyonları olan, şahsi ve aile anamnezinde allerjik hastalık hikayesi bulunan, kserozis, deri vaskularitesinde fonksiyon bozukluğu, ve immunolojik değişikliklerle kendini gösteren kutanöz, enflamatuar bir durumdur (34,35). Etiyolojisi kesin olarak bilinmemektedir. Birçok hipotez vardır. İmmunolojik temelde izah çabaları, son zamanlarda artmıştır. Bu hastalarda. stimule hücrelerde cAMP düzeyinde düşüş ve supressör T lenfositlerde sayı ve fonksiyon azalması ile kendini gösteren immun yetersizlik vardır (34,35,36) . Yapılan bazı çalışmalarda, ANA yüzde 34 oranında pozitif bulunmuştur (36).

Sjögren sendromu; ANA yüzde 70 pozitiftir. Romatoid artrit olmadan RF yüzde 52 , Romatoid artritle beraber ise yüzde 98 pozitiftir.

Felty sendromu; RF yüzde 98 pozitif olup, ANA 2/3 ünde mevcuttur.

Kaplan sendromu; RF yüzde 50, ANA sıklıkla pozitiftir.

Ayrıca neoplazmalar, akut ve kronik lösemiler , anterior üveit, kardiovaskuler kollaps, sarkoidoz, akut ve kronik karaciğer hastalıkları, kollajen kolit (37), postperikardiotomi sendromu (38), kronik mikobakterial enfeksiyonlar (39), renal yetmezlik, enfeksiyöz mononükleozis, primer ve akkiz immun yetmezlikler , psikiyatrik hastalıklar (40,41,42) gibi daha birçok durumda da ANA pozitifliğine rastlanır.

Bunların dışında daha birçok hastalıkta, ANA profilinin belirlenmesi amacıyla çalışmalar yapılmaktadır.

(2) Fizyolojik durumlar:

ANA, normal insanlarda ve bazı farklı durumlarda, düşük titrelerde pozitif olarak bulunmaktadır (8). Normal populasyondaki bu pozitiflik, toplumun küçük bir bölümünde olup kadınlarda erkeklere göre daha fazla görülmektedir (8). Yaşlılarda yüzde 10 civarında pozitiftir. Bu pozitiflik, 70 yaş üzerinde yüzde 20 civarına yükselir (10). Genç populasyonda yüzde 4' ün altındadır. Çocuk populasyonda yüzde 2-9 arasında pozitif bulunmuştur (43).

Hamile kadınlarda, anlamlı olarak pozitiftir. Bu pozitifliğin nedeni bilinmeyip, hamileliğin sonlarına doğru artış göstermektedir. En yüksek değere hamileliğin sonlarında erişilmektedir. ANA pozitifliği, anne ve bebek açısından her hangi bir komplikasyona neden olmamaktadır.

Bazı ilaçların kullanılmasına bağlı olarak da ANA pozitifliği görülmektedir. Piritoksin tedavisi, enalapril, kaptopril, propilthiourasil gibi sülfidril içeren ilaçlar otoimmunite indüksiyonuna yolaçarlar (44,45). İlaca bağlı LE sendromuna neden olan; izoniazid, procainamid ve hidralazin kullanımı, bazı antikonvulzan ilaçlar (46) (karbamazepin difenil hidantoin,

mefentoin, trimetadion, ethosuksimid) klortolidon, sülfonamidler nitrofurantoin, klofibrat, penisillin, D penisillamin, paraamino salisilik asit, oral kontraseptifler de ANA pozitifliğine neden olabilirler (8,10). İlaca bağlı LE'de ANA görülme insidensi, hastalık semptomlarının gelişme insidensinden daha yüksektir. Procainamid kullanımında, ANA pozitifliği yüzde 75 iken, semptom gelişme oranı yüzde 30 dur (10).

ANA'ların teşhisteki önemleri bilinmesine karşılık, patogenezdeki rolü bilinmemektedir. İçlerinden sadece dsDNA antikorlarının patogenezdeki rolleri bilinmektedir. Antijenik olarak yeterli DNA antikor ile reaksiyona girmekte ve inflamatuar mediatörlerin salımına neden olmaktadır. Diğer intersellüler antijenlerin ekstra selluler alanda bulunmaları ve kendisine karşı oluşan antikorlarla reaksiyona girmeleri hakkında değişik görüşler vardır (12).

Otoantikorların, hücre membranına penetre oldukları ve interselluler antikorlarla reaksiyona girdikleri düşünülmektedir (8,12). Bazı araştırmacılar, bu olayın permeabilite üzerine etki edilerek gerçekleştirilebileceğini bildirmişlerdir. Bir görüşe göre, IgG ANA'ya karşı hücre permeabilitesi artmakta ve hücre içerisine giriş bu şekilde sağlanmaktadır. Diğer bir görüş ise, IgG ANA'nın hücre duvarındaki Fc reseptörlerine bağlanarak penetrasyonu gerçekleştirdiği şeklindedir (13).

ANA'ya bağlı çapraz reaksiyonlar

Günümüzde, RF gibi ANA'nın da çapraz reaksiyonlara neden olabileceği düşünülmektedir. Özellikle; IgM antikorlarının araştırıldığı solid faz ELİSA yönteminde, yalancı pozitifliğe rastlanılmaktadır (47,48,49).

İndirekt yöntemlerde katı fazdaki antijen ile birleşen spefisik IgG'lere ANA nonspesifik bağlarla bağlanmaktadır. Bu ise; ortamda spesifik virus IgM'leri bulunmamasına rağmen, yalancı pozitif sonuçların alınmasına neden olur (47,48). Anti IgM kaplı katı fazların kullanımında konjugat olarak işaretli IgG molekülleri yerine işaretli Fab 2 kısımlarından yararlanılmasının RF ve ANA'ya ait yanılgıları önleyebileceği düşünülmektedir (47,48,50).

III. MATERYAL ve METOD

1.MATERYAL

A. Kan serumları: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesine başvuran ve ilgili kliniklerde otoimmun hastalık tanısı alan 102 hasta ile hiçbir şikayeti olmayan sağlıklı 40 kişi (toplam 142 kişi) den sağlandı.

B.Cam Aletler

(a) Mesur (500-1000ml'lik)

(b) Deney tüpü (120x10 mm)

(c) Cam balon (1 lt)

(d) Beherglass (50 ml ve 2 lt'lik

(e) Erlenmayer (50 ml'lik)

(f) Steril petri plağı

C.Elektrikle çalışan cihazlar:

(a) Saf su cihazı ve toplama kabı

(b) 4000 rpm dijital santrifüj

(c) İnkubatör (37^{o}Cye ayarlı)

(d) Otomatik mikroplak yıkayıcısı (Accuwash-2,Tri-Continent Scientific Inc)

(e) Hafızalı otomatik mikroplak okuyucusu (Biotek model EL 309)

(f) Buzdolabı

(g) Derin dondurucu (-20 ^{o}C ye ayarlanabilir)

Ç.Kimyasal maddeler

(a)Test kiti

ANA için: (IMTEC İmmun diagnostic Gmbh Antinuclear antibodies)

ASO için: Diesse ASO Slide

CRP için: Diesse PCR Slide

RF için: Diesse RF Slide

(b) H_2SO_4

D. Diğer malzemeler:

(a) Mikropipet (Oxford) 0-10 mikrolitre

(b) Mikropipet (Oxford) 10-50 mikrolitre

(c) Mikropipet (Oxford) 50 -200 mikrolitre

(d) Hacim ayarlı multikanallı mikropipet

(e) Pipet uçları

i.Beyaz uç (Kat no :0920)

ii.Mavi uç (Kat no:0911)

iii.Büyük mavi uç (Kat no: 815)

(f) Tüp sporu

(g) Pipet sporu

(h) Cam kalemi

(ı) Kurutma kağıdı (40x40 cm)

(j) Rulo parafilm

(k) Alarmlı saat

2. METOD

1994 yılında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesinin çeşitli bölümlerine başvuran 102 değişik hastadan ve sağlıklı 40 kişiden steril şartlarda disposable plastik enjektörlerle yaklaşık 5cc venöz kan alındı. Oda ısısında pıhtılaştırıldıktan sonra, dekole edildi.Daha sonra santrifüj edilerek serumu ayrıldı. Elde edilen serumlar, iki steril tüpe alındıktan sonra test çalışılıncaya kadar -20 ^{o}C de derin dondurucuya konuldu.

Bu arada, düzenlenen anket formu hastalardan edinilen bilgilerle dolduruldu.Bu formla hastaların yaşları, başka hastalıklarının olup olmadığı, kullandığı ilaçlar gibi bilgiler tesbit edildi.

A. ANA testinin yapılışı

Reaktifler

(a) Antijen kaplı çukurlar (12x8 strip,96 testlik) ve iskeleti

(b) Standart antikor, Liyofilize(500 U/ml) (Bir şişe)

(c)Negatif kontrol serum, Liyofilize (Bir şişe)

(d) Pozitif kontrol serum ,liyofilize (Bir şişe)

(e)Konsantre yıkama tamponu(10x) 20 ml'lik 2 şişe

(f)Konsantre örnek tamponu (5x) 20 ml'lik 2 şişe

(g) Konjugat tamponu 20 ml'lik bir şişe

(h) Anti- human Ig (G/A/M),peroksidaz konjugat , bir şişe

(ı)Peroksidaz substrat solusyon (TMB) kullanıma hazır 15 ml'lik bir şişe

(j) Durdurucu solusyon 10 ml'lik bir şişe

Reaktiflerin hazırlanması

(a) Kit açılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.

(b) Yıkama tamponunun hazırlanması:1/10 oranında distile su ile sulandırıldı.

(c) Örnek tamponunun hazırlanması: 1/4 oranında distile su ile sulandırıldı.

(d) Standartların hazırlanması: Liyofilize standart 1ml örnek tamponu ile çözüldü.10-20 dakika çözünmenin olması için beklenildi.Sonra standart 1/2, 1/4, 1/8 ve 1/16 oranlarında örnek tamponu ile dilue edildi.Böylece sulandırılmadan önce 500 U/ml olan standarttan, 1/2 sulandırmayla 250 U/ml, 1/4 sulandırmayla 125 U/ml, 1/8 sulandırmayla 65.5 U/ml, 1/16 sulandırmayla 31.25 U/ml dilue standartlar elde edildi.

(e) Kontrol serumlarının hazırlanması: Liyofilize kontrol serumu 1 ml örnek tamponu ile çözüldü.

(f) Serumların hazırlanması: Serumlar oda ısısına getirildi.Dilue edilmiş örnek tamponu ile 1/200 oranında sulandırıldı. (10 µl serum ile 2 ml dilue tampon)

(g) Konjugatın hazırlanması: Konjugat 1/100 oranında dilue konjugat tamponu ile sulandırıldı.

Testin yapılışı

(a) 100 µl dilue serum ,standartlar ve kontrol serumları herbir mikro çukura pipetlendi.

(b) 1 saat oda ısısında inkube edildi.

(c) İnkubasyon periyodunun sonunda her bir çukur üçer defa 200 µl yıkama tamponu ile otomatik yıkama cihazında

yıkandı.Mikroçukurlarda yıkama solusyonu kalmayacak şekilde aspire edildi.Artan sıvı sellüloz kağıda silinerek uzaklaştırıldı.

(d) Her bir mikroçukura dilue konjugat tan 100 µl pipetlendi.

(e) Yine bir saat oda sıcaklığında inkube edildi.

(f) Konjugatın inkubasyonu bitince yukarıda bahsedildiği şekilde yine yıkanıp temizlendi.

(g) Her bir mikroçukura 150 µl substrat pipetlendi.

(h) Oda sıcaklığında ve karanlıkta 10 dakika inkube edildi.

(ı) Reaksiyonun durdurulması için her bir çukura 50 µl durdurucu solusyon eklendi.

(j) 30 dakika içerisinde her bir çukurun optik dansite değerleri (OD) otomatik mikroplak okuyucusunda 450 nanometrede okunarak kaydedildi.

Sonuçların değerlendirilmesi

Önceden konsantrasyonları belli olan standartların optik dansite değerleri yarı logaritmik bir kağıt üzerinde skalaya işaretlendi. Bu işaretlenen noktalardan bir doğru çizilerek standart eğri elde edildi. Sonra serum örneklerinin optik dansite karşılığı standart eğriden IU/ml olarak tesbit edildi. 40 U/ml nin üzeri pozitif olarak kabul edildi.

Örneğin; optik dansite değeri 0.150 olan U/ml olan bir serumun standart eğrideki karşılığı 105 U/ml olarak bulundu.

B. ASO,CRP ve RF'nin yapılışı

ASO, CRP ve RF, kit prosedürüne göre rutin yöntemlerle (lateks aglutinasyon) çalışıldı.

Çalışma sonunda elde edilen bulgular, istatistiki olarak değerlendirildi. Oranlar arası farkın önemli olup olmadığını tesbit etmek için X^2 testi uygulandı (51). IBM uyumlu bilgisayarda Epi Info 5 programı kullanılarak sonuçlar elde edildi.

IV. BULGULAR

Hasta grubunda yer alan 102 kişinin hastalıklarına göre ve cinsiyetlerine göre dağılımı Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4: Hastalık Gruplarında Yer Alan Olguların Cinsiyetlere Göre Dağılımı

HASTALIK	KADIN		ERKEK		TOPLAM	
	Sayı	% *	Sayı	%	Sayı	%
SLE	12	70.6	5	29.4	17	100.0
RA	8	72.7	3	27.3	11	100.0
JRA	2	100.0	-	-	2	100.0
SKLERODERMA	2	100.0	-	-	2	100.0
KOLLAGENÖZ ÖN TANILI	31	70.5	13	29.5	44	100.0
OTOİMMÜN KARACİĞER HASTALIKLAR	2	40.0	3	60.0	5	100.0
ATOPİK DERMATİTLER	9	50.0	9	50.0	18	100.0
DİĞER OTOİMMÜN HASTALIKLAR	2	17.6	1	33.3	3	100.0
TOPLAM	68	66.7	34	33.3	102	100.0

*Yüzdeler satır yüzdesidir.

Tablo 5 de ise O.İ.H. olanların yaş gruplarına göre dağılımı ve bunlardaki ANA pozitifliğinin sayı ve yüzdeleri görülmektedir.

Tablo 5 :Hastalık Grubunda ANA Pozitifliğinin Yaş ve Cinsiyetlere Göre Dağılımı

YAŞ GRUBU	KADIN				ERKEK				TOPLAM			
			ANA +				ANA +				ANA +	
	Sayı	% *	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-12	13	59.1	4	18.2	9	40.9	3	13.6	22	100.0	7	31.8
13-20	13	72.2	4	22.2	5	27.8	2	11.1	18	100.0	6	33.3
21-30	10	76.9	5	38.5	3	23.1	-	-	13	100.0	5	38.5
31-40	16	80.0	6	30.0	4	20.0	-	-	20	100.0	6	30.0
41-50	6	50.0	2	16.7	6	50.0	1	8.3	12	100.0	3	25.0
51yaş ve üzeri	10	58.8	3	17.6	7	41.2	-	-	17	100.0	3	17.6
TOPLAM	68	66.7	24	23.5	34	33.3	6	5.9	102	100.0	30	29.4

*Yüzdeler satır yüzdesidir.

Kontrol grubundaki olguların ve bu olgularda ANA pozitifliğinin dağılımı Tablo 6 da gösterilmiştir.

Tablo 6: Sağlıklı (Kontrol) Grupta ANA Pozitifliğinin Yaş ve Cinsiyetlere Göre Dağılımı

YAŞ GRUBU	KADIN				ERKEK				TOPLAM			
			ANA +				ANA +				ANA +	
	Sayı	%*	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
12 yaş ve altı	5	45.5	-	-	6	54.5	-	-	11	100.0	-	-
13-50	13	56.5	1	4.3	10	43.5	1	4.3	23	100.0	2	8.6
51 ve +	3	50.0	1	16.7	3	50.0	-	-	6	100.0	1	16.7
TOPLAM	21	52.5	2	5	19	47.5	1	2.5	40	100.0	3	7.5

*Yüzdeler satır yüzdesidir.

Otoimmün hastalıklarda ANA pozitifliğinin cinsiyetlere göre dağılımı ise Tablo 7'de görülmektedir.

Tablo 7: Otoimmün Hastalıklarda ANA Pozitifliğinin Cinsiyetlere Göre Dağılımı

HASTALIK	KADIN ANA +		ERKEK ANA +		TOPLAM ANA +	
	Sayı	% *	Sayı	%	Sayı	%
SLE (n:17)	6	35.3	2	11.8	8	47.1
RA (n:11)	1	9.1	0	-	1	9.1
JRA (n:2)	-	-	-	-	-	-
SKLERODERMA (n:2)	2	100.0	-	-	2	100.0
KOLLAGENÖZ ön tanılı (n:44)	8	18.2	1	2.3	9	20.5
O.İ. KARACİĞER H.(n:5)	1	20.0	1	20.0	2	40.0
ATOPİK DERMATİT (n:18)	5	27.8	2	11.1	7	38.9
DİĞER O.İ H. (n:3)	1	33.3	-	-	1	33.3
TOPLAM (n:102)	24	23.5	6	5.9	30	29.4

*Yüzdeler satır yüzdesidir.

Aşağıdaki Tablo'da hasta grubunda ASO pozitifliğinin cinsiyetlere göre dağılımı görülmektedir.

Tablo 8: Çeşitli Otoimmün Hastalıklarında ASO Pozitifliğinin Cinsiyetlere Göre Dağılımı

HASTALIK	KADIN ASO +		ERKEK ASO +		TOPLAM ASO +	
	Sayı	% *	Sayı	%	Sayı	%
SLE (n:17)	2	11.8	-	-	2	11.8
RA (n:11)	1	9.1	1	9.1	2	18.2
JRA (n:2)	-	-	-	-	-	-
SKLERODERMA (n:2)	1	50.0	-	-	1	50.0
KOLLAGENÖZ ön tanılı (n:44)	3	6.8	2	4.5	5	11.3
O.İ. KARACİĞER H.(n:5)	2	40.0	2	40.0	4	80.0
ATOPİK DERMATİT (n:18)	3	16.7	4	22.2	7	38.9
DİĞER O.İ H. (n:3)	-	-	-	-	-	-
TOPLAM (n:102)	12	11.8	9	8.8	21	20.6

*Yüzdeler satır yüzdesidir.

Hasta grubundaki olgularda CRP pozitifliğinin dağılımı aşağıda verilmiştir.

Tablo 9: Çeşitli Otoimmün Hastalıklarında CRP Pozitifliğinin Cinsiyetlere Göre Dağılımı

HASTALIK	KADIN CRP +		ERKEK CRP +		TOPLAM CRP +	
	Sayı	%*	Sayı	%	Sayı	%
SLE (n:17)	2	11.8	2	11.8	4	23.6
RA (n:11)	3	27.3	1	9.1	4	36.4
JRA (n:2)	-	-	-	-	-	-
SKLERODERMA (n:2)	-	-	-	-	-	-
KOLLAGENÖZ ön tanılı (n:44)	2	4.55	2	4.55	4	9.1
O.İ. KARACİĞER H.(n:5)	2	40.0	2	40.0	4	80.0
ATOPİK DERMATİT (n:18)	1	5.6	2	11.1	3	16.7
DİĞER O.İ H. (n:3)	1	33.3	-	-	1	33.3
TOPLAM (n:102)	11	10.8	7	6.8	18	17.6

*Yüzdeler satır yüzdesidir.

Hasta grubunda RF pozitifliği ise Tablo 10'da görülmektedir.

Tablo 10: Otoimmün Hastalıklarda RF Pozitifliğinin Cinsiyetlere Göre Dağılımı.

HASTALIK	KADIN RF +		ERKEK RF +		TOPLAM RF +	
	Sayı	% *	Sayı	%	Sayı	%
	2	11.8	1	5.9	3	17.7
RA (n:11)	5	45.4	2	18.2	7	63.6
JRA (n:2)	-	-	-	-	-	-
SKLERODERMA (n:2)	-	-	-	-	-	-
KOLLAGENÖZ ön tanılı (n:44)	4	9.1	1	2.3	5	11.4
O.İ. KARACİĞER H.(n:5)	1	20.0	-	-	-	20.0
ATOPİK DERMATİT (n:18)	1	5.55	1	5.55	2	11.1
DİĞER O.İ H. (n:3)	-	-	-	-	-	-
TOPLAM (n:102)	13	12.7	5	4.9	18	17.6

*Yüzdeler satır yüzdesidir.

Kontrol grubunda ASO, CRP ve RF pozitifliğinin birlikte değerlendirilmesini Tablo 11 vermektedir.

Tablo 11: Kontrol Grubunda ASO, CRP ve RF Pozitifliğinin Cinsiyetlere Göre Dağılımı

PARAMETRE	KADIN				ERKEK				TOPLAM			
	(+)		(-)		(+)		(-)		(+)		(-)	
	Sayı	% *	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
ASO	3	7.5	18	45.0	2	5.0	17	42.5	5	12.5	35	87.5
CRP	4	10.0	17	42.5	3	7.5	16	40.0	7	17.5	33	82.5
RF	1	2.5	20	50.0	1	2.5	18	45.0	2	5.0	38	95.0

*Yüzdeler satır yüzdesidir.

Serumlarında ANA saptanan hastalarda ASO, CRP ve RF'ün cinsiyetlere göre görülme sıklığı Tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12: ANA pozitif hastalarda ASO, CRP ve RF pozitifliğinin cinsiyetlere göre dağılımı

PARAMETRE	KADIN				ERKEK				TOPLAM			
	(+)		(-)		(+)		(-)		(+)		(-)	
	Sayı	%*	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
ASO	6	20.0	18	60.0	4	13.3	2	6.7	10	33.3	20	66.7
CRP	8	26.7	16	53.3	6	20.0	-	-	14	46.7	16	53.3
RF	2	6.7	22	73.3	2	6.7	4	13.3	4	13.4	26	86.6

*Yüzdeler satır yüzdesidir.

Aşağıdaki Tablo'da ise hasta gruplarında ANA pozitifliğinin ASO, CRP ve RF ile ilişkisi aktarılmıştır.

Tablo 13: ANA pozitif bulunanlarda ASO, CRP ve RF pozitifliğinin hastalıklara göre dağılımı

HASTALIK	ASO +		CRP +		RF +	
	Sayı	%*	Sayı	%	Sayı	%
SLE (n:8)	-	-	4	50.0	2	25.0
RA (n:1)	-	-	-	-	1	100.0
SKLERODERMA (n:2)	1	50.0	-	-	-	-
KOLLAGENÖZ ön tanılı (n:9)	3	33.3	6	66.7	-	-
O.İ. KARACİĞER H.(n:2)	1	50.0	1	50.0	1	50.0
ATOPİK DERMATİT (n:7)	5	71.4	2	28.6	-	-
DİĞER O.İ H. (n:1)	-	-	1	100.0	-	-

*Yüzdeler satır yüzdesir.

ANA pozitif hastalarda diğer parametrelerin tek başlarına ve birlikte ANA ile ilişkileri Tablo 14' de görülmektedir.

Tablo 14: ANA pozitif hastalarda ASO , CRP ve RF 'nin pozitifliklerinin çeşitli kombinasyonlarla sayı ve yüzdeleri

Pozitif parametreler	Sayı	%
Sadece ANA	12	40.0
ANA + ASO	5	16.7
ANA + CRP	5	16.7
ANA + RF	1	3.3
ANA + ASO + CRP	4	13.3
ANA + ASO + RF	-	-
ANA + CRP + RF	2	6.7
ANA. + ASO + CRP + RF	1	3.3
Toplam	30	100

*Yüzdeler kolon yüzdesidir.

Tablo 15'de ise ANA pozitif hastaların yaş ve cinsiyetleri ile ASO ,CRP ve RF leri topluca görülmektedir.

Tablo 15: ASO ,CRP ve RF'ün ANA pozitif olgularda hastalara göre dağılımı

No	Adı ve Soyadı	Cinsiyet	Yaş	Tanı / Ön tanı	ASO	CRP	RF
1.	N.Ü	E	43	SLE	-	+	-
2.	Ö.K	E	20	SLE	-	+	+
3.	K.G.	K	21	SLE	-	+	+
4.	B.İ.	K	20	SLE	-	+	-
5.	L.I.	K	36	SLE	-	-	-
6.	G.Y.	K	32	SLE	-	-	-
7.	J.U.	K	25	SLE	-	-	-
8.	H.G.	K	56	SLE	-	-	-
9.	H.A.	K	63	RA	-	-	+
10.	N.S.	K	45	Skleroderma	+	-	-
11.	T.S.	K	39	Skleroderma	-	-	-
12.	S.O.	K	33	Kollajenöz	-	-	-
13.	G.T.	K	23	Kollajenöz	-	+	-
14.	Z.A.	K	32	Kollajenöz	+	-	-
15.	K.U.	K	53	Kollajenöz	-	+	-
16.	P.E.	K	6	Kollajenöz	+	+	-
17.	S.Y.	K	68	Kollajenöz	-	+	-
18.	E.A.	K	33	Kollajenöz	-	-	-
19.	A.S.	K		Kollajenöz	-	+	-
20.	Ö.B.	E	8	Kollajenöz	+	+	-
21.	F.A.	E	3	O.İ.K.H.	+	+	+
22.	C.G.	K	26	O.İ.K.H.	-	-	-
23.	M.C.	K	4	A.Dermatit	-	-	-
24.	N.D.	K	14	A.Dermatit	+	-	-
25.	S.G.	K	18	A.Dermatit	+	-	-
26.	R.B.	K	2	A.Dermatit	-	-	-
27.	K.A.	K	11	A.Dermatit	+	-	-
28.	M.C.	E	17	A.Dermatit	+	+	-
29.	H.A.	E	7	A.Dermatit	+	+	-
30.	F.B.	K	18	Diğer O.İ.H.	-	+	-

V.TARTIŞMA

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesinin değişik kliniklerinde çeşitli otoimmün hastalık tanısı almış olan; 68 (% 66.7)'i kadın, 34 (% 33.3)'ü erkek olmak üzere toplam 102 ve kendilerinde herhangi bir hastalık tespit edilemeyip sağlıklı olduğuna karar verilen 21 (% 52.5)'i kadın ve 19 (% 47.5)'u erkek olmak üzere toplam 40 olguda ANA, ASO, CRP ve RF araştırıldı.

Çeşitli otoimmün hastalık gruplarında yer alan olguların cinsiyetlere göre dağılımı Tablo 4'de verilmiştir. Tablo'da da görüldüğü gibi SLE' lu 17 olgunun 12 sini (% 70.6), RA'li 11 olgunun 5' ini (%72.7) JRA'li 2 ve sklerodermalı 2 olgunun tamamını (% 100.0) kollagenöz ön tanılı 44 olgunun 31' ini (% 70.5), otoimmün karaciğer hastalığı olan 5 olgunun 2 sini(% 40.0), atopik dermatitli 18 olgunun 9' unu (% 50.0) ve diğer otoimmün hastalığı olan 3 vakanın da 2 sini (% 66.7) kadınlar oluşturmaktaydı.. Söz konusu tüm hastalıklarda kadınlar yüzde 66.7 oranıyla erkeklere göre 2 kat daha fazla yer almaktaydı. O.İ.H.' ların görülme sıklığında, kadınlarla erkeklere arasında ortaya çıkan bu fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (X^2:11.3 , P<.0.05)

Klasik bilgilerimiz otoimmün hastalıkların kadınlarda erkeklere oranla daha sık görüldüğü doğrultusundadır (2). Erzurum ve yöresinde de otoimmün hastalık tanısı konulmuş olguların büyük bir kısmının kadınlardan oluşması bu klasik literatür bilgileri yönündeydi.

İncelemeye alınan 102 hastanın çeşitli hastalık gruplarında ve cinsiyetlere göre ANA pozitifliğinin dağılımı Tablo 7'de verilmiştir. ANA pozitifliği SLE'lu kadınlarda yüzde 35.3, erkeklerde yüzde 11.8; RA'li kadınlarda yüzde 9.1, sklerodermalı kadınlarda yüzde 100.0, kollagenöz ön tanılı kadınlarda yüzde 18.2,

erkeklerde yüzde 2.3; karaciğer otoimmün hastalığı olan kadınlarda yüzde 20.0, erkeklerde yüzde 20.0; atopik dermatitli kadınlarda yüzde 27.8, erkeklerde yüzde 11.1; bu hastalıklar dışında kalan diğer otoimmün hastalığı olan kadınlarda yüzde 33.3, olarak bulunmuştur. JRA'li 2 'si de kadın olan olgularda ANA saptanamamıştır.RA'li , sklerodermalı ve diğer otoimmun hastalığı olan erkeklerde ANA gösterilememiştir. Tablo'dan da görüleceği gibi sıraladığımız bu hastalıklar içerisinde olgu sayısının 10'dan fazla olduğu hastalık gruplarında ANA pozitifliği en fazla SLE'lu olgularda (% 47.1) görülmüş bunu yüzde 38.9 oranıyla atopik dermatitliler, yüzde 20.5 oranıyla kollagenöz ön tanılı olgular ve yüzde 9.1 oranıyla RA'liler izlemiştir. Olgu sayısının 10'dan az olduğu hastalıklarda ise; 2 sklerodermalı olgunun yüzde 100.0, otoimmün karaciğer hastalığı olan 5 olgunun yüzde 40.0 ve diğer otoimmün hastalığı olan 3 olgunun yüzde 33.3'ünde ANA saptanmıştır. Hastalık gruplarının tümü dikkate alındığında ANA 24 (% 23.5) kadın ve 6 (% 5.9) erkek olmak üzere toplam 30 olguda yüzde 29.4 oranında pozitif olarak bulunmuştur.

Çeşitli otoimmün hastalıklarda ve organizmanın fiziksel nedenlerle hasar görmesi durumlarında ANA'lar oluşmaktadır. Pek çok hastalıkta ANA araştırılmıştır. Çeşitli bağ dokusu hastalıklarında ANA prevalansı; aktif SLE' da yüzde 98.0-100.0, remisyonal SLE'de yüzde 90.0, diskoid lupus eritamotozda yüzde 40.0, ilerleyici sistemik sklerozda yüzde 70.0, Sjögren sendromunda yüzde 60.0, mikst bağ dokusu hastalığında yüzde 100.0, Raynoud hastalığında yüzde 63.0, RA'de yüzde 45.0, JRA'de yüzde 23.0, polimiyozitte yüzde 32.0, poliarteritte yüzde 17.0 olarak bildirilmektedir (52).

ANA'lara bağ dokusu hastalıkları dışında kronik akciğer fibrozu, sıtma, tüberküloz, cüzzam gibi kronik infeksiyonlarda ve kronik hepatit, kronik ülseratif

stomatit olgularında, polimorfik ışık erüpsiyonunda ve diğer pek çok rahatsızlıklarda da rastlanır (36-39 ,41, 53,54).

SLE'de aranabilecek en spesifik antikorun, anti-histon antikorun olguların yüzde 70.0'ında pozitif olduğu bildirilmektedir (30,31). Lupus eritematoz (LE); akut LE, subakut kütanöz LE, kronik diskoid LE ve lupus profundus diye sınıflandırılan deriyi etkileyen hastalıktır. LE' un tüm tiplerinin en iyi tanımlanan özelliği fotosensitivite olmasına rağmen en önemli özelliklerinden birisi de sirkülan anti-Ro antikorlarını hastaların çoğunun taşımasıdır.

Prevalansının ortalama yüzde 1.5 olduğu, kadınlarda 2-3 kat daha fazla görüldüğü ve yaş arttıkça bu hastalığa yakalanma oranının arttığı, hastaların yüzde 80.0'nın 35-50 yaşları arasında yoğunlaştığı RA'te ANA pozitifliğinin yüzde 10-15 dolaylarında olduğu bildirilmektedir (30). Hassfeld W ve ark (55); 95 RA'li hastanın serumunda. immunoblot analiziyle yüzde 36.0 oranında ANA (anti-RA33) tespit ettiklerini, 170 kişilik kontrol grubunda ise RA33 antijenine karşı antikor tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Howard AD ve ark (56); nefrotik sendromlu yetişkin hastaların yüzde 10.0' unda; bunlardan lupus nefritli hastaların ise hemen hepsinde ANA pozitif bulmuşlardır. Juby A ve ark (57); Felty sendromu olan 32 ve RA'li 62 hastanın serumunu ANA ve ANCA prevalansı açısından değerlendirmişler, RA'de ANA mevcudiyetini (% 37.0) Felty sendromuna göre (% 69.0) daha az bulmuşlardır. Calzavara ve ark (58); Hep-2 cell'i substrat olarak kullanarak psöriatik artrit (PA) 'li 48 olguda ANA'u yüzde 16.6 oranında pozitif olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada, ANA pozitifliği simetrik poliartritte yüzde 37.5, mutilant artritte yüzde 25.0, asimetrik oligoartrit ve spondartritte yüzde 11.8 olarak klasik PA'de ise negatif olarak bulunduğu rapor edilmiştir.

JRA'de, ANA'lara en yüksek değer olarak, oligoartritli ve üretritli çocuklarda yüzde 65.0-85.0 oranları arasında rastlandığı ve ANA pozitifliğinin kadınlarda erkeklere oranla daha sık olduğu ifade edilmektedir (30). Malleson ve ark (59); 1989 yılında yaptıkları çalışmalarında ANA'ların JRA'li çocukların çoğunun serumunda bulunduğunu ancak, bu antikorların spesifitesinin bilinmediğini belirtmektedirler. İndirekt imünofloresans tekniğiyle test ettikleri 86 JRA serumunun 70 (% 81.4)'inde ANA saptamışlardır. Bir olgu bildiriminde ise, JRA'li bir yetişkin kadında ANA'un yüksek titrede pozitif bulunduğu rapor edilmiştir.

Sistemik skleroz, vücudun çeşitli organ sistemlerinde progressiv, fibroz ve prominant vasküler lezyonlarla özelliklenen, etiyolojisi bilinmeyen bir kronik hastalıktır. Konnektif doku hastalıklarından biri olan sistemik sklerozun çeşitli anormal seroloji ve hücresel immün reaksiyonlarla ilişkili olduğu bilinmektedir. Progressiv sistemik sklerozun 30-50 yaşlarında ortaya çıktığı, kadınlarda erkeklere oranla 3 kat daha sık görüldüğü ve olguların yüzde 90.0'ında ANA'un pozitif olduğu bildirilmektedir (30). Maddison ve ark (60); 63 sistemik sklerozlu hastanın 60 (% 95.2)'ında ANA pozitifliği elde etmişlerdir.

Konikoff F ve ark (61); otoimmün etiyolojiye sahip primer bilier siroz ve kronik aktif hepatit gibi kronik karaciğer hastalıklarında sirkülan otoantikorların sıklıkla görüldüğünü rapor etmişlerdir. Primer bilier sirozda yüzde 25.0; otoimmün kronik aktif yüzde 80.0 oranlarında ANA pozitifliğinin elde edildiğini bildiren yayınlar mevcuttur (32,33).

Taniguchi Y ve ark (36); FITC ile konjuge edilmiş polivalan immünoglobulinlerle test ettikleri 47 atopik dermatit (AD)'li hastanın yüzde 34.0'ünde, FITC ile konjuge edilmiş anti-IgG ile test ettikleri 57 AD'li hastanın yüzde

26.3'ünde ANA'yı pozitif bulmuşlardır. Bizim sonuçlarımızın yüksek oluşu (% 38.9) atopik dermatit'in otoimmun bir etiyolojiye bağlanabileceği konusundaki son zamanlardaki çalışmaları teyid etmektedir.

ANA testi ulusal ve de uluslararası düzeyde standardize edilmediği için, her çalışma grubu pozitif test sonuçlarını gösteren kriterleri kendince belirlemiştir. Ancak yine de, çeşitli otoimmün hastalık gruplarında bulduğumuz ANA prevalansının yukarıda sıraladığımız literatür bulgularına paralel olduğu görülmüştür.

ANA pozitifliğinin araştırıldığı sağlıklı kişilerde (kontrol grubunda) ise; 2 (% 5.0) kadın ve 1 (% 2.5) erkek olmak üzere toplam 3 (% 7.5) olguda pozitiflik saptanmış 37 (% 92.5) olgu ANA yönünden negatif olarak bulunmuştur (Tablo 6)

ANA pozitifliğinin; hasta grubunda kontrol grubuna oranla istatiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu (X^2:4.28 , P<.0.05) görülmüştür.

Ahrabi SS ve ark (62); sağlıklı kişilerde otoantikor sıklığını araştırdıkları çalışmalarında, ANA'ları yüzde 7.3 oranında ve sadece yaşlılarda saptamışlar ve otoantikorların düşük titrede pozitif olmasının tanı değerini azalttığını, özellikle yaşlı kişilerde klinik durumun değerlendirilmesi ve yaş faktörünün dikkate alınması gereğini vurgulamışlardır. Bu çalışmada elde edilen sonucun, bizim elde ettiğimiz sonuçlarla önemli derecede benzeş olduğu görülmüştür.

Tablo 5'de hasta grubunda yer alan olgularda ANA pozitifliğinin yaş ve cinsiyetlere göre dağılımı görülmektedir.12 yaş ve altındaki çocuklarda 4 (% 18.2) kız 3 (% 13.6) erkek olmak üzere toplam 7 (% 31.8) ; 13-20 yaşlarındaki 4 (% 22.2) kadın, 2 (% 11.1) erkek olmak üzere toplam 6 (% 33.3); 21-30 yaşlarındaki 4 (% 22.2) kadın, 2 (% 11.1) erkek olmak üzere toplam 6 (% 33.3); 31-40

yaşlarındaki 6 (% 30.0) kadında; 41-50 yaşlarındaki 2 (% 16.7) kadın, 1 (% 8.3) erkek olmak üzere toplam 3 (% 25.0); 51 ve daha yaşlılarda 3 (% 17.6) kadında ANA'nın pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Tablo dikkatle incelendiğinde, 13 yaşın altındaki olgularda başka bir deyişle çocuk yaşlarda ANA pozitifliğinin cinsiyetler arasında önemli bir ayrılık göstermemesine rağmen (X^2:0.11, P>0.05), daha büyük yaşlarda kadınların lehine önemli ölçüde artmış olması göze çarpan en önemli sonuç olarak karşımızda durmaktadır. Öyleki, ANA pozitif bulunan 13-50 yaşlarındaki toplam 20 olgunun 17 (% 85.0)'si kadın; buna karşın sadece 3 (% 15.0)'ü erkek hastalardan oluşmaktaydı. Bu sonuç, istatistik açıdan anlamlı bulunmuştur (X^2:3.86, P<0.05). Bu durum ister istemez kadınların fizyonomisini akla getirmektedir. Sağlıklı her kadında erinlikten menopoza kadar süren bir fizyolojik olgu olan periyodik adet kanamalarının bir çeşit doku hasarına yol açtığı söylenebilir. Bu hasarlar neticesinde otoantikorların ve -her ne kadar doku ya da türe spesifik olmadığı düşünülse de lökosit, mukoza ve eritrositlerden izole edilen nukleusların ANA özelliğine sahip olan bazı örnekler ile özgül reaksiyona girdiğini gösteren çalışmaların varlığı nedeniyle- ANA'ların da ortaya çıkması hiç de beklenmedik bir durum değildir (8). Ancak, kontrol grubunda adet çağında olan kadınlarda ANA pozitifliğinin hasta grubuna göre düşük bulunması (Tablo 6), bizi yukarıdaki açıklamadan uzaklaştırmakta, saptanan ANA'ların söz konusu hastalıklar nedeniyle ortaya çıktığını düşündürmektedir.

Burada belirtilmesi gereken önemli bir diğer husus da; gebelik sırasında kadınlarda ANA titresinin artmasıdır. Nitekim, Xu L ve ark (63); 61 sağlıklı gebe olguda yüzde 8.2 ve 61 sağlıklı gebe olmayan olguda daha düşük (% 5.6) oranda pozitif ANA titreleri elde etmişlerdir. Aynı çalışmada, tanımlanmış ve tanımlanamamış fetal kaybı olan kadınlarda, ANA pozitfliğinin (% 40.0 ve %

53.3) çok yüksek bir prevalansta olduğu iddia edilmiştir. Yurdumuzda yapılan bir çalışmada Erbaş ve ark (64): 114 sağlıklı gebede ANA prevalansını 1/40 titrede yüzde 37.7, gebe olmayan sağlıklı kadınlarda ise yüzde 29.7 oranlarında pozitif bulmuşlardır. Çalışmamız kapsamına alınan kadınların hiç biri gebe olmadığı için bu tür bir tartışma olanağı ortadan kalkmaktadır.

Literatürde normal sağlıklı çocuk populasyonda ANA' nın yüzde 2-9 pozitif bulunduğu belirtilmektedir. Cabral ve ark. (43) 108 muskuloskeletal şikayetleri olan çocukta yaptıkları çalışmada ANA'yı yüzde 22.2 pozitif bulmuşlardır. Fakat, bunun çocuklarda otoimmun bir hastalığı göstermediğini , hastaların hiçbirinde 13-138 aylık takip boyunca otoimmun bir hastalık gelişmediğini tesbit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda, 13 yaşın altındaki 22 çocuktan 7'sinde (% 31.8) ANA pozitif olarak bulunmuştur.Bu sonuç, çalışmaya aldığımız çocukların muskuloskeletal şikayetlerden öte, otoimmun hastalık düşündüren bir kliniğe sahip olmasına bağlı olabilir. Ancak, biz çalışmamıza aldığımız çocukların sonraki takiplerini yapamadığımız için, ANA pozitifliğinin gerçek bir otoimmun hastalığa işaret edip etmediği konusunda bir sonuca varamamaktayız.

Buraya kadar toplu bir değerlendirme yapacak olursak, gerek otoimmün hastalıklarda gerekse sağlıklı bireylerde elde edilen ANA prevalansının çeşitli çalışmalarda elde edilen sonuçlarla önemli ölçüde uyum içinde olduğu ortadadır. Çalışmaların pek çoğunda ANA prevalansının ileri yaşlarda arttığı, kadınlarda erkeklere oranla daha yüksek olduğu vurgulanmıştır (62). Çalışmamızda da bu bulguların doğruluğu bir kez daha kanıtlanmış olmaktadır.

Hasta gruplarında cinsiyetlere göre ASO pozitifliğinin dağılımı Tablo 8'de verilmiştir. ASO pozitifliği, SLE'lu kadınlarda yüzde 11.8, erkeklerde yüzde 0.0; RA'li kadınlarda yüzde 9.1, erkeklerde yüzde 9.1; sklerodermalı kadınlarda yüzde

50.0, yüzde 0.0; kollagenöz ön tanılı kadınlarda yüzde 6.8, erkeklerde yüzde 4.5; karaciğer otoimmün hastalığı olan kadınlarda yüzde 40.0, erkeklerde yüzde 40.0; atopik dermatitli kadınlarda yüzde 16.7, yüzde 22.2 oranında bulunmuş olup, bu hastalıklar dışında kalan diğer otoimmün hastalığı olanlarda ve JRA'lilerde ASO titre yüksekliği saptanamamıştır. Tablo'dan da görüleceği gibi sıraladığımız bu hastalıklar içerisinde olgu sayısının 10' dan fazla olduğu hastalık gruplarında ASO pozitifliği en fazla atopik dermatitliler de yüzde 38.9 oranıyla görülmüş bunu yüzde 18.2 oranıyla RA'liler, yüzde 11.8 oranıyla SLE'lu olgular yüzde 11.3 oranıyla kollagenöz ön tanılı olgular izlemiştir. Olgu sayısının 10'dan az olduğu hastalıklarda ise: otoimmün karaciğer hastalığı olan olguların yüzde 80.0 sklerodermalı olguların yüzde 50.0'sinde ASO saptanmıştır. Hastalık gruplarının tümü dikkate alındığında ASO 12 (% 11.8) kadın ve 9 (% 8.8) erkek olmak üzere toplam 21 olguda yüzde 20.6 oranında pozitif olduğu görülmüştür.

Aynı grupta cinsiyetlere göre CRP pozitifliğinin dağılımı ise Tablo 9'da görülmektedir. CRP, SLE'lu kadınlarda yüzde 11.8, erkeklerde yüzde 11.8 ; RA'li kadınlarda yüzde 27.3, erkeklerde yüzde 9.1; kollagenöz ön tanılı kadınlarda yüzde 4.55, erkeklerde yüzde 4.55; karaciğer otoimmün hastalığı olan kadınlarda yüzde 40.0, erkeklerde yüzde 40.0; atopik dermatitli kadınlarda yüzde 5.6, erkeklerde yüzde 11.1; diğer otoimmün hastalığı olanlar kadınlarda yüzde 33.3, erkeklerde yüzde 0.0 oranlarında pozitif bulunmuşken, JRA'lilerde ve sklerodermalı olgularda CRP saptanamamıştır. Tablo'dan da görüleceği gibi sıraladığımız bu hastalıklar içerisinde olgu sayısının 10'dan fazla olduğu hastalık gruplarında CRP pozitifliği en fazla RA'li lerde yüzde 36.4 oranıyla görülmüş, bunu yüzde 23.6 oranıyla SLE' li olgular , yüzde 16.7 oranıyla atopik dermatitliler, yüzde 9.1 oranıyla kollagenöz ön tanılı olgular izlemiştir. Olgu sayısının 10'dan az olduğu hastalıklarda ise; otoimmün karaciğer hastalığı olan olguların yüzde 80.0'inde pozitif bulunan CRP

JRA'li ve sklerodermalı olgularda saptanamamıştır. Hastalık gruplarının tümü dikkate alındığında CRP 11 (% 10.8) kadın ve 9 (% 8.8) erkek olmak üzere toplam 20 (% 19.6) olguda pozitif bulunmuştur.

RF pozitifliğinin dağılımı ise Tablo 10'da görülmektedir. RF, SLE'lu kadınlarda yüzde 11.8, erkeklerde yüzde 5.9; RA'li kadınlarda yüzde 45.4, erkeklerde yüzde 18.2; kollagenöz ön tanılı kadınlarda yüzde 9.1, erkeklerde yüzde 2.3; oto immun karaciğer hastalığında kadınlarda yüzde 20.0, erkeklerde yüzde 0.0 atopik dermatitli kadınlarda yüzde 5.55, erkeklerde yüzde 5.55 oranlarında pozitif bulunmuşken, JRA'lilerde ve sklerodermalılarda ve diğer otoimmün hastalığı olan olgularda RF saptanamamıştır. Tablo'dan da görüleceği gibi sıraladığımız bu hastalıklar içerisinde olgu sayısı 10' dan fazla olan hasta gruplarında RF pozitifliği en fazla RA'li lerde yüzde 63.6 oranıyla görülmüş, bunu yüzde 17.6 oranıyla SLE'lular, yüzde 11.4 oranıyla kollagenöz ön tanılı olgular yüzde 11.1 oranıyla atopik dermatitliler izlemiştir. Olgu sayısı 10 'dan az olan OİKH ise 1(% 20) olguda pozitif olarak belirlenmiştir. Hastalık gruplarının tümü dikkate alındığında RF 13 (% 12.7) kadın ve 5 (% 4.9) erkek olmak üzere toplam 18 (% 17.6) olguda pozitif bulunmuştur.

Literatür bilgilerine göre; SLE'da RF yüzde 20 pozitiftir. RA'de ASO normal, CRP daha çok akut fazda pozitifken RF yüzde 80.0-90.0 pozitiftir. RA'de elde edilen yüksek RF pozitifliğinin spesifik olmadığı da belirtilmektedir. Eklem dışı tutulumlarda ise RF genellikle pozitiftir. JRA'de RF pozitifliği genellikle seyrekken monoartiküler ve oligoartiküler tip 1'de RF negatiftir. JRA'de ASO vakaların yüzde 30.0'unda pozitiftir. CRP ise sistemik başlangıçlı olgularda aktif dönemlerde oldukça yüksektir, bu olguların yarısında ASO yüksek olarak bulunmaktadır. Çeşitli bağ dokusu hastalıklarında RF prevalansının SLE'de yüzde 18.0, RA'de yüzde 75.0, JRA'de yüzde 10.0, sklerozda yüzde 20.0, miks bağ

dokusu hastalığında yüzde 45.0 polimiyozit ve poliarteris nodozada yüzde 5.0 den az olarak bildirilmektedir. RF' nin genellikle bulunmadığı romatizmal hastalıklar ise; osteoartrit, reiter sendromu, ankilozan spondilit, psöriyatik artrit ve septik artrit olarak rapor edilmiştir (52). Ancak, bildirilen bu oranlarla tam bir uyum içinde olmayan değişik rakamlar da bildirilmiştir. Örneğin başka bir kaynakta RF sıklığı SLE'de yüzde 20.0-40.0, sklerozda yüzde 75.0-95.0, miks bağ dokusu hastalığında yüzde 5.0-25.0 olarak verilmektedir (31).

Şimdi, otoimmun hastalıklarda ANA pozitifliğinin, ASO, CRP ve RF ile ilişkisini irdeleyelim. Bu ilişkiyi Tablo 12 'de görmek mümkündür. ANA pozitif bulunan 24 kadının 6'sında ASO, 8'inde CRP ve 2'sinde RF; ANA pozitif bulunan 6 erkeğin 4'ünde ASO, 6'sında CRP ve 2'sinde de RF pozitif bulunmuştur. ANA pozitif bulunan 30 olgu içinde kadınlarda; ASO yüzde 20.0, CRP yüzde 26.7, RF yüzde 6.7 oranlarında, erkeklerde; ASO yüzde 13.3, CRP yüzde 20.0 ve RF yüzde 6.7 oranlarında saptanmıştır.

Buna göre ANA pozitif tüm olgular içerisinde CRP yüzde 46.7 oranıyla en sık tespit edilen parametre olmuş bunu yüzde 33.3 oranıyla ASO izlemiş, yüzde 13.4 oranıyla RF en son sırada yer almıştır. CRP ve ASO pozitifliği, hasta grubunda ANA pozitif olgularda,kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (CRP için X^2:5.63, $P< 0.05$; ASO için X^2:3.27 , $P< 0.1$)Buna karşın, RF pozitifliği anlamlı bulunamamıştır (X^2: 0.64 , $P > 0.1$).Bu durum, CRP ve ASO 'nun otoimmun hastalıkların tanısında yardımcı testler olabileceğini düşündürmektedir.

Tablo 13'de ise ANA pozitif olgularda hastalığa göre ASO, CRP ve RF ilişkisi açıklanmaya çalışılmıştır. ANA'un 8'inde pozitif bulunduğu SLE'lu olgularda ASO saptanamamış buna karşın CRP 4 (% 50.0) RF ise 2 (% 25) olguda

pozitif bulunmuştur. ANA'un sadece 1 olguda pozitif bulunduğu RA'li olguda ASO ve CRP saptanamamış buna karşın RF pozitifliği tesbit edilmiştir. ANA'un 2' sinde pozitif bulunduğu sklerodermalı olgularda CRP ve RF saptanamamış, ASO 1 (% 50.0)'inde; ANA'un 9'unda pozitif bulunduğu kollagenöz ön tanılı olgularda RF negatif bulunmuş, buna karşın ASO 3 (% 33.3)'ünde , CRP 6 (% 66.7)'sında; ANA'un 2'sinde pozitif bulunduğu otoimmün karaciğer hastalığı olan olgularda ASO CRP ve RF 1'er olguda saptanmıştır. ANA'un pozitif bulunduğu 7 atopik dermatitli hastada RF negatif bulunmuşken ASO 5 (% 71.4), CRP 2 (% 28.6) olguda pozitif olmuştur. Diğer otoimmün hastalığı olan ANA pozitif 1 olguda ise sadece CRP (% 100) pozitif bulunmuştur.

Tablo 14 'de ANA pozitif olgularda ASO,CRP ve RF'ün tek başlarına ve beraber olarak pozitif görülme oranları incelenmiştir.Buna göre 12 vakada (% 40) ANA tek başına pozitif saptanmış olup bunu sırasıyla ANA + ASO 5 (% 16.7), ANA + CRP 5 (% 16.7) , ANA + ASO + CRP 4 (% 13.3), ANA+ CRP+RF 2 (% 6.7), ANA + RF ile ANA+ ASO + CRP + RF 1 (% 3.3) vakada pozitif olarak izlemiştir. ANA + ASO + RF 'nin birlikte pozitifliğine ise rastlanmamıştır.

Tablo 15'de ise ANA pozitif tüm olguların yaş, cinsiyet ve diğer parametreler açısından topluca durumları gösterilmiş olup elde edilen sonuçlar tartışma boyunca detaylı olarak ele alınmıştır.

VI.SONUÇ

(a) Otoimmun hastalıklar, erişkin kadınlarda erkeklere oranla daha fazla ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda . SLE, RA, JRA, skleroderma, kollagenöz ön tanısı, otoimmüniteye ilişkin karaciğer hastalığı, atopik dermatit ve diğer bazı otoimmün hastalıkların kadınlarda erkeklere oranla 2 kat daha fazla görülme sıklığına sahip olduğu, söz konusu hastalıklarda ANA pozitifliğinin kadınlarda erkeklere oranla 4 kat daha fazla olduğu,

(b) Hasta grubunda ANA pozitifliğinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede (3.9 kat) daha fazla olduğu, iki grup arasında hasta grubu lehine kadınlarda 4.7 kat erkeklerde 2.4 kat daha fazla ANA pozitifliğinin bulunduğu tesbit edilmiştir. ANA pozitifliğinde 13 yaşın altındaki olgularda cinsiyetler arası anlamlı bir fark olmamasına rağmen ileri yaşlarda bu fark anlamlı hale geldiği,

(c) Hastalık grubunda ASO'nun en sık gözlenen parametre olarak bulunduğu, bunu CRP'nin izlediği, RF'nin ise en sonda yer aldığı, ANA pozitif bulunan olgularda, en sık gözlenen parametrenin CRP olduğu, ASO'nun ikinci, RF'nin ise üçüncü sırada yer aldığı ,

(d) ANA saptanan olgularda, olgu sayısının 10'dan fazla olduğu hastalık gruplarında; ASO'nun en sık görüldüğü hastalığın atopik dermatit, CRP'nin kollagenöz ön tanılı hastalıklar ve F'ün RA ' da olduğu,

ANA'larla birlikte; (1) SLE, karaciğer hastalığı ve atopik dermatitli ve kollagenöz ön tanılı hastalarda CRP; (2) skleroderma, karaciğer hastalığı ve atopik dermatitliler ve kollagenöz ön tanılı hastalarda ASO; (3) RA ve karaciğer hastalığı olanlarda RF 'ün görülme sıklığının arttığı,

Bu sonuçlar ışığında,adı geçen bu parametrelerin otoimmün hastalıkların tanısında küçük ip uçları olarak değerlendirilebileceği,

(e) ANA pozitifliğinin, otoimmün hastalıklarla ilişkili olup olmadığını sağlıklı bir şekilde değerlendirebilmek için, hastanın yaşı, cinsiyeti, daha önceden ya da yakın bir zamanda geçirmiş olduğu bir hastalığının olup olmadığı, bunların yanısıra psikiyatrik sorunların mevcudiyeti ve hastaneye başvurmadan önce otoimmüniteyi uyaracak ilaçların hasta tarafından alınıp alınmadığı titiz bir şekilde araştırılmasını gereği anlaşılarak, sonuçta;

OİH' larda ANA testinin bir tarama testi olarak ancak yol gösterici olabileceği, kollajenöz düşünülen hastalarda mutlaka ANA istenmesinin , pozitif olgularda, daha spesifik testlerin yapılmasının yerinde olacağı kanısına varıldı.

VII. ÖZET

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi'nin çeşitli kliniklerinde 17'si sistemik lupus eritematoz (SLE), 11'i romatoit artrit (RA), 2'si juvenil romatoit artrit (JRA), 44'ü kollagenöz ön tanılı, 5'i karaciğer hastalığı, 18'i atopik dermatit ve 3'ü diğer otoimmun hastalıklar olmak üzere toplam 102 otoimmün hastalık tanı/öntanısı konulan hastadan ve 40 sağlıklı olgudan serum örnekleri elde edilmiştir. Elde edilen bu örneklerde ELISA yöntemiyle ANA ve rutin yöntemlerle (lateks) ASO, CRP ve RF araştırılmıştır.

Çalışmada, hasta grubunda 24 (% 23.5)'ü kadın ve 6 (% 5.9)'sı erkek olmak üzere toplam 30 (% 29.4) olguda ANA saptanmıştır. ANA prevalansı SLE'de yüzde 70.6, RA'te yüzde 72.7, JRA'te ve sklerodermada yüzde 100.0, kollagenöz ön tanılılarda yüzde 70.5, otoimmün karaciğer hastalıklarında yüzde 40.0, atopik dermatitte yüzde 50.0 ve diğer otoimmün hastalıklarda yüzde 66.7 olarak bulunmuştur.

Otoimmün hastalık tanısı alan 68'i kadın 34'ü erkek olan olgularda ANA pozitifliğinin de kadınlarda (% 66.7) erkeklere (% 33.3) oranla daha yüksek olduğu görülmüştür.

Kontrol grubunda ise 2 (% 5.0) kadın ve 1 (2.5) erkek olmak üzere toplam 3 (% 7.5) olguda ANA saptanmış, elde edilen bu sayı hasta grubuna oranla anlamlı derecede düşük bulunmuştur. (X^2:4.28 $P < 0.05$)

Yaş grupları ile ANA ilişkisi incelendiğinde; 13 yaşın altındaki olgularda cinsiyetler arasında önemli bir fark görülememiş (X^2: 0.11 $P > 0.05$), bu yaşın üzerindeki yetişkin olgularda ANA mevcudiyetinin kadınların lehine önemli ölçüde arttığı görülmüştür. (X^2: 3.86 $P< 0.05$)

Araştırılan diğer parametrelerden CRP yüzde 46.7 oranıyla ANA pozitif olan otoimmün hastalarda en sık gözleneni olmuş, bunu ASO yüzde 33.3 oranıyla izlemiş ve RF yüzde 6.7 oranıyla en sonda yer almıştır. ANA saptanan olgularda ASO atopik dermatitlilerde (% 71.4); CRP kollagenöz ön tanılı olgularda (% 55.6); RF ise RA'te (% 100.0) en fazla gözlenmiştir.

VIII. SUMMARY

One hundred and two patients 17 of which systemic lupus erytematosus (SLE) ,11 rheumatoid arthritis (RA), 2 juvenil rheumatoid arthritis (JRA), 44 prediagnosed as collagenous diseases, 5 autoimmune liver diseases, 18 atopic dermatitis (AD) and 3 other autoimmune diseases from different clinics of Atatürk University Research Hospital were included in this study. Fourty healthy volunteers were taken as the control group. ANA by ELISA and ASO, CRP, RF by slide agglutination method were studied in the sera of the patient and healthy controls.

ANA was positive in 30 patients. 24 of these cases were females (23.5 %) and 6 were males (5.9 %). ANA prevalance was 70.6 % in SLE, 72.7 % in RA, 100.0 % in JRA and scleroderma, 70.5 % in prediagnosis collagenous diseases, 40.0 % in autoimmune liver diseases, 50.0 % in AD and 66.7 % in other autoimmune diseases.

ANA positivity rate was 66.7 % in females and 33.3 % in males; indicating that this ratio was higher in females than it was in males.

In the control group, ANA was positive in 2 females (5%), 1 male (2.5 %). The difference between patients and controls was statistically significant. (X^2:4.28 $P < 0.05$)

When we analysed the ANA results through the age groups, it was observed that no significant differences between the male and female in term of the age of under 13 (X^2: 0.11 $P > 0.05$), while the frequency of ANA was higher in females than it was in males in the patients over 13 (X^2: 3.86 $P < 0.05$).

In ANA positive autoimmune subjects, CRP was positive in 46.7 %, ASO in 33.3 % and RF in 6.7 %.

In ANA positive subjets, the most frequently detected parameters were ASO in AD (71.4 %),CRP in prediagnosis collagenous diseases (55.6 %) and RF in RA (100 %).

IX. KAYNAKLAR

1. Bilgehan H.: Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi , Barış Yay., 5.Baskı , İzmir, 1992 , s.498-499

2. Gülmezoğlu E, Ergüven S, İmmunoloji, Hacettepe Taş Yay., Ankara , 1994 s.233-244

3. Us D.E.: Antinükleer antikorlar ve hastalıklarla ilişkileri, Mikrobiyoloji Bülteni, 1992, 26:379-389

4. Yeğin O.: Temel İmmunoloji ve İmmun Eksiklik Hastalıkları, Akdeniz Üniversitesi Basımevi, Antalya ,1992, s.255-264

5. Babacan M.: Otoimmunite ile ilgili ders notları, Atatürk Üniversitesi Tıp Fak., Erzurum, 1994

6. Roitt I.V.,Essential Immunology, sixth edition, Blackwell Scientific Publications, London, 1988, p. 239-240

7. Özbal Y.: Temel İmmunoloji, Nobel Yay., İstanbul, 1994 , s.233-234

8. Fernandez M.F, Mattioli M: Antinuclear antibodies: immunologic and clinical significance, Seminars in Arthritis and Rheum.,1976, 6 (2): 83-124

9. Monier J.C.:Antinuclear Antibodies: Detection and diagnostic value, Nuc. Med. Biol., 1990, 17 (7): 713-718 ,

10. Ashman R.F.: Rheumatic Diseases ,In :Lawlor G.L.,Fischer T.J. (ed) , Manual of Allergy and Immunology, 2nd edition, Little Brown and Company, Boston 1989, p.284-323

11. Mongey A.B.,Hes E.V.: Antinuclear Antibodies and Disease Specificity, In: Stollerman G.H., LaMont J.T., Leonard J.J. et al. (ed),Advances in Internal Medicine , Mosby Year Book, USA, 1991, p. 151-165

12. Tan E.M.: Antinuclear Antibodies : Diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology, Adv. Immunol., 1989, 44 93-151,

13. Tan E.M.:Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): Their immuno biology and medicine , Adv. in Immunol., 1982, 33: 167-240

14. Tan E.M.,Cohen A.S.,Fries J.F. et al.:The 1982 revised criteria for the classification of SLE ,Arthritis Rheum., 1982, 25: 1271-1277

15. Bernstein R.M.,Hobbs R.N.,Lea D.J. et al.:Patterns of antihistone antibody specifity in systemic rheumatic disease, systemic lupus erytematosus, MCTD, primary sicca syndrome and rheumatoid arthritis with vasculitis, Arthritis Rheum.,1985, 28: 285-293

16. Tan E.M., Kunkell H.G.: Characteristic of a soluble nuclear antigen precipitating with sera patients with systemic lupus erytematosus ,J.Immunol., 1966, 96: 464-471

17. Earnshaw W.C.,Bordwell B.J.,Marino C. et al: Three human chromosomal autoantigens are recognized by sera from patients with anticentromer antibodies , J. Clin.Invest.,1986 , 77: 429-430

18. WHK A.: The value of specific antinuclear antibodies determination in rheomatology , Allergy,1987, 241-261

19. Mathews M.B..Bernstein R.M.: Myositis autoantibody inhibits histidyl-t RNA syntetase: A model for autoimmunity, Nature , 1983, 304: 177-179

20. Taylor R.N..Fulford K.M.: External quality control and standardization in labeled immunoassay, Annals Newyork Academy of Sciences ,1983, 420: 22-27

21. ANA Atlas : An interpretive guide to immunofluorescent Hep-2 antinuclear antibodies , Helix Diagnostics, Inc., West Sacramento California 1990

22. Molden D.P.,Nakamura R.M., Tan E.M.: Satandadization of immuno fluorescence test for autoantibody to nuclear antigens (ANA):Use of reference sera of defined antibody specificity , AM.Clin.Pathol.,1984, 82:57-66

23. Emerk K.:Romatizmal hastalıklarda laboratuvar bulguları, Tuna N. (ed) Romatizmal Hastalıklar ,Taş Yay., İstanbul, 1994 s.51-87

24.Jitsukawa T., Nakajima S., Usui J., Watanabe H.: Detection of anti- nuclear antibodies from patients with systemic rheumatic diseases by ELISA using HEp-2 cell nuclei , J.Clin.Lab. Analysis , 1991, 49-53

25. Sodeman W.A. , Sodeman T.M.: Fizyopatoloji,Türkiye Klinikleri Yay. Ankara ,1991, c.1 s.559

26. Wallach J. Teşhiste Laboratuvar Testleri, Yüce Yay. İstanbul, 1993 s.140.

27.İmren A.H.,Turan O.: Klinik Tanıda Laboratuvar ,Beta Yay.,İstanbul, 1985 s.620-622

28. İnci R.,Bilgiç A.: Tıpta C-reaktif protein , Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi ,16 :1986, (2-3) 66-74

29. Çetin E.T.: Genel ve Pratik Mikrobiyoloji, Sermet mat., İstanbul , 1973, s.490-491

30.Direskeneli H., Akoğlu T.: Romatizmal hastalıklarda immunolojik değişiklikler,Tuna N. (ed) Romatizmal Hastalıklar, Taş Yay,İstanbul, 1994 , s.88-100

31. Koniçe M.: Kollajen Hastalıklar , Romatoloji Sempozyumu, İstanbul , 1989 s.34-39

32.Batman F. :Primer bilier siroz, Telatar H, Şimşek H. (ed) Gastroenteroloji , Hekimler Yayın Birliği, Ankara, 1993, c.2, s.672-674

33.Canoruç F. :Kronik aktif hepatit, Telatar H.,Şimşek H. (ed) Gastroenteroloji, Hekimler Yayın Birliği, Ankara, 1993, c.2, s. 710-714

34.Demis D.J., Dobson R.L., McGuire J.: Clinical Dermatology, eleventh edition. Philadelphia . Harper and Row, Publishers, 1987, 1-29

35.Rook A., Wilkinson D.S., Ebling F.J.G., Champion R.H., Burton J.L.: Textbook of Dermatology, fourth edition Oxford, Balckwell Scientific Publications , 1986, 3: 419-434

36. Taniguchi Y., Yamakami A, Sakamota T.,Nakamura Y., Okada N.,Tanaka H., Mizutani H., Shimizu M.: Positive antinuclear antibody in atopic dermatitis, Acta Derm Venereol , 1992 , 176: 62-64

37.Boussen K.,Mabrouk J., Ben Mami N., Moalla M.,Ben Abdallah., Ben Ammar H.,Ben Maiz H., Colite collagene avec anticorps antinucleaires et neutropenie chronique, La Presse Medicale 1992, 13 (6) 1039

38. Mason T.G., Neal W.A and Dibartolomeo A.G.:Elevated antinuclear antibody titers and the postpericardiotomy syndrome, Pediatrics 1990, 116:(3) 403-404

39. Rapoport B.L.,Morrison R.C.A.,Sher R.,Santos D.:A study of autoantibodies in chronic mycobacterial infections, Int J.Leprosy , 1990, 58 (3) 518-525

40. Soussan P.L., Barbouche R., Poirier M.F., Galinowski A., Loo H, Avrameas S.: A preliminary prospective study on natural autoantibodies and the response of untreated schizophrenic patients to neuroleptics., Biol.Psychiatry , 1994, 35: 135-138

41. Vries E., Schipperijn A.J.M., Breedweld F.C.:Antinuclear antibodies in psychiatric patients, Acta psychiatr. Scand , 1994, 89 :289-290

42. Sirota P., Firer A.M..Schild K., Tanay A., Elizur A., Meytes D., Slor H.: Autoantibodies to DNA in multicase families with schizophrenia, Biol Psychiatry 1993, 33:450-455

43.Cabral D.A., Petty R.E., Fung M., Malleson P.N.:Persistent antinuclear antibodies in children without identifiable inflammatory rheumatic or autoimmune disease, Pediatrics, 89 :(3) 441-444

44.Larbre J.P.,Perret P., Collet P.,Llorca G.: Antinuclear antibodies during pyrithioxine treatment ,Br. J. Rheum,1990, 29:(6) 496

45.Schwartz D.,Pines A., Averbusch M., Levo Y.:Enalapril- induced antinuclear antibodies, Lancet , 1990, 336: (21) 187

46. De Giorgio C.M.,Rabinowicz A.L.,Olivas R.D.:Carbamazepine-induced antinuclear antibodies and systemic lupus erytematosus like syndrome, Epilepsia 1991, 32(1) 128-129

47. Badur S.: Hepatit A virusuna karşı oluşan IgM sınıfı antikorların ELİSA ile saptanmasında RF'ün neden olduğu yalancı pozitiflikliğin araştırılması, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 1985, 15: 75-79

48. Naot Y.,Bernett E.V.,Remington J.S.: Method for avoiding false positive results occuring in immunoglobulin M Enzyme Linked Immunosorbent Assays due to presence for both rheumatoid factor and antinuclear antibodies , J.Clin. Microbiol. 1981, 14: 73

49. Araujo F.G., Barnmetten E.V.,Gentry L.O. et al: False positive anti Toxoplasma fluorescent antibody tests in patients with antinuclear antibodies , appl. , Microbiol., 1971, 22: 270-275

50. Fucillio D.A.,Shekarchi I.C., Sever J.I.L.:Rapid viral diagnosis, In Rose N.R.,Friedman H.,Fahey J.L., (ed), Manual of Clinical Laboratory Immunology, 3nd edition,American Society for Microbiology ,Washington ,1986, p.489

51. Türkbal A.:Bilimsel Araştırma Metodları ve Uygulamalı İstatistik,Atatürk Üniversitesi Yayınları, No:640, Erzurum, 1987, s.262-272

52. De Shazo R., Lopez M.,Salvagio J.E.:Use and interpretation of diagnostic immunologic laboratory tests, JAMA,1987, 258:3018-3025

53.Church L.F.,Schosse R.H., Rock L.: Chronic ulserative stomatitis associated with stratified epithelial spesific anti nuclear antibodies, Oral surg.oral med.oral pathol. 1992, 73 : (5) 579-582

54. Murphy G.M.,Hawk J.L.M.:The prevalance of antinuclera antibodies in patients with apparent polymorphic light eruption ,Br.J. Derm., 1991,125: 448-451

55. Hassfeld W.,steiner G.,Hartmuth K., Kolarz G.,Scherak O.,et al: Demonstration of a new antinuclear antibody (Anti Ra33) that is highly specific for rheumatoid arthritis, Arthritis Rheum., 1989 ,32: (12) 1515-1520

56. Howard A.D.,Moore M.D.J.,Gouge S.F.,Lockard J.W.:Routine serologic tests in the differential diagnosis of the adult nephrotic syndrome,Am. J. Kidney Dis.,1990, 15 :(1) 24-30

57. Juby A.,Johnston C.,Davis P., Russell S.: Antinuclear and antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in the sera of patients with felty's syndrome, Br.J.Rheum, 1992, 31: 185-188

58. Calzavara P.G., Cattanco R., Franceschini F., Tosoni C., Martinelli M.,Carlino A.:Antinuclear antibodies in psoriatic arthritis nad its subgroups, Acta Derm. Venereol , 1989,146: 31-32

59. Malleson P.,Petty R.E., Fung M., Candido E.P.M.: Reactivity of antinuclear antibodies with histones nad other antigens in juvenil Rheumatoid Arthritis: Arthritis Rheum. ,1989, 32 :(7) 919-923

60. Maddison P.J., Stephens C., Briggs D.,Welsh K.I., Harvey G., Whyte J., et al: Connective tissue disase and autoantibodies in the kindreds of 63 patients with systemic sclerosis, Medicine ,1993, 72 (2) 103-112

61. Konikoff F.Isenberg D.A.,Barrison I.,Thedor E., Shoenfeld Y.:Antinuclear autoantibodies in chronic liver diseases, Hepatogastroenterol ,1989, 36 : 341-345

62. Ahrabi S.S.,ve ark. : Sağlıklı kişilerde otoantikor sıklığının araştırılması, XXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet kitabı ,1994, s.229

63. Xu L. , Chang V., Murphy A., Rock J.A., Damewood M., Schlaff W., Zacur H.A.: antinuclear antibodies in sera of patients with recurrent pregnancy wastage : Am. J. Obset. Gynecol. , 1990, 11: 1493-1496

64. Erbaş O. ve ark.: Gebelerde ANA prevalansı, XXVI.Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet kitabı , 1994, s.288

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ