



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ

**ANA TESTİ YAPILAN HASTALARDA ANTI-DFS 70
ANTİKORLARININ PREVALANSI VE OTOİMMÜN
ANTİKOR PROFİLİNİN ARAŞTIRILMASI**

Sevinç KARABULUT

**Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı
Tıbbi Mikrobiyoloji Yüksek Lisans Programı**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KASIM 2024



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ

**ANA TESTİ YAPILAN HASTALARDA ANTI-DFS 70
ANTİKORLARININ PREVALANSI VE OTOİMMÜN
ANTİKOR PROFİLİNİN ARAŞTIRILMASI**

Sevinç KARABULUT

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Tuğrul HOŞBUL**

**Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı
Tıbbi Mikrobiyoloji Yüksek Lisans Programı**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KASIM 2024

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalında Yüksek lisans programında

Sevinç KARABULUT

Tarafından hazırlanan ANA Testi Yapılan Hastalarda Anti-DFS 70 Antikorlarının
Prevalansı ve Otoimmün Antikor Profilinin Araştırılması Başlıklı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Tuğrul HOŞBUL

SBÜ Gülhane Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.

Bu tezin Yüksek lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.İMZA

SBÜ Gülhane Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.

Bu tezin Yüksek lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

İMZA

Üye: Doç. Dr. Mustafa GÜNEY

SBÜ Gülhane Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.

Bu tezin Yüksek lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

İMZA

Üye: Doç. Dr. Ali Korhan SİĞ

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 20/12/2024

Jüri üyeleri tarafından Yüksek lisans tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez
Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından
onaylanmıştır.

Tarih: 20 / 12 /2024

Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Prof. Dr. Onur GENÇ

GSBE/SBE Form No:2023/32

BEYAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Mevcut tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu,
- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Mevcut tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Sevinç KARABULUT

30 Kasım 2024

ÖZET

ANA Testi Yapılan Hastalarda Anti-DFS 70 Antikorlarının Prevalansı ve Otoimmün Antikor Profilinin Araştırılması

Amaç: Bu çalışmada anti nükleer antikor (ANA) ilişkili romatolojik hastalıkların (*ANA-associated rheumatic diseases*, AARD) tanısını dışlamada kullanılan anti-DFS70 antikorlarının görülme sıklığını, ANA patern uyumunu, eşlik eden diğer otoantikorları ve anti-DFS70 pozitif hastaların özelliklerini incelemek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma 2782 farklı hastanın 2022 ve 2023 yıllarına ait HEp-20-10/Karaciğer hücre slaytları ile çalışılan ANA İİF (1:100 dilüsyon) mikroskopisi ve karşılaştırmalı subserolojik immünoblot test sonuçlarının analizini ve ayrıca hastalara ait demografik/klinik özelliklerin retrospektif incelemesini içermektedir.

Bulgular: Çalışma grubu yaş ortalaması $51,724 \pm 16,078$ (yaş aralığı 18-97) olan 2173 (%78,1) kadın ve 609 (%21,9) erkekten oluşmaktadır. Tümü ANA İİF pozitif olan 2782 hastanın 540'ında (%19,4) anti-DFS70 otoantikorları (immünoblot) pozitif. Anti-DFS70 pozitif hastaların yaş ortalaması ($47,989 \pm 16,76$), anti-DFS70 negatif hastalara ($52,624 \pm 15,77$) göre anlamlı derecede daha düşüktü ($p < 0,001$). En sık test istemi yapılan birimler romatoloji (%58,3) ve iç hastalıkları (%25,5) poliklinik/klinikleri iken, test istemlerinin dağılımı anti-DFS70 pozitif ve negatif hastalar için benzerdi. Anti-DFS70 pozitif hastaların 397'sinde izole pozitiflik varken, 143 hastada eşlik eden diğer spesifik antikorlar vardı. Anti-DFS70 pozitif hastalarda en sık saptanan antikorlar sırasıyla AMA-M2, Ro-52 ve SSA iken, anti-Scl-70 saptanma oranı pozitif hastalarda negatif hastalara göre daha yüksekti. Tüm hastalarda en sık görülen ANA paternleri; benekli (%68,4), sitoplazmik granüler (%41,3) ve homojen (%22,6) paternlerdi. En sık görülen dördüncü (%16,8) patern olan DFS70 benzeri paternin anti-DFS70 izole pozitif, miks pozitif ve negatif hastalarda raporlanma oranları sırasıyla %92,9, %62,2 ve %0,4 olarak bulundu.

Sonuç: İİF testi ile patern değerlendirmedeki güçlükler göz önüne alındığında daha yüksek duyarlılığa sahip ikinci basamak test panellerine anti-DFS70 antikorlarının eklenmesi, izole anti-DFS70 varlığı olan hastalarda AARD tanısını dışlamanın daha kolay ve doğru bir şekilde yapılabilmesi için önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: ANA, HEp-2 patern, Anti-DFS70, İmmünoblot, Prevalans.

ABSTRACT

Investigation of the Prevalence of Anti-DFS 70 Antibodies and Autoimmune Antibody Profile in Patients Undergoing ANA Testing

Objective: This study aimed to investigate the prevalence of anti-DFS70 antibodies used to exclude the diagnosis of anti-nuclear antibody (ANA)-associated rheumatic disease (AARD), ANA pattern compatibility, other concomitant autoantibodies and characteristics of positive patients.

Material and Method: The study includes the analysis of ANA IIF (1:100 dilution) microscopy and comparative subserological immunoblot test results of 2782 different patients with HEp-20-10/liver cell slides in 2022 and 2023, as well as retrospective analysis of demographic/clinical characteristics of the patients.

Results: The study group consisted of 2173 (78.1%) women and 609 (21.9%) men with a mean age of 51.724 ± 16.078 (age range 18-97). Anti-DFS70 autoantibodies (immunoblot) were positive in 540 (19.4%) of 2782 patients, all of whom were ANA IIF positive. The mean age of anti-DFS70 positive patients (47.989 ± 16.76) was significantly lower than that of anti-DFS70 negative patients (52.624 ± 15.77) ($p < 0.001$). The most frequently requested units were rheumatology (58.3%) and internal medicine (25.5%) clinics / outpatient departments, while the distribution of test requests was similar for anti-DFS70 positive and negative patients. While 397 of the anti-DFS70 positive patients had isolated positivity, 143 patients had other specific antibodies. The most frequently detected antibodies in anti-DFS70 positive patients were AMA-M2, Ro-52 and SSA, while the detection rate of anti-Scl-70 was higher in positive than in negative patients. The most common ANA patterns in all patients were speckled (68.4%), cytoplasmic granular (41.3%) and homogeneous (22.6%). The fourth most common pattern (16.8%), the DFS70-like dense fine speckled pattern, was reported in 92.9%, 62.2% and 0.4% of anti-DFS70 isolated positive, mixed positive and negative patients, respectively.

Conclusion: Considering the difficulties in pattern assessment with the IIF test, the addition of anti-DFS70 antibodies to the second-line test panels with higher sensitivity is important to more easily and accurately exclude the diagnosis of AARD in patients with isolated anti-DFS70.

Keywords: ANA, HEp-2 pattern, Anti-DFS70, Immunoblot, Prevalence.

TEŞEKKÜR

“ANA Testi Yapılan Hastalarda Anti-DFS 70 Antikorlarının Prevalansı ve Otoimmün Antikor Profilinin Araştırılması” konulu Tıbbi Mikrobiyoloji yüksek lisans tez konusu T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü’nün 21.11.2023 tarih ve 209(29) sayılı toplantısında 3591 sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile kabul edilmiş ve Ankara Valiliği İl Sağlık Müdürlüğü Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi Bilimsel Araştırma Değerlendirme Kurulu’nun (BADEK) ve Eğitim Planlama Kurulu (EPK)’nun 24.01.2024 tarih ve 2 nolu kurul kararı ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu 27.02.2024 tarih ve 2024/02 toplantı numaralı ve 2024/95 sayılı kararı ile onaylandıktan sonra çalışmaya başlanmıştır. Tıbbi Mikrobiyoloji yüksek lisans eğitimi sürecince eğitimimde katkıları ve emekleri olan Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Öğretim üyeleri, Prof. Dr. Ali ALBAY, Prof. Dr. Ramazan GÜMRAL, Doç. Dr. Özgür KORU, Prof. Dr. Fatih ŞAHİNER, Uzm. Dr. Kemal TEKİN, Uzm. Dr. İsmail Selçuk AYGAR ve tez danışmanım Doç. Dr. Tuğrul HOŞBUL’ a saygılarımı ve teşekkürlerimi arz ederim.

Tez sürecinde beni destekleyen eşim Hamdi KARABULUT, kızlarım Pelin KARABULUT ve Özgü KARABULUT’ a ve tüm aileme çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans sürecinde bana destek olan arkadaşlarıma ve tüm Tıbbi Mikrobiyoloji ailesine teşekkür ederim.

Sevinç KARABULUT

Ankara

Kasım 2024

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----|
| ÖZET | iv |
| ABSTRACT | v |
| TEŞEKKÜR | vi |
| İÇİNDEKİLER | vii |
| TABLolar DİZİNİ | x |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xi |
| SİMGE VE KISALTMALAR | xii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 5 |
| 2.1. İmmün Yanıt | 5 |
| 2.2. İmmün Yanıtın Özellikleri | 7 |
| 2.2.1. Özgüllük | 7 |
| 2.2.2. Çeşitlilik | 7 |
| 2.2.3. Hafıza (Bellek) | 8 |
| 2.2.4. Kendini sınırlama | 8 |
| 2.2.5. Kendini yabancı olandan ayırt etme | 8 |
| 2.3. İmmünolojik Tolerans | 8 |
| 2.3.1. Santral tolerans | 10 |
| 2.3.2. Periferik tolerans | 10 |
| 2.4. Otoantikorlar ve Otoimmün Hastalıklar | 11 |
| 2.4.1. Organa spesifik otoimmün hastalıklar | 12 |
| 2.4.2. Sistemik otoimmün hastalıklar | 12 |
| 2.4.3. ANA-ilişkili romatolojik hastalıklar | 12 |
| 2.5. Anti Nükleer Antikorlar (ANA) | 13 |
| 2.5.1. ANA tespitinde kullanılan teknikler | 14 |
| 2.5.2. Ekstrakte edilebilir nükleer antijenler (ENA) | 16 |
| 2.5.3. ANA tespitinde sorunlar ve çözümler | 17 |
| 2.6. ANA Boyanma Paternleri | 18 |
| 2.6.1. Nükleer (çekirdek) boyanma paternleri | 22 |
| 2.6.1.1. Homojen patern (AC-1) | 23 |

| | |
|---|-----------|
| 2.6.1.2. Yoğun ince benekli (anti-LEDGF/DFS70 benzeri) (AC-2) | 23 |
| 2.6.1.3. Sentromer (AC-3) | 24 |
| 2.6.1.4. İnce benekli (AC-4) | 25 |
| 2.6.1.5. Büyük(large)/kaba benekli (AC-5) | 25 |
| 2.6.1.6. Çok sayıda nükleer noktalı (AC-6) | 26 |
| 2.6.1.7. Az sayıda nükleer noktalı (AC-7) | 26 |
| 2.6.1.8. Nükleolar homojen (AC-8) | 26 |
| 2.6.1.9. Nükleolar küme (AC-9) | 26 |
| 2.6.1.10. Nükleolar noktalı (<i>punctate nucleolar</i>) (AC-10) | 27 |
| 2.6.1.11. Pürüzsüz (<i>smooth</i>) nükleer membran (AC-11) | 28 |
| 2.6.1.12. Noktalı (<i>punctate</i>) nükleer membran (AC-12) | 28 |
| 2.6.1.13. PCNA benzeri (AC-13) | 29 |
| 2.6.1.14. CENP-F benzeri (AC-14) | 29 |
| 2.6.1.15. DNA topoizomeraz I benzeri (AC-29) | 29 |
| 2.6.2. Sitoplazmik boyanma paternleri | 30 |
| 2.6.2.1. Sitoplazmik fibriller lineer (AC-15) | 30 |
| 2.6.2.2. Sitoplazmik fibriller filamentöz (AC-16) | 31 |
| 2.6.2.3. Sitoplazmik fibriller segmental (AC-17) | 31 |
| 2.6.2.4. Sitoplazmik ayrı noktalılar (AC-18) | 32 |
| 2.6.2.5. Sitoplazmik yoğun ince benekli (AC-19) | 32 |
| 2.6.2.6. Sitoplazmik ince benekli (AC-20) | 32 |
| 2.6.2.7. Sitoplazmik retiküler/AMA (AC-21) | 32 |
| 2.6.2.8. Polar/Golgi benzeri (AC-22) | 33 |
| 2.6.2.9. Çubuklar ve halkalar (rods and rings) (AC-23) | 33 |
| 2.6.3. Mitotik boyanma paternleri | 33 |
| 2.6.3.1. Sentrozom (AC-24) | 34 |
| 2.6.3.2. İğsi (spindle) fiberler (AC-25) | 34 |
| 2.6.3.3. NuMA benzeri (AC-26) | 34 |
| 2.6.3.4. İntersellüler köprü (AC-27) | 34 |
| 2.6.3.5. Mitotik kromozomal (AC-28) | 35 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER | 37 |
| 3.1. Çalışma Onayları | 37 |
| 3.2. Hasta Grubu | 37 |
| 3.3. Yöntemler | 37 |

| | |
|--|-----------|
| 3.3.1. ANA İİF Yöntemi | 38 |
| 3.3.2. Floresan mikroskop değerlendirmesi | 40 |
| 3.3.3. ANA profil immünoelot yöntemi | 40 |
| 3.4. İstatistiksel Analizler | 43 |
| 4. BULGULAR | 45 |
| 4.1. Örnek Test Sonuçları | 45 |
| 4.2. Çalışma Grubunun Demografik Özellikleri | 46 |
| 4.3. Anti-DFS70 Pozitif Hastaların Özellikleri | 49 |
| 5. TARTIŞMA | 55 |
| 6. SONUÇLAR | 67 |
| 7. KAYNAKLAR | 69 |
| 8. EK'LER | 77 |
| EK 1. T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 21.11.2023 tarih ve 209(29) sayılı toplantısı 3591 sayılı Yönetim Kurulu Kararı | 78 |
| EK 2. Ankara Valiliği İl Sağlık Müdürlüğü Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi Bilimsel Araştırma Değerlendirme Kurulu (BADEK) ve Eğitim Planlama Kurulu (EPK)'nun 24.01.2024 tarih ve 2 nolu kurul kararı | 79 |
| EK 3. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu 27.02.2024 tarih ve 2024/02 toplantı numaralı ve 2024/95 sayılı kararı | 80 |
| 9. ÖZGEÇMİŞ VE İLETİŞİM BİLGİLERİ | 81 |

TABLolar DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Tablo 2.1. Yaygın görülen otoimmün hastalıklarda ANA pozitiflik oranları | 16 |
| Tablo 2.2. Yaygın görülen sistemik otoimmün hastalıklar ve ilişkili antijenler | 17 |
| Tablo 2.3. Yaygın görülen organa özgü otoimmün hastalıklar ve ilişkili antijenler. | 18 |
| Tablo 2.4. Nükleer ANA paternleri ve ilgili hedef antijenler | 22 |
| Tablo 2.5. Sitoplazmik ANA paternleri ve ilgili hedef antijenler | 31 |
| Tablo 2.6. Mitotik ANA paternleri ve ilgili hedef antijenler | 33 |
| Tablo 4.1. Anti-DFS70 pozitif ve negatif hastaların yaş ortalamalarının karşılaştırılması | 48 |
| Tablo 4.2. Anti-DFS70 pozitif ve negatif hastaların cinsiyet dağılımının karşılaştırılması | 48 |
| Tablo 4.3. Anti-DFS70 pozitif ve negatif hastalarda spesifik antikor dağılımının karşılaştırılması | 30 |
| Tablo 4.4. Anti-DFS70 pozitif ve anti-DFS70 negatif hastalar için test istemi yapılan klinikler | 51 |
| Tablo 4.5. Anti-DFS70 pozitif ve negatif hastalarda majör ANA paternlerinin dağılımı | 51 |
| Tablo 4.6. İzole anti-DFS70 pozitifliği bulunan hastalarda tanı ve ön tanılar | 52 |
| Tablo 4.7. Miks anti-DFS70 pozitifliği bulunan hastalarda tanı ve ön tanılar | 53 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 2.1. Ökaryotik hücre bölünmesinin mikroskop altında izlenen aşamaları | 20 |
| Şekil 2.2. İmmünfloresan mikroskopide major antinükleer antikor paternleri | 21 |
| Şekil 2.3. Homojen patern (AC-1) | 23 |
| Şekil 2.4. Yoğun ince benekli (anti-LEDGF/DFS70 benzeri) patern (AC-2) | 24 |
| Şekil 2.5. Sentromer boyanma paterni (AC-3) | 25 |
| Şekil 2.6. Nükleolar boyanma paternleri (AC-8, AC-9, AC-10) | 27 |
| Şekil 2.7. Nükleer membran paternleri (AC-11, AC-12) | 28 |
| Şekil 3.1. IF Sprinter IIFT cihazı | 40 |
| Şekil 3.2. İmmünoblot testlerinin çalışıldığı EUROBlotMaster cihazı ve analiz ekranı | 43 |
| Şekil 4.1. İmmünfloresan mikroskopik incelemesinde anti-DFS70/LEDGF benzeri boyanma paternleri | 45 |
| Şekil 4.2. EUROLİNE ANA profili (IgG) kiti test striplerinin görünümü | 46 |
| Şekil 4.3. EUROLİNE Scan tarayıcı sistemi ile analiz edilen kitlelere ait sonuç raporu..... | 46 |
| Şekil 4.4. Anti-DFS70 negatif ve pozitif hastaların yaş dağılımı grafikleri | 47 |
| Şekil 4.5. Tüm hastalarda ve anti-DFS70 pozitif ve negatif hastaların cinsiyet dağılımı | 48 |
| Şekil 4.6. ANA İİF pozitif hastalarda izole ve miks anti-DFS70 pozitiflik oranları..... | 49 |
| Şekil 4.7. Anti-DFS70 miks pozitif hastalarda eşlik eden diğer spesifik otoantikörler | 49 |

SİMGE VE KISALTMALAR

| | |
|--------|--|
| AARD | : ANA ilişkili romatolojik hastalıklar (<i>ANA-associated rheumatic diseases</i>) |
| AC | : Anti hücre (<i>anti-cell</i>) |
| ACR | : Amerikan Romatoloji Koleji (<i>American College of Rheumatology</i>) |
| AMA | : Anti-mitokondriyal antikorlar |
| ANA | : Anti Nükleer Antikor |
| ATP | : Adenozin trifosfat |
| CENP | : Sentromer proteini (<i>centromere protein</i>) |
| CEP | : Sentrozomal protein |
| DFS | : Yoğun İnce Benekli (<i>Dense Fine Speckled</i>) |
| DNA | : Deoksiribonükleik asit |
| dsDNA | : Çift zincirli (<i>double stranded</i>) DNA |
| ssDNA | : Tek zincirli (<i>single stranded</i>) DNA |
| ELİSA | : Enzim Bağlı İmmunosorbent Testi (<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>) |
| ENA | : Ekstrakte Edilebilir Nükleer Antijen (<i>Extractable nuclear antigen</i>) |
| FİTC-H | : Floresan izotiyosiyanat |
| GM130 | : Golgi matris proteini 130 |
| HEp | : İnsan epidermoid larinks kanseri |
| ICAP | : Uluslararası ANA Paterni Konsensüsü Komitesi (<i>The International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns, ICAP</i>) |
| IgG | : İmmüoglobulin G |
| İİF | : İndirekt İmmün Floresan |
| Jo-1 | : Histidil-tRNA sentaz |
| LAP | : Lamina ilişkili polipeptit (<i>Lamina-associated polypeptide</i>) |
| LE | : Lupus eritematozus |

| | |
|--------|--|
| LEDGF | : Lens epitelinden türetilen büyüme faktörü (<i>Lens epithelium-derived growth factor</i>) |
| LİA | : Line immüno blot assay, Line immünoassay |
| MCA | : Mitotik kromozom otoantijeni |
| MSA | : Mitotik ağ aparatı/aygıtı (<i>Mitotic spindle apparatus</i>) |
| NOR | : Nükleolar düzenleyici bölge (<i>Nucleolus organizer regions</i>) |
| NuMA | : Nükleer mitotik aparat/aygıt (<i>Nuclear mitotic apparatus</i>) |
| PBS | : Fosfat Tamponlu Tuzlu Su (<i>Phosphate Buffered Saline</i>) |
| PCNA | : Proliferatif hücre nükleer antijeni (<i>proliferating cell nuclear antigen</i>) |
| PL-7 | : Treonil-tRNA |
| PL-12 | : Alanil-tRNA |
| RA | : Romatoid artrit |
| Rib-P | : Ribozomal P proteini |
| RNA | : Ribonükleik asit |
| RNP | : Ribonükleoprotein |
| Ro52 | : TRIM21 (üçlü motif içeren protein 21, <i>tripartite motif-containing protein</i> 21), SSA1 |
| Ro60 | : SSA2, TROVE2 |
| Scl-70 | : Sistemik skleroz-70kDa/antitopoizomeraz-1 |
| SjS | : Sjögren sendromu |
| SLE | : Sistemik Lupus Eritematozus |
| Sm | : Smith antijeni |
| SMN | : Hayatta kalma motor nöron (<i>survival of motor neurons</i>) proteini |
| SSA | : SSA/Ro; Sjögren sendromuyla ilişkili antijen A |
| SSB | : SSB/La; Sjögren sendromuyla ilişkili antijen B |
| TIF | : Transkripsiyon aracı faktörü (<i>Transcriptional intermediary factor</i>) |

1. GİRİŞ

İmmün sistem, patojen mikroorganizmalara ve mukozal yüzeylerden giren toksik ve alerjenik maddelere karşı yanıt veren ve kanser hücrelerinin temizlenmesi gibi çok yönlü görevleri olan “organ, doku, hücre ve çeşitli moleküller” düzeyinde organize olmuş büyük bir savunma sistemidir (1,2). İmmün sistemin görevini yerine getiremediği doğuştan (primer) veya edinsel (sekonder) yetmezlikler yanında, aşırı uyarılması ile ortaya çıkan yıkıcı etkileri veya immün toleransın bozulması ile ilişkili otoimmün hastalıklar gibi çeşitli işlevsel bozuklukları da bulunmaktadır (3–7). Normal koşullarda kanda bulunmayan spesifik antijenlerin bariyerleri aşarak kana geçmesi, enfeksiyonlar ile ilişkili çapraz antikor yanıtları veya kanser olgularında olduğu gibi protein yapılarının değişmesi gibi süreçlerin sonucu olarak bağışıklık sisteminin kendi antijenleri ile etkileşime girmesi otoimmün hastalıkların gelişimini tetikleyebilir (2,3,7,8). Otoimmünite demografik özellikler, stres, ilaçlar, hormonlar (endokrin), genetik ve çevresel faktörler gibi daha birçok faktörden etkilenmektedir (2,8–11). Otoimmün hastalıklar organa özgü olabildiği gibi birçok organı içeren sistemik tutulum da gösterebilir (9).

Otoantikolar organizmanın kendi antijenleri ile reaksiyona giren antikorlardır ve çeşitli hastalıkların tanı, tedavi, sınıflandırma ve takibinde kullanılırlar (3,9). Otoantikolar bireylerde otoimmün bir hastalığı gösterebileceği gibi sağlıklı bireylerde de tespit edilebilirler (12–14). Otoimmün hastalıkların teşhis ve izlenmesinde indirekt immün floresan (İİF) temelli anti nükleer antikor (ANA) testinin kullanılması sistemik lupus eritematozus (SLE) ve diğer ANA ilişkili romatolojik hastalıklar (*ANA-associated rheumatic diseases, AARD*) için Amerikan Romatoloji Koleji (*American College of Rheumatology, ACR*) tarafından altın standart tarama testi olarak kabul edilmiştir (15–19). ANA genellikle sistemik romatolojik hastalıkların serolojik ayırt edici özelliği olarak kabul edilir (15,17). Bu antikorların, insan hücrelerinde bulunan SSA, SSB, Sm (Smith antijeni), ribonükleoprotein (RNP), çift zincirli DNA (*double stranded, dsDNA*) gibi tespit edilen otuz civarında farklı antijenle reaksiyona girdiği bilinmektedir (15,16). ANA

pozitifliği ilk olarak SLE hastalarında tanımlanmış olsa da (20), daha sonra bu antikörlerin Sjögren sendromu (SjS), sistemik skleroz (SSc, skleroderma), romatoid artrit (RA) gibi birçok romatolojik hastalıkla da ilişkili olduğu gösterilmiştir (21,22). Romatolojik hastalıklar dışında otoimmün hepatit, idiyopatik trombositopenik purpura gibi diğer otoimmün hastalıklarda da ANA pozitifliği görülebilmektedir (14,18,23). ANA pozitif hastalara, çeşitli romatolojik hastalıklarla ilişkilendirilen spesifik antikörlerin varlığı yönünden ileri testler (subserolojik testler) yapılır (18). Ekstrakte edilebilir nükleer antijenlere (ENA) karşı oluşan bu antikörlerin araştırılmasında ANA İİF paternleri fikir verse de spesifik antikörlerin tanımlanması için enzim bağlı immunosorbent testi (ELİSA) ve immüno blot gibi duyarlılığı daha yüksek olan yeni nesil testler kullanılır (15,18). Bu antikörlerden biri olan anti-DFS70 çeşitli romatolojik hastalıklarla ilişkilendirilen diğer spesifik otoantikörlerden farklı olarak AARD tanısının dışlanması ve böylece gereksiz ileri testlerin oluşturduğu ek maliyetlerin düşürülmesi için yeni bir potansiyel marker olarak değerlendirilmektedir (18,24). ANA İİF nükleer paternlerinden biri olan yoğun ince benekli (*dense fine speckled*, DFS) boyanma paterni ile ilişkilendirilen bu antikörlerin hedefi lens epitelinden türetilen büyüme faktörü (*lens epithelium-derived growth factor*, LEDGF/p75) olarak da bilinen bir DNA (deoksiribonükleik asit) bağlayıcı proteindir (24). DFS paterninin belirgin özelliği interfaz hücrelerinde nükleer benekli ve metafaz hücrelerinde pozitif kromatin bandı görüntüsü ile karakterize yoğun ince benekli görünümüdür (25). ANA tanımlanması için İİF sonuçlarının yorumlanması deneyim gerektirir ve DFS paterni gibi bazı durumlarda deneyimli uzmanlar için bile zorluk oluşturabilir (26). Bu nedenle günümüzde anti-DFS70 otoantikörleri immüno blot ve ELİSA gibi duyarlılığı daha yüksek yöntemlerle incelenmektedir (26). Klinik olarak anti-DFS70 otoantikörlerinin, sistemik otoimmün hastalıkları olan hastalarda nadiren görülüyor olması ve sağlıklı bireylerde daha yüksek yaygınlıkta görülmesi özel önem taşır (24). Anti-DFS70 antikörleri ilk olarak interstisyel sistitli hastalarda tanımlanmış olup, bu antikörler, interstisyel sistit, astım, sedef, alopesia areata, atopik dermatit gibi sistemik olmayan otoimmün hastalıkları gibi, çeşitli göz hastalıkları ve bazı kanser hastalarında da görülmüştür (24). Bununla beraber güncel çalışmalarda anti-DFS70 antikörlerinin varlığı, hastalık spesifik diğer otoantikörlerin yokluğunda AARD tanısını dışlamaya

yardımcı bir araç olarak kabul edilmektedir (18,24). Bu çalışmada, anti-DFS70 antikor prevalansının (immünoblot), İİF patern uyumunun, eşlik eden diğer otoantikor profillerinin ve anti-DFS70 pozitif hastaların demografik ve klinik özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.





2. GENEL BİLGİLER

İmmünoloji, vücuda giren yabancı ve zararlı patojenlere ve kontrolsüz olarak çoğalarak vücut bütünlüğünü tehdit eden kanser hücrelerine karşı immün sistemin verdiği cevabı inceleyen bilim dalıdır (2,27). Bağışıklık tepkisi veya immünite ise organizma içine giren bakteri, virüs, mantar ve parazit gibi patojenlere ve anormal hücrelere karşı karmaşık ve oldukça koordineli bir süreç ile uygun yanıtı verebilme yeteneğine verilen isimdir (1,28). Vücudumuza giren milyonlarca yabancı etkeni tanıyıp ayırt edebilme yeteneğine sahip olan ve enfeksiyonlara ve kansere karşı savunmada görevli olan ve hepsi birbirine bağlı hücreler, çözünebilir faktörler, etkileşimli hücreler ve dokulardan oluşan savunma hattının tamamına ise immün sistem denmektedir (1,2,27).

2.1. İmmün Yanıt

İmmün sistem, birbirlerinden bağımsız olmayan, ancak önemli fonksiyonel farklılıklar gösteren “doğal (*innate*) ve edinsel (adaptif)” immünite olarak iki ana kola ayrılır (2,28,29). Doğal bağışıklık, doğuştan var olan savunma mekanizmalarını içerir ve enfeksiyöz etkenlere ilk cevabı hızlı bir şekilde vererek enfeksiyonun yayılmasını engeller, bununla beraber uzun süreli ve kalıcı bir bağışıklık hafızası sağlamaz (2,30–32). Güçlü bir bellek sistemi olmayan ve sınırlı sayıda etkeni tanıyabilen doğal bağışıklık unsurları yabancı etkenlerle tekrar karşılaştıklarında aynı şiddette reaksiyon gösterirler ve yanıt sırasında ve bir organizmanın yaşamı boyunca bu tepkileri genel olarak değişmez (1,27,33).

Doğuştan gelen bağışıklık; fiziksel bariyerler, enzimler, interferon, kompleman proteinleri ve sitokinler, nötrofil, makrofaj ve dentritik hücrelerin yanıtlarını içerir (1,32,33). Edinsel (adaptif) bağışıklığın gelişimi doğuştan gelen bağışıklık sisteminin eylemleriyle desteklenir ve doğuştan gelen bağışıklık bulaşıcı etkenleri ortadan kaldırmada etkisiz olduğunda kritik öneme sahiptir (1). Adaptif bağışıklıkta yanıt değişken ve yavaştır. “Etken spesifik bağışıklık” olarak da tanımlanan bu sistem çok farklı çeşitte antijeni seçici olarak tanır ve bellek oluşturup

yanıt sırasında değişir ve farklılaşır (1,30). Edinsel bağışıklığın meydana gelmesinden sorumlu hücre grubu T ve B lenfositler olup, her hücreye spesifik reseptörler ile hedefini tanır ve patojene özgü ve güçlü bir yanıt üretirler (1,29,31,33).

Adaptif bağışıklık yanıtının birincil işlevleri arasında spesifik olarak kendinden olmayan (*non-self, xenogeneic*) antijenlerin tanınması, bunların kendi antijenlerinden (*allogenic, self*) ayırt edilmesi, spesifik patojenleri veya patojenle enfekte hücreleri ortadan kaldıran “patojene özgü immünolojik efektör yolların” oluşturulması ve yaşamın daha sonraki dönemlerinde aynı etkenlerle enfeksiyonların meydana gelmesi durumunda spesifik patojenleri hızla ortadan kaldıracak bir immünolojik hafızanın geliştirilmesi yer alır (1,2,34). Edinsel bağışık sisteminin hümorale (salgısal) ve hücrele bağışık olmak üzere iki çeşit yanıt mekanizması ve iki ana ayağı vardır (30).

Hümorale bağışık yanıt B hücre aracılı antikor cevabına dayalı spesifik immün yanıt türüdür (1,2). B lenfositler antikor üreterek bu antikorları kan ve mukoza sıvılarına salarlar ve böylece kan dolaşımı, gastrointestinal sistem, solunum yolları ve mukozal membranlardaki enfeksiyöz etkenler etkisiz hale getirilir (1). İmmün sistem bu yanıtı oluştururken kendi (*self*) antijenlerine karşı yanıt oluşturmaz. Bu antikorlar hücre dışı yerleşen enfeksiyon etkenlerini ve onların toksinlerini etkisiz hale getirerek ortadan kaldırır, ancak hücre içi yerleşen mikroorganizmalara karşı etki gösteremezler. Hümorale immünitede B lenfositleri, plazma hücreleri, spesifik antikorlar ve hafıza B hücreleri görev alır (1,35).

Hücrele bağışık yanıt T lenfosit aracılı spesifik immün yanıt türüdür. Hücrele bağışıkta çeşitli T lenfosit alt tipleri ve hafıza T lenfositleri görev alır (1,2). Yardımcı T hücreler (*T-helper, Th*) fagositik hücreleri uyararak doğal immün yanıtı güçlendirir ve B lenfositleri aktive ederek hümorale bağışık yanıtı desteklerken, sitotoksik T lenfositler (*T-cytotoxic, Tc*) sitoplazmasında yabancı protein bulunan hücreleri yok ederler (2,36,37). T lenfositler yalnızca protein yapısındaki antijenleri tanıyarak tepki verirler.

Edinsel bağıklık yanıt ilk önce antijen tanınması ile başlar (1). Ardından T hücre farklılaşması ve çoğalması ile efektör T hücreler dolaşıma geçerek periferde antijen ile karşılaşır. Efektör T hücrelerin aktivasyonu sonunda enfekte hücre yok edilir. Yanıt tamamlandığında yabancı antijenin aktive ettiği efektör hücrelerin büyük çoğunluğu apoptoz ile ölür. Kalan hücreler ise bellek hücrelerini oluştururlar. Bellek lenfositleri vücutta antijen olmamasına rağmen dinlenme fazında bekler ve aynı antijen ile tekrar karşılaştığında hızlı ve spesifik bir savunma mekanizması olan sekonder immün yanıtı oluştururlar (36,37).

2.2. İmmün Yanıtın Özellikleri

2.2.1. Özgüllük

Antijenlerin lenfositler tarafından spesifik olarak tanınabilen bölümlerine “antijenik determinant” veya “epitop” denir (8,38). Her türlü organik madde antijenik özellik gösterebilir. Adaptif yanıt bağlamında bir antijen, T ve B lenfositlerin reseptörleri tarafından özel olarak tanınan ve bağlanan herhangi bir maddedir; bu tanım, adaptif bağıkların hem humoral hem de hücre aracılı dallarını kapsar (39). Lenfositler organizmaya giren yabancı maddelere (mikroorganizma antijenleri, proteinler gibi makromoleküller vb.) karşı spesifik savunma elemanları üretirler. Lenfositler organizmada henüz ilk kez karşılaştıkları antijenleri antijen sunan hücreler aracılığı ile tanıdıktan sonra ilgili antijene spesifik lenfositler uyarılarak aktive olur ve çoğalmaya başlarlar. Bu yanıtı “primer immün yanıt” denir. Spesifik immünite organizma aynı antijenle tekrar karşılaştığında daha erken ve güçlü yanıt verilmesini sağlar. Bu ikinci yanıtı ise “sekonder immün yanıt” denir (40). Bir etken ile henüz karşılaşmadan önce aşı ile immün sistemin uyarılmasındaki amaç da aslında bu mekanizmayı işleterek doğal karşılaşma olduğunda hızlı ve güçlü sekonder immün yanıt ile yabancı ve zararlı etkeni bertaraf etmektir (41).

2.2.2. Çeşitlilik

Organizmalar potansiyel olarak immün sistemin reseptörleri tarafından bağlanabilen hemen hemen her maddeye karşı cevap verebilirler. Memelilerde

immün sistemin 10^9 farklı antijeni tanıma kapasitesinin olduğu düşünülmektedir. Bu özelliğe “lenfosit repertuarı” denir (42). Bir klondaki lenfositlerin antijen tanıyan reseptörleri aynıdır. Her lenfosit klonunun antijen reseptörüne bağlanma bölgesinin farklı olması repertuarın ne kadar geniş olabileceğini göstermektedir (38).

2.2.3. Hafıza (Bellek)

İmmün sistem daha önce karşılaştığı antijenik özelliği hafızasına kaydeder ve aynı antijenle tekrar karşılaştığında daha güçlü ve hızlı immün cevap oluşturur. (1,27). Bu özelliğe immünolojik bellek (immünolojik hafıza) denir. Antijene her maruz kalındığında o antijene spesifik olan klon ya da klonların çoğalmasına neden olur. Antijenik uyarım ile oluşan bellek hücreleri uzun ömürlüdür ve hedef etkenin yokluğunda dolaşımında az sayıda ve istirahat halinde bulunurlar (38).

2.2.4. Kendini sınırlama

Yabancı bir antijenle karşılaşma sonrası ilk etkileşimlerden ve zararlı durumun ortadan kaldırılmasından sonra bağışıklık tepkisi kontrollü bir şekilde azalır (38).

2.2.5. Kendini yabancı olandan ayırt etme

İmmün sistem, birincil lenfoid organlar aracılığı ile kendine ait olan antijenleri yabancılardan ayırt etme ve tepki verme özelliğine sahiptir (42). Kendine ait yapılara karşı ise immün yanıt vermez. Bu duruma “self tolerans” ya da “immün tolerans” denir (38). Self toleransın bozulması otoimmün hastalıklara sebep olabilir (38).

2.3. İmmünolojik tolerans

Bağışıklık sisteminde toleransa neden olan protein yapılı maddelere tolerojen, immün yanıt oluşturanlara ise immünojen denir. Spesifik bir antijen için reseptör taşıyan lenfositler bu antijen ile karşılaştıklarında üç durum görülür. Birinci durum, lenfositlerin aktivasyonu ve immün yanıt gelişmesidir (1). İkinci durumda lenfositler

inaktive kalır ya da öldürülürler ve bu tolerans ile sonuçlanır (tolerojenik antijen) (2). Üçüncü durumda ise antijene spesifik lenfositler herhangi bir cevap vermez, bu duruma yanıtızlık (ignorance) denir (7). Normalde self antijenler ya tolerojen ya da yanıtızdır. Lenfositlerin yanıtızlığı, tolerans ve aktivasyonu; antijenin kendisine, immün sistemdeki rolüne, antijene spesifik lenfositlere göre değişir ve aynı antijen bazen tolerans bazen de immün yanıt geliştirebilir (7,10,43,44). İmmün tolerans bir antijen üzerindeki bütün epitoplara karşı olabileceği gibi bazılarına karşı da olabilir ve tek bir antijene karşı tolerans B hücre, T hücre veya her ikisinde de görülebilir (2,9).

İmmünolojik tolerans, normal koşullarda antijene maruz kalan bireylerde immünolojik reaksiyon üreten antijenik yapılara karşı bazı bireylerde herhangi bir reaksiyon görülmemesi durumudur. Sağlıklı kişilerde bağışıklık sisteminin kendi antijenik yapılarına immün cevap oluşturmadağı (self tolerans) bilinmektedir (2). Organizmanın kendi antijenlerine ve normal flora üyelerine karşı bu toleransı bağışıklık sisteminin normal bir özelliği iken, yabancı antijenlere karşı oluşan tolerans ise , organizmanın bağışıklık sisteminin dışarıdan giren ve normal koşullarda antikor oluşumunu tetikleyen bakteri, virüs ve parazit kaynaklı protein yapıllı maddelere karşı yanıtız kalması durumu olup, “edinilmiş immünolojik tolerans” olarak adlandırılan ve nedeni kesin olarak bilinmeyen bir immün sistem bozukluğudur (2,9).

Lenfosit havuzları sürekli bir değişim içerisinde ve sürekli olarak yeni gelişen hücreler ile yenilenirler (44). Karmaşık immün yanıt süreçlerinin organizmaya zarar vermeden kontrollü bir şekilde yürütülebilmesi, zaman içerisinde değişen çevresel koşullara göre gelişmesi ve adaptasyonu ve immün toleransın düzenlenmesi için T ve B hücrelerin sürekli bir şekilde olgunlaşması ve kontrol süreçlerinden geçmesi gerekmektedir. Bu süreçlerde antijen sunan hücreler, T ve B regülatör hücreler önemli görevler üstlenirler (2,9). İmmün kabiliyetli konakçının kendi (self) antijenlerine karşı immün cevap geliştirmemesi olarak tanımlanan self tolerans, santral tolerans ve periferik tolerans olarak iki çeşittir (2,9).

2.3.1. Santral tolerans

İnvaziv patojenlere karşı bağışıklık tepkilerinin ve self antijenlere karşı bağışıklık toleransının karmaşık dengesi, otoimmün hastalıkların gelişimini önlemede çok önemlidir ve timus bu dengeyi kurmada ve sürdürmede merkezi bir rol oynar (44). Timusta santral bağışıklık toleransının indüklenmesi, otoimmüniteyi önlemek için gerekli bir mekanizma olan self antijenlere tepki veren T hücrelerinin ortadan kaldırılmasını içerir (44). T lenfositlerinin timusta olgunlaşma sürecinde, sadece yabancı antijenleri tanıyan T hücreleri perifere dağılırken, yabancı antijenlerle birlikte self antijenlere de reaksiyon veren T hücreler olgunlaşma sürecini tamamlayamaz ve yok edilirler (2). T hücreler kendi MHC moleküllerine bağlanarak timus içinde olgunlaşırlar. T hücrelerin self antijenler ile etkileşimi güçlü değilse, T hücresi hayatta kalır ve buna "pozitif seçim" denir. Eğer kendi antijenleri ile etkileşim çok güçlüyse süreç "negatif seçim" adı verilen programlanmış hücre ölümü (*apoptoz*) ile sonuçlanır (2,44). B lenfositler de kemik iliğindeki gelişimlerinin erken safhalarında B hücre reseptörü aracılığı ile self antijenlere karşı duyarsızlaştırılırlar (2). Yüzeylerinde otoreaktif antikorlar bulunan B hücreleri ise klonal silme (*delesyon*) denilen T hücrelere benzer bir negatif seçim süreci ile programlanmış hücre ölümüne (*apoptoz*) yönlendirilir ve ortadan kaldırılırlar, böylece santral B hücre toleransı oluşur (2).

2.3.2. Periferik tolerans:

Bu süreç çoğunlukla yetişkinlerde gerçekleşir. Bu mekanizma immün sistemin çevresel faktörlere aşırı yanıtlar vermesini önler (2). Periferik T hücresi toleransı, T hücresi aktivasyonunu önler veya belirli sinyal yollarını açarak bağışıklık tepkilerini kontrol eder. Timustaki delesyondan kaçan ve periferde gelişimini tamamlayan "self antijenlere karşı reaktif T hücreleri" periferik lenfoid organlarda klonal anerji (yüzey reseptörleri ile kendi cevaplılığının kısıtlanması) ya da düzenleyici T hücreleriyle efektör hücrelerin susturulması yolları ile kontrol altında tutulur ve bu şekilde periferik T hücre toleransı oluşur (2). Özetle, T hücresi inaktive edilirse bu işleme anerji, apoptoz süreci başlatılırsa buna T hücrelerinin periferik klonal delesyonu denir (2). Santral toleranstan kurtulan otoreaktif B hücreleri ise

benzer şekilde periferik lenfoid organlarda anerji denilen antijene yanıt vermeme durumu ile yani periferik B hücre toleransı ile kontrol altına alınırlar.

2.4. Otoantikolar ve Otoimmün Hastalıklar

Adaptif bağışıklık sistemi, yabancı peptitleri tanıma ve patojenlerle savaşma yeteneği ile virüs, bakteri veya mantar enfeksiyonlarına karşı koruma sağlar. Yabancı peptitleri tanımanın geniş yelpazesi, devriye gezen bağışıklık hücrelerinin yüksek reseptör çeşitliliğine bağlıdır. Bu reseptör çeşitliliği enfeksiyonları önlemek için önemlidir, ancak bu mekanizma aynı zamanda konakçının kendi peptitlerine tepki veren ve böylece otoimmün hastalıklara yol açan antikoların üretilme riskini de artırmaktadır (44). Otoantikolar organizmanın kendi antijenleri ile reaksiyona giren antikolardır ve hedef antijenlerin dağılım bölgelerine göre belirli dokularda tutulum gösterip otoimmün hastalıklara neden olabilirler (9,10). Serum ve diğer vücut sıvılarının laboratuvar incelemeleri ile saptanabilen bu antikolar çeşitli otoimmün hastalıkların tanısı, sınıflandırılması, klinik takibi ve tedavisinin planlanmasında önemlidir (9,45,46). Öyle ki, otoantikoların tanımlanması ve analizi bazı otoimmün hastalıkların takibinde uzun yıllardır teşhis aşamasının ve seyrinin önemli bir parçası olmuştur (24,45,46). Her hastane kendi laboratuvarında otoantikoların tayininde tercih etmeyi düşündüğü yöntemlerin üstünlük, yetersizlik ve kısıtlılıklarını tüm yönleriyle araştırıp, kendi bölgesinde sık görülen hastalıkları da kapsayacak şekilde en uygun tekniği seçmeye dikkat göstermelidir (15).

Otoimmün hastalıkların oluşmasını etkileyen faktörler arasında çevre koşulları, stres, hormonlar, immünolojik etmenler, genetik faktörler, enfeksiyonlar, radyasyon ve ilaçlar gibi birçok farklı etken yer alır (2,8–11,44). Otoimmün hastalıklar organa spesifik otoimmün hastalıklar ve sistemik otoimmün hastalıklar olmak üzere iki grupta incelenebilir (11). Organa özgü otoimmün hastalıklar vücuttaki belirli hedefleri etkilerken, sistemik hastalıklar birden fazla organı etkiler. Her iki tip otoimmün hastalık da aynı hastada, sırayla veya eş zamanlı olarak, karşılık gelen otoantijenlere karşı yönlendirilmiş otoantikoların varlığıyla sürdürülerek bir arada bulunabilir (11).

2.4.1 Organa spesifik otoimmün hastalıklar

Organa spesifik otoimmün hastalıklar doğrudan belirli bir organ ya da bezdeki antijenler hedeflenerek üretilen antikorlar ile “ilgili dokuda harabiyet oluşması” sonucu karşımıza çıkan hastalıklardır (11). Primer biliyer kolanjit, otoimmün hepatit, diabetes mellitus (tip 1), çölyak hastalığı, multipl skleroz, pemfigus vulgaris ve optik nörit gibi bazı hastalıklar bu grup hastalıklara örnek verilebilir (11,19,46).

2.4.2. Sistemik otoimmün hastalıklar

Sistemik otoimmün hastalıklar belirli organa özgü olmayan ve birçok doku ve organda bulunan antijenleri hedefleyen antikorların oluşturduğu harabiyeti tanımlar. RA, SSc, SLE, miks bağ dokusu hastalığı ve SjS bu grup hastalıklara örnek verilebilir (11,19,46). Bu hastalıklar genel olarak AARD olarak adlandırılırlar (19).

2.4.3. ANA ilişkili romatolojik hastalıklar

ANA'ların varlığına dair ilk kanıt yirminci yüzyılın ortalarında (1948) lupus eritematozus (LE) hücresi fenomeninin tanımlanmasıydı (47). Kemik iliğinde olgun polimorfonükleer lökositler tarafından sağlam çekirdeklerin fagositozuna dayanan klasik LE hücresi fenomeniyle birlikte, SLE hastalarının kemik iliğinin incelenmesi, çekirdeklerin yapışmasını ve olgunlaşmamış miyeloid hücreler tarafından fagositozu bulgusunu ortaya koydu. LE hücrelerinin tanımlanmasının ardından, 1957'de anti-DNA antikorlarının tanımlanması gerçekleşti. SLE üzerine yapılan bu çalışmalar sırasında ANA ilişkili İİF boyanma modelinin tanımlanması önemli bir dönüm noktası olmuştur (20). Bu gelişme ile 1970'lerde ve 1980'lerde daha fazla araştırmanın önünü açılmış ve ANA ile çeşitli otoimmün bozukluklar arasındaki bağlantılar doğrulanarak ve SLE'nin ötesine geçerek RA, SSc, SjS, inflamatuvar miyozitler ve çeşitli bağ dokusu hastalıkları gibi durumları da kapsayacak şekilde genişlemiştir (21,22). AARD olarak ele alınan bu hastalıklara ek olarak otoimmün hepatitler, otoimmün tiroditler, primer biliyer kolanjit, multipl skleroz ve idiyopatik trombositopenik purpura gibi çeşitli non-romatolojik otoimmün hastalıklarda da ANA otoantikor pozitifliği saptanabilmektedir (14,15,18,19,23). Sıklıkla düşük

pozitif düzeylerde olmak üzere genel popülasyonda sağlıklı kişilerin %7-50'sinde de ANA pozitifliği görülebilmekte (12-15) ve bu durum ANA pozitifliği ile beraber klinik değerlendirmelerin önemini ortaya koymaktadır.

2.5. Anti Nükleer Antikorlar (ANA)

Anti nükleer antikorlar, hücre çekirdeğindeki çeşitli nükleer antijenleri hedef alan otoantikorlardır (15). Sistemik romatolojik hastalıklarda serolojik ayırt edici özellikleri ile öne çıkan bu antikorlar nükleik asitler, hücre çekirdeği proteinleri, ribonükleoproteinler, enzimler, histonlar gibi çeşitli tipte nükleer antijenlere karşı yönlenebilirler (15,19). Otoimmün hastalıklarda hücrenin sitoplazmik organelleri, nükleer moleküller, zarla çevrili reseptörler veya diğer yapısal aparatlar gibi temel elemanlarını tanıyan geniş bir serum ve doku-yerleşik otoantikor repertuarı tanımlanmıştır (46). Bu nedenle, ANA terimi, bu tarihsel terimin, testin çekirdek dışındaki hücre kompartmanlarına karşı otoantikorları doğru bir şekilde yansıtması açısından bir karmaşa barındırmaktadır (19). Bu bağlamda, günümüzde "antinükleer antikor" terimini kullanmanın artık uygun olmadığı düşünülerek ve insan epidermoid larinks kanseri (Amerikan doku koleksiyonu CCL-23, HEp-2) hücre hattı ile İİF testinin anti-hücre antikorlarının belirlenmesi için bir araç olmasıyla bazı uzmanlarca alternatif bir terim olan "anti-hücre antikorları" teriminin kullanılması önerilmiştir (19). Genellikle immünoglobulin G (IgG) sınıfı antikorlardan oluşan ANA, İİF yöntemi ile floresans yoğunluğuna göre (titre) tespit edilip incelenmektedir (15,16). Bir veya daha fazla nükleer hücre antijenini hedef alan otoantikorların serolojik tespiti otoimmün hastalıkların, özellikle de romatolojik hastalıkların tanısına önemli katkı sunmaktadır. Yüksek titrede görülen ANA pozitifliği romatolojik hastalıklar açısından anlamlıdır (19), ancak test sonuçları klinik veriler ile birlikte değerlendirilmelidir. Negatif olarak değerlendirilen ANA sonuçları ise pratikte klinisyeni romatolojik hastalık tanısından uzaklaştırır. Toplumda yaygın görülen bazı otoimmün hastalıklarda ANA pozitiflik oranları Tablo 2.1'de sunulmuştur.

2.5.1. ANA tespitinde kullanılan teknikler

Günümüzde ANA pozitifliğini saptamak için birçok teknik bulunmaktadır. Bununla beraber, HEp-2 hücreleri kullanılarak çalışılan İİF antikor tekniği ANA varlığını saptamada en yaygın kullanılan altın standart yöntemdir (15,19). Floresan mikroskopik inceleme yapılabilen merkezlerde İİF temelli ANA tarama testleri romatolojik hastalıkların tanısında ilk basamak tanı testi olmuştur (15). Floresan mikroskopunda değerlendirme eğitilmiş ve deneyimli personel varlığını gerektirir. HEp-2 İİF sonuçlarını etkileyen faktörler arasında öznel görsel okuma, serum tarama seyreltmesi, substrat üretimi, mikroskop bileşenleri ve konjugat gibi birçok değişken vardır (19). Öznellik ve gözlemciler arası çeşitlilik (görsel mikroskop okuma ve patern tanıma, isimlendirme ataması) ve sonuçları etkileyen çok sayıda teknik değişkenin (örneğin, serum tarama seyreltmesi, substrat, sekonder konjugat) varlığı nedeniyle İİF sonuçlarının uyumlu hale getirilmesi zordur (19). ANA İİF tarama testinde substrat olarak genellikle kemirgen (maymun, sıçan, fare) karaciğer, böbrek, mide, doku kesitleri ve HEp-2 hücreleri kullanılmaktadır (17,19,46,48,49) Substrat olarak çok farklı doku kesitleri kullanılabilmesine rağmen genellikle HEp-2 hücreleri tercih edilmektedir (49). Çekirdeğinin büyük olması, hücre siklusunun her aşamasının gözlenebilir ve ekstrakte edilebilen antijenlerden 100'den fazlasının ifade edilebilmesi ve hücre elemanlarının kolaylıkla ayırt edilmesi HEp-2 hücrelerinin avantajlarından biridir (50). İİF dışında ANA varlığı ELİSA, immüno blot ve multipleks katı faz immünoassay gibi yöntemlerle de araştırılabilmektedir (17,51). Bu nedenle ANA İİF test sonuçları raporlanırken öncelikle çalışma yöntemi (İİF, ELİSA gibi), teste kullanılan substrat doku veya hücre ve ayrıca tarama dilüsyon titresi (1/100 veya 1/160 gibi) gibi detaylar belirtilmelidir (17,19). Kullanılan her bir yöntemin veya dilüsyon titresinin duyarlılığı değişebildiği için klinisyenlerin doğru değerlendirmeler yapabilmesinde bu detaylar önem arz etmektedir. Örneğin, ANA ELİSA'nın otoimmün bağ dokusu hastalıklarının tanınması ve tanısındaki performansının araştırıldığı ve ANA İİF ile karşılaştırıldığı bir çalışmaya 1457 hasta dahil edilmiş ve ANA ELİSA için $\geq 1,0$ kesme değeri ve ANA İİF için $\geq 1:80$ dilüsyon titresinde ANA İİF ve ANA ELİSA'nın duyarlılığı sırasıyla %63,3'e ve %74,8 olarak bulunmuştur (51). Raporlama sonucu laboratuvarın önerdiği sınır değere göre "negatif" veya "pozitif" olarak belirlendikten sonra, pozitif ANA İİF

sonucunun floresan şiddeti ve titresi mutlaka belirtilmelidir (19). Floresan şiddeti “(+), +, ++, +++, +++++” şeklinde kalitatif olarak belirtilmelidir (17). Otoantikolar farklı boyanma paternleri de gösterebilir ve bazı boyanma paternleri spesifik otoantikoların varlığını gösterebilir. Örneğin, histon, dsDNA ve/veya nükleozomlara karşı oluşan antikolar homojen boyanma tipi sergilerler. Bu nedenle ANA İİF raporlarında hücrenin boyanma paternleri de belirtilmeli ve örüntü tercihen Uluslararası ANA Paterni Konsensüsü Komitesi (*The International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns*, ICAP) terminolojisine göre raporlanmalıdır (19). En önemli floresan paternlerden bazıları homojen, granüler, sentromer gibi boyanmalardır (52). Bu paternler özellikle mitotik hücrelerde açıkça ayırt edilebilir. Bunların dışında, ANA testlerinde klinik örneklerin dilüsyon oranı da değerlendirmede kritik öneme sahiptir, kabul gören dilüsyon oranı 1/100 ve üzeridir, düşük dilüsyonlar yanlış pozitif sonuçlar şeklinde karşımıza çıkabilir (15). HEp-2 İİF ile ANA tespitinin 1:80 seyreltmede oldukça hassas, ancak düşük özgüllüğe sahip olduğu bildirilmektedir (19). Bunun dışında belirli hastalıklar için önerilen spesifik dilüsyon oranları bulunmaktadır. Pediatrik Romatoloji Uluslararası Denemeler Örgütü'nün yakın zamanda yayınladığı uluslararası bir konsensüste, juvenil idiyopatik artrit için yeni sınıflandırma kriterleri önerilmiştir ve bu konsensüste “erken başlangıçlı ANA pozitif juvenil idiyopatik artrit” erken başlangıçlı (≤ 6 yaş) artrit ve en az 3 ay arıyla HEp-2 İİF ile test edilen $\geq 1:160$ titreli iki pozitif ANA testinin varlığı olarak tanımlanmıştır (19). Nordal ve ark. (53), üveit için ANA öngörü değerinin artan titre ile arttığını, ancak duyarlılığın azaldığını bildirmiştir. Örneğin, 1:80 dilüsyon yüksek duyarlılığa sahipken 1:320 dilüsyon ise yüksek özgüllüğe sahip bulunmuştur.

Tablo 2.1. Yaygın görülen otoimmün hastalıklarda ANA pozitiflik oranları. KLİMUD Rehberi (17).

| Pozitif ANA sonucunun tam koydurucu etkisi | | ANA pozitiflik oranları (%) | |
|--|-------------------------------------|-----------------------------|--|
| <i>ANA tanıda çok yararlı</i> | | | |
| 1 | Sistemik lupus eritematozus | 90-95 | |
| 2 | Sistemik skleroz | 85-95 | |
| 3 | Primer biliyer siroz | 50-80 | |
| <i>ANA tanıda belli ölçüde yararlı</i> | | | |
| 4 | Polimiyozit / dermatomiyozit | 30-70 | |
| 5 | Sjögren sendromu | 50-70 | |
| <i>ANA kritik tanı kriterleri arasında</i> | | | |
| 6 | İlaca bağlı lupus | 70-90 | |
| 7 | Miks bağ dokusu hastalığı | 90-100 | |
| 8 | Otoimmün hepatit | 40-80 | |
| <i>ANA hastalık izlemi ve prognozda çok yararlı</i> | | | |
| 9 | Juvenil kronik artrit | 50-60 | |
| 10 | Raynaud fenomeni | 20-40 | |
| <i>ANA'nın hastalık tanısı, izlemi veya prognozda rolü yok veya henüz kanıtlanmamış</i> | | | |
| 11 | Romatoid artrit | 15-30 | |
| 12 | Multipl skleroz | 20-30 | |
| 13 | Otoimmün tiroid hastalıkları | 10-20 | |
| 14 | Enfeksiyon hastalıkları | 20-40 | |
| 15 | İdiyopatik trombositopenik purpura | 10-30 | |
| 16 | Fibromiyalji | 20-30 | |
| 17 | Kanser ve paraneoplastik sendromlar | 20-50 | |
| *Bağ dokusunun diğer sistemik tutulumu dahil. KLİMUD; Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği. | | | |

2.5.2. Ekstrakte edilebilir nükleer antijenler

ANA test pozitifliği olan kişilerde antikor pozitifliğinin doğrulanması ve otoantikor alt tiplerinin tanımlanması için ELİSA ve immünoblot testleri gibi ikinci basamak testler kullanılmaktadır (15,16). İkinci basamak subserolojik testlerde hedef antijeni tanımlamak için ENA (Extractable nuclear antigen) spesifik antikorların varlığı araştırılır (16). İmmünoblot yöntemi ile membran şeritlere aktarılan saflaştırılmış spesifik antijenler blotlama yöntemi ile tek tek ekstrakte edilmiş antikorları tespit edebilmektedir (15,16). Antikor titre takibi ise ELİSA yöntemi ile yapılabilmektedir (51).

Hastalığa spesifik anti-ENA antikorları otoimmün romatolojik hastalıklar arasındaki ayırma yardımcı olur. Romatolojik hastalıkların teşhis ve takibinde yaygın ve sık kullanılan anti-ENA'lar arasında anti-dsDNA, anti-Sm, mesajcı ribonükleik asit (mRNA) işlenmesinde görev alan SSA/Ro'ya karşı antikorlar, RNA polimeraz 3 kofaktörü olan SSB/La' ya karşı antikorlar, anti-RNP veya U1RNP (U1-ribonükleoproteini), anti-Scl-70 (sistemik skleroz-70kDa/antitopoizomeraz-1), anti-Jo-1 (histidil tRNA sentaz enzimi), anti-sentromer, anti-nükleozom ve anti-histon gibi otoantikorlar yer alır (16,19). Bu antikorların bazıları sistemik otoimmün hastalıkları işaret ederler (19). Yaygın görülen bazı sistemik ve organa özgü otoimmün hastalıklar ve ilişkili antijenler Tablo 2.2. ve Tablo 2.3'te sunulmuştur. Otoantikor sonuçlarının pozitifliği klinik bulgular ile birlikte değerlendirilmelidir (15,19,54). Klinik bulgusu olmayan ancak spesifik otoantikor pozitifliği olan hastaların ise uzun süreli takipleri önerilir (55).

Tablo 2.2. Yaygın görülen sistemik otoimmün hastalıklar ve ilişkili antijenler.

| Otoimmün hastalıklar | İlişkili otoantikorlar için hedef antijenler | |
|---|--|------------|
| <i>Sistemik otoimmün hastalıklar</i> | | |
| Romatoid artrit | IgG molekülü Fc kısımları, sitrülünleşmiş siklik peptitler, U1-nRNP, histon, ssDNA | (17) |
| Sistemik lupus eritematozus | dsDNA, histon, nükleozom, Sm, SSA, SSB, ribozomal P proteini, anti-U1-snRNP | (17,19,50) |
| Sistemik skleroz | Topoizomeraz 1 (Scl-70), PM-Scl, fibrillarin, RNA polimeraz I,II,III, sentromer (CENP-A, CENP-B ve CENP-C) | (17,54) |
| Sjögren sendromu | SSA, SSB, ssDNA | (17,19) |
| Polimiyozit / dermatomyozit | PM-Scl, Jo-1 (histidil tRNA sentaz), Mi-1, Mi-2 (DNA helikaz), SRP (sinyal tanıma partikülü) | (17) |
| Miks bağ dokusu hastalığı | U1-nRNP, ssDNA | (17) |
| Kısaltmalar için "Simge ve Kısaltmalar" dizinine bakınız. | | |

Tablo 2.3. Yaygın görülen organa özgü otoimmün hastalıklar ve ilişkili antijenler.

| Otoimmün hastalıklar | İlişkili otoantikörler için hedef antijenler | |
|---|--|---------|
| <i>Organa özgü otoimmün hastalıklar</i> | | |
| Tip 1 diabetes mellitus | Pankreas adacık hücresinde bulunan glutamat dekarboksilaz (GAD) ve tirozin fosfataz, insülin, preproinsülin | (17) |
| Hashimoto tiroiditi | Tiroperoksidaz (TPO) , tiroglobulin (Tg) | (17) |
| Graves hastalığı | Tiroid stimulan hormon (TSH) reseptörü | (17) |
| Addison hastalığı | 21- hidroksilaz | (17) |
| Goodpasture sendromu | Tip VI kollajen (glomerüler bazal membran) | (17) |
| Myastenia gravis | Asetil kolin reseptörü (AChR) | (17) |
| Multipl skleroz | Myelin proteinleri | (17) |
| Pernisiyöz anemi | İntrinsik faktör | (17) |
| Primer biliyer siroz (kolanjit) | Pirüvat dehidrojenaz, lamin B reseptör, nükleer por kompleks proteinleri (gp210), Anti-mitokondriyal antikörler | (17,54) |
| Tip 1 otoimmün hepatit | F- aktin | (17) |
| Tip 2 otoimmün hepatit | Sitokrom p450 (LKM-1: karaciğer böbrek mikrozomal 1), formimino transferaz siklodeaminaz (LC-1: karaciğer sitozolik-1) | (17) |
| Tip 3 otoimmün hepatit | UGA-süpresör-serin-tRNA ilişkili protein (SLA/LP: çözünebilir karaciğer antijeni/ karaciğer pankreas antijeni) | (17) |
| Crohn hastalığı | Pankreas asiner hücreleri, bazı bakteri peptitleri, maya hücre duvarında bulunan mannan | (17) |
| Çölyak hastalığı | Doku transglutaminaz (dTG) | (17) |
| Nöromiyelitis optika | Akuaporin -4 | (17) |
| Pemfigus vulgaris | Desmoglein -3 | (17) |
| Vitiligo | Melanosit spesifik tirozinaz, melanin konsantre edici hormon reseptörü (MCHR1), transkripsiyon faktörü SOX10 | (17) |
| Kısaltmalar için "Simge ve Kısaltmalar" dizinine bakınız. | | |

2.5.3. ANA tespitinde sorunlar ve çözümler

ANA İİF test sonucunun negatif olması durumunda otoantikör varlığının dışlanamadığı klinik olgular da vardır (56). Bu nedenle yüksek klinik şüphe varlığında ANA testinin negatif sonucu göz ardı edilerek doğrudan ikinci basamak testler olan anti-ENA testlerinin istenebileceği belirtilmektedir (16). Bu durumun bir nedeni HEp-2 hücrelerinin kullanıldığı İİF incelemelerinde anti-SSA (Sjögren sendromuyla ilişkili antijen A), anti ribozomal P (Rib-P) ve anti-Jo-1 antikörlerinin düşük ekspresyon seviyesi ve doku fiksasyon yöntemi nedeni ile denatüre olabilmesi nedeni ile yalancı negatif sonuçların görülebilmesidir (19). Örneğin, SSA etanol ya da metanol ile iyi tespit edilemez ve test ANA negatif olarak sonuçlanabilirken,

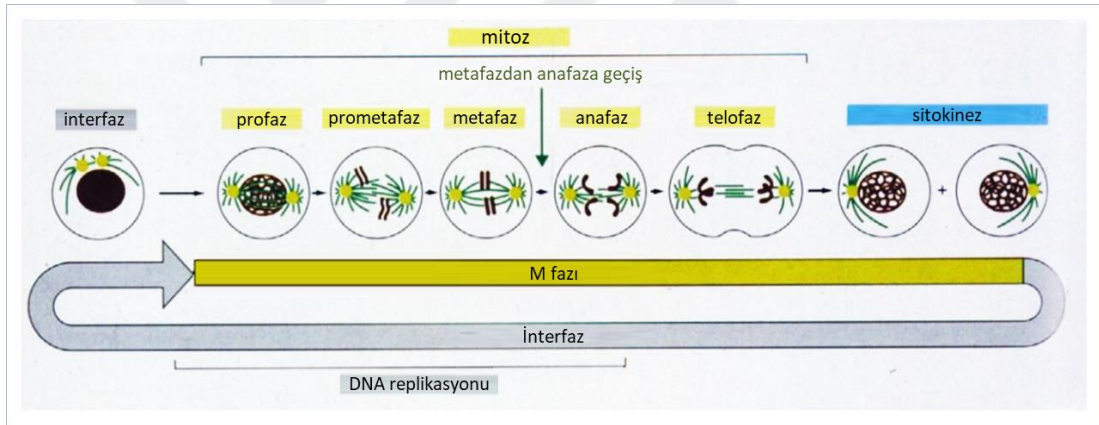
enzim immünoassay ya da immüno blot yöntemleriyle SSA antijeni pozitif bulunabilir. Bir diğer neden HEp-2 hücrelerinin İİF incelemelerinde paternlerin bazen birbirini örtmesi nedeniyle bazı antikoları saptamanın zor olmasıdır, örneğin bu durum anti-SSA, anti-Jo-1 ve anti-Rib-P antikolarının tespitinde sorunlara neden olabilir (19). Sonuç olarak, ANA İİF testi negatif olmasına rağmen ELİSA ya da immüno blot yöntemlerinde bazı antikolar pozitif bulunabilir.

HEp-2 hücrelerinde SSA/Ro60 antijeninin düşük ekspresyonu ve fiksasyon ve numune hazırlama sırasında antijenin çekirdekten difüzyonunun bildirilmesi nedeniyle oluşan duyarlılık sorununu çözebilmek adına SSA/Ro60 cDNA'sı ile transfekte edilmiş modifiye bir HEp-2 substratı olan HEp-2000 substratı geliştirilmiştir (19). HEp-2 hücre serileri ile benzer özellikte oldukları için diğer dokulara göre daha iyi standardizasyon sağlayan HEp-2000 hücreleri SSA/Ro60 antijeninin aşırı ekspresyonu ve interfaz hücrelerinin %10-20'sinde nükleolar boyanma ile karakteristik parlak benekli bir desene neden olur (bazen 'atipik benekli' veya SSA/Ro60 deseni olarak adlandırılır). HEp-2000 hücrelerindeki bu belirgin desenin oldukça spesifik olduğu ve dolayısıyla SSA/Ro60 antikolarının doğrudan tanımlanmasına olanak sağladığı gösterilmiştir (19). HEp-2000'in yanı sıra, modifiye edilmiş farklı hücresel substratlar da mevcuttur. HEp-20-10 substratında, mitotik hücrelerin oranını artırmak için hücre döngüsünün ilerlemesi manipüle edilmiştir (19). Bununla beraber, substrat tipleri arasındaki doğrudan karşılaştırma sonuçları çelişkilidir ve muhtemelen kitler arasındaki konjugat özgüllüğündeki (IgG'ye özgü veya değil) farklılıklar nedeniyle de belirsizdir (19).

2.6. ANA Boyanma Paternleri

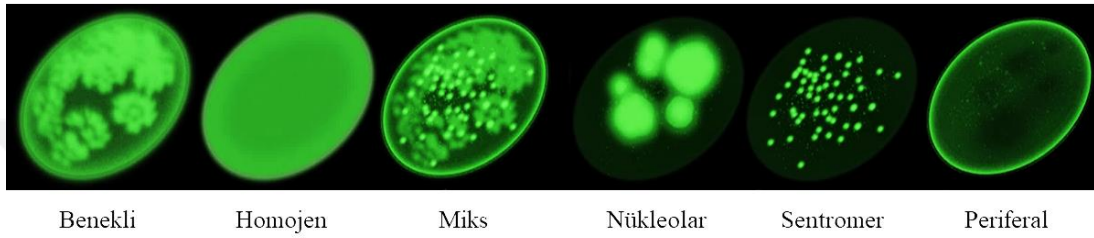
ANA boyanma paternleri farklı hücre substratlarında veya nükleer, sitoplazmik ve mitotik hedeflere göre özel görünüm sergiler (17,19,46,57). ANA İİF testinin mikroskopik değerlendirilmesinde hasta serumunda hücre siklusunun değişik aşamalarında oluşan mitotik antikoları saptayabiliriz. Antikoları doğru tanımlamak için hücre siklusunun aşamalarının iyi bilinmesi gereklidir. Hücre bölünme döngüsü interfaz, profaz, metafaz, anafaz ve telofaz aşamalarından oluşur (Şekil 2.1) (58,59). İnterfaz hücrenin bölünmeye hazırlandığı dönemdir. Bu evrede

DNA kendini eşler (S fazı), protein ve organel sayısı artar, adenozin trifosfat (ATP) sentezi hızlanır. Profaz aşamasında kromatinler yoğunlaşarak kromozomları oluşturur. Eşleşen sentrozomlar zıt kutuplara gider ve iğ iplikleri oluşmaya başlar. Kromozomlar, prometafazın başlangıcını işaret eden bir olay olan nükleer zarfın çözünmesiyle sitoplazmaya salınır. Metafaz evresinde iğ iplikleri kromozomlara tutunarak kromozomların mitotik iğ ipliğinin ekvatorial düzleminde hizalanmasını sağlayarak onları ayrışmaya hazır hale getirir. Anafaz evresinde ise kardeş kromatitler iğ iplikleri tarafından zıt kutuplara çekilir ve kardeş kromatitler birbirinden ayrılır. Hücre bölünmesinin son evresi olan telofaz evresinde kromozomlar etrafında çekirdek zarı oluşurken, bir taraftan da çekirdekçik formasyonu gerçekleşir. Kromozomlar tekrar çözülmeye ve iğ iplikleri kaybolmaya başlar ve hücre daha sonra sitoplazmik bölünme veya sitokinez yoluyla ikiye bölünür ve hücre bölünmesi tamamlanır (58,59).



Şekil 2.1. Ökaryotik hücre bölünmesinin mikroskop altında izlenen aşamaları, referans (58)'den modifiye edilmiştir. Nükleer bölünme (mitoz) ve hücre bölünmesinin (sitokinez) kolayca görülebilen süreçleri, toplu olarak M fazı olarak adlandırılır ve genellikle hücre döngüsünün yalnızca küçük bir bölümünü kaplar. Döngünün diğer, çok daha uzun olan kısmı interfaz olarak bilinir. Şekilde mitozun beş aşaması gösterilmiştir; metafazdan anafaza geçişte hücrenin biyokimyasal durumunda ani bir değişiklik meydana gelir. Hücre bu geçiş noktasından önce metafazda duraklayabilir, ancak nokta geçildikten sonra hücre mitozun sonuna ve sitokinez ile interfaza ilerler. DNA replikasyonu interfazda (S fazı) gerçekleşir.

ANA İİF mikroskopik incelenmesinde özellikle hücrenin metafaz ve interfaz evrelerindeki boyanma paternleri ve floresan şiddeti dikkatli incelenmelidir. İnterfaz aşaması hücrenin bölünmeye hazırlandığı metabolizmasının en hızlı olduğu, çok çeşitli antijenlerin ortaya çıktığı ve antijen üretiminin en çok olduğu evredir (58). Metafaz aşaması patern ayırt edilmesinde çok dikkatli incelenmesi gereken bir evredir ve homojen, benekli ve sentromer başta olmak üzere boyanma paternlerin ayırt edilmesinde oldukça önemlidir (52). İmmünfloresan mikroskopide izlenen major ANA paternleri Şekil 2.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. İmmünfloresan mikroskopide major antinükleer antikor paternleri (52).

ANA İİF morfolojik paternlerinin çeşitliliğine yönelik bir uzlaşmaya ulaşmak amacıyla çalıştay yapan ve ortak uzlaşma raporu yayınlayan uluslararası konsensus (ICAP) 2014-2015 uzlaşma raporunda “Yetkin kişi düzeyinde” paternleri nükleer, sitoplazmik ve mitotik olarak üçe ayırmış ve bu paternler anti-hücre kodu (*anti-cell*, AC) kodu ile numaralandırmıştır (57) (Bkz.; Tablo 2.4, Tablo 2.5 ve Tablo 2.6). Bu fikir birliği, model tanımı için iyi bir temeldir ve karşılık gelen alfanümerik AC kodu ile model adlarını, model tanımı için ana özelliklerin ayrıntılı bir tanımını, olası ilişkili otoantikor özgüllüklerini ve her bir HEp-2 modelinin klinik önemini içerir (19,60). Sentromer paterni (AC-3) hariç, bir HEp-2 paterni antikorun antijen özgüllüğünü güvenilir bir şekilde çıkarmak için kullanılamaz, çünkü aynı patern farklı antijen özgül antikorlardan da kaynaklanabilir. Bu nedenle ayırım yapabilmek için ikinci basamak testler olarak bilinen spesifik antikor tanımlama testlerine başvurulması önerilir (19). Belirli sitoplazmik paternler genellikle klinik açıdan önemlidir ve raporlanmalıdır. HEp-2 İİF paternlerinin raporlanması ve yorumlanması üzerine yakın zamanda yapılan büyük bir uluslararası araştırmada, sentromer (AC-3) ve homojen (AC-1) patern, nükleer kompetan paternlerin klinik önemi açısından en

yüksek puanları alırken (ardından benekli ve nükleolar patern), DFS paterni (AC-2) en düşük puanı almıştır. Sitoplazmik paternlerden ise retiküler/mitokondri benzeri (AC-21) patern klinik önem açısından en yüksek puanları alırken, polar/Golgi benzeri (AC-22) ve çubuklar ve halkalar (AC-23) paternleri en düşük puanları almıştır (19).

2.6.1. Nükleer (çekirdek) boyanma paternleri

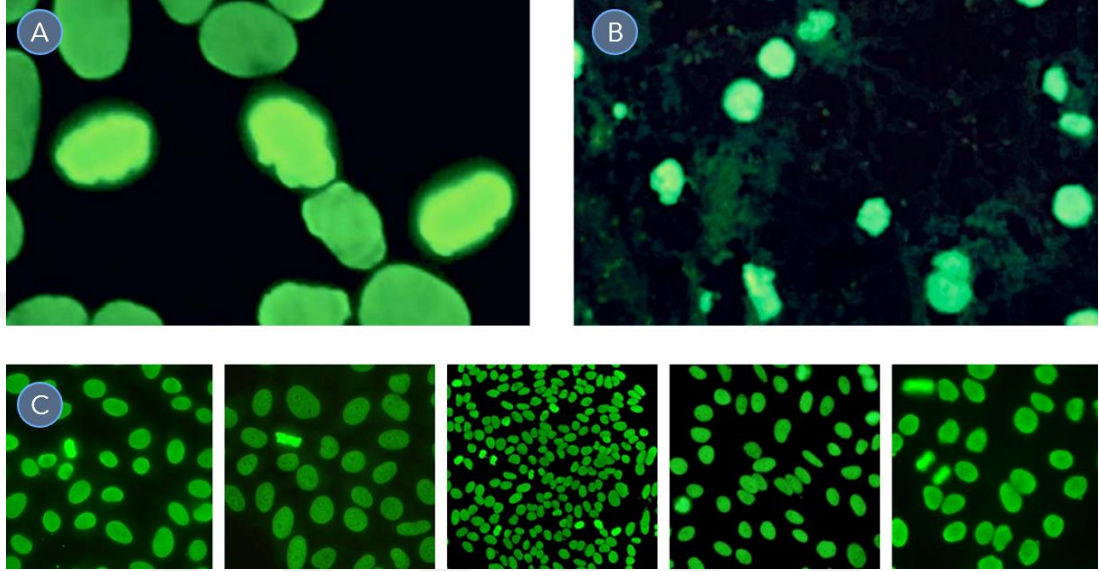
Nükleer boyanma paternleri ICAP tarafından atanan AC-1'den AC-14'e kadar olan boyanma paternlerini içerir, son olarak AC-29 paterni eklenmiştir (57).

Tablo 2.4. Nükleer ANA paternleri ve ilgili hedef antijenler.

| ANA paternleri | İlgili antijenler | Kaynaklar |
|---|---|---------------|
| <i>Nükleer paternler (ICAP kodu)</i> | | |
| Homojen patern (AC-1) | Kromatin/nükleozom (dsDNA, ssDNA, histon), Mi-2 | (17,50,54,57) |
| Yoğun ince benekli (anti-LEDGF/DFS70 benzeri) (AC-2) | DFS70/LEDGFp75 | (17,54,57) |
| Sentromer (AC-3) | CENP-A/B (C) [sentromer A/B (C)] | (17,50,54,57) |
| İnce benekli (AC-4) | SSA/Ro, SSB/La, Mi-2, TIF1 γ , TIF1 β , Ku, RNA helikaz A | (17,50,54,57) |
| Büyük(<i>large</i>)/kaba benekli (AC-5) | HnRNP, U1RNP, Sm (U2-nRNP), RNA polimeraz III | (17,50,54,57) |
| Çok sayıda nükleer noktalı (AC-6) | Sp-100, PML proteinleri, MJ/NXP-2 | (17,54,57) |
| Az sayıda nükleer noktalı (AC-7) | P80-coilin, SMN | (17,54,57) |
| Nükleolar homojen (AC-8) | PM-Scl-75, PM-Scl-100, Th/To, B23/nükleofosmin, nükleolin, No55/SC65 | (54,57) |
| Nükleolar küme (AC-9) | U3-snoRNP/fibrillarin | (54,57) |
| Nükleolar benekli (AC-10) | RNA polimeraz I, hUBF/NOR-90 | (54,57) |
| Pürüzsüz (<i>smooth</i>) nükleer membran (AC-11) | Lamin A,B ve C veya laminle ilişkili proteinler | (54,57) |
| Noktalı (<i>punctate</i>) nükleer membran (AC-12) | Nükleer gözenek (por) kompleks proteinleri (gp210, p62 nükleoporin, lamin B reseptör ve Tpr). | (54,57) |
| PCNA benzeri (AC-13) | PCNA | (54,57) |
| CENP-F benzeri (AC-14) | CENP-F | (54,57) |
| Topoizomeraz I benzeri (AC-29) | DNA-topoizomeraz/SCL-70 | (54,57) |
| Kısaltmalar için "Simge ve Kısaltmalar" dizinine bakınız. | | |

2.6.1.1. Homojen patern (AC-1)

Homojen patern (önceki adı diffüz patern); dsDNA, kromatin/nükleozom ve histon proteinlerine karşı otoantikörlerin varlığına işaret eder (57). SLE, juvenil idiopatik artrit, kronik otoimmün hepatit, gibi hastalıklarda tespit edilebilir (54,57).



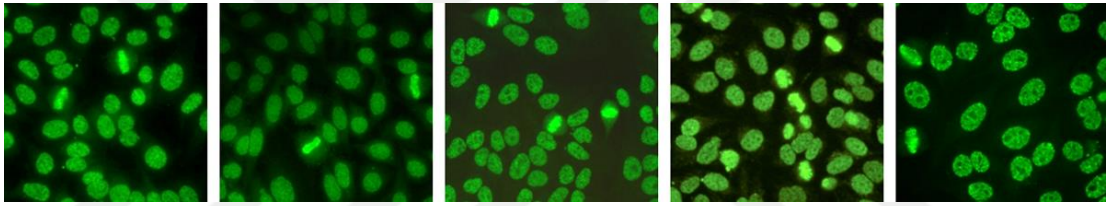
Şekil 2.3. Homojen patern (AC-1) (A) HEp-2 hücreleri hücre çekirdeklerinin homojen floresansı. Mitotik hücrelerin yoğunlaştırılmış kromozomları pozitifdir, kromozomları çevreleyen alan ise koyu renkli görünümlüdür. (B) Primat karaciğerinin substratında hücre çekirdeklerinin homojen, kısmen kaba ila ince kümelenmiş floresansı gözlemlenebilir (61). (C) Tüm nükleoplazmada homojen ve düzenli floresans izlenir. Nükleoller hücre substratına bağlı olarak boyanmış veya boyanmamış olabilir. Mitotik hücrelerde (metafaz, anafaz ve telofaz) kromatin kütlesi homojen hiyalin şeklinde yoğun boyanmıştır (57).

2.6.1.2. Yoğun ince benekli (anti-LEDGF/DFS70 benzeri) (AC-2)

Genellikle, görünüşte sağlıklı bireylerde veya sistemik otoimmün romatolojik hastalığı olmayan hastalarda HEp-2 İİF pozitifliği olarak bulunur (57). Anti-DFS70 antikörleri diğer antinükleer antikörlerden farklı olarak klinik hastalıklarla ilişkisi yönünden immünolojik bir paradoks olarak görülebilir. Diğer otoantikörlerin aksine, Anti-DFS70 antikörlerinin yüksek titrelerde ve izole olarak saptandığında, yani diğer antikörlere eşlik etmeksizin tek başına mevcut olduğunda, AARD'nin dışlanmasına

yardımcı olmak için yararlı bir marker olabileceğine dair artan kanıtlar bulunmaktadır (24,54). İzole anti-DFS70 pozitifliğinin dışladığı bağ dokusu hastalıkları arasında SLE, SSc, SjS, idiyopatik inflamatuvar miyopatiler ve miks bağ dokusu hastalığı gibi sistemik otoimmün hastalıklar yer alır (24).

Anti-DFS70 antikorlarının laboratuvar tespitinde, geleneksel HEp-2 İİF yöntemi ile DFS paterninin doğru bir şekilde tanınması bir zorluk olmaya devam etmektedir ve yüksek sıklıkta yanlış pozitifliğe meyillidir. Klinik laboratuvarlar günümüzde DFS70 antikorlarının tespiti için daha yüksek duyarlılığa sahip ticari testleri kullanmaktadır; bu testler arasında modifiye İİF analizleri, ELİSA, immüno blot testleri, çizgi veya nokta immünoassay testleri ve kemilüminesans immünoassay yöntemi gibi çok sayıda farklı yöntem yer almaktadır (24).

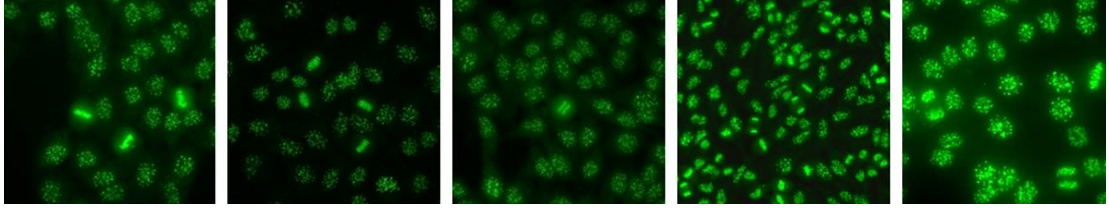


Şekil 2.4. Yoğun ince benekli (anti-LEDGF/DFS70 benzeri) patern (AC-2). Benekli desen, interfaz çekirdeği boyunca dağılmış, beneklerin boyutunda, parlaklığında ve dağılımında karakteristik bir heterojenlik izlenir. İnterfaz çekirdeği boyunca, bazı daha yoğun ve daha gevşek benek alanları vardır (çok karakteristik bir özellik). Metafaz plakası, bazı kaba beneklerin öne çıktığı güçlü benekli deseni tasvir ediyor (57).

2.6.1.3. Sentromer (AC-3)

Önceki isimlendirme; kinetokor. Genellikle sınırlı kutanöz SSc'li hastalarda bulunur ve bu nedenle SSc için sınıflandırma kriterlerine dahil edilmiştir. AC-3 paterni primer biliyer siroz, SjS ve SLE'li hastaların alt gruplarında da bildirilmiştir; bu hastalar hafif ve değişen düzeylerde SSc özellikleri de gösterirler. Sentromer proteini B'ye (CENP-B) karşı antikorlarla güçlü bir şekilde ilişkilidir; CENP-B antijeni birçok rutin çok analitli katı faz immünolojik test profilinde yer alır, özellikle düşük titrelerde, antijene özgü katı faz immünolojik test ile doğrulama önerilir (57).

CENP-A'ya karşı antikorlar bazı hastalığa özgü katı faz immünolojik analizlerde (yani SSc profili) tespit edilebilir. AC-3 paterni olan çoğu serum CENP-A ve CENP-B ile reaksiyona girer, nadir durumlarda AC-3 pozitif, ancak CENP-B negatif SSc hastalarının serumları anti-CENP-A antikorları için güçlü bir şekilde pozitif olabilir (57). Sınırlı kutanöz SSc ve SjS'li hastalarda ise CENP-C'ye karşı antikorlar bildirilmiştir (54,57).



Şekil 2.5. Sentromer boyanma paterni (AC-3). Ayırık kaba benekler (hücre başına 40-80) interfaz hücrelerinde dağılmış ve mitotik hücrelerdeki kromatin kütlelerinde hizalanmıştır. Örneğin, anti-CENP-B (57).

2.6.1.4. İnce benekli (AC-4)

Önceki isimlendirme; ince granüler. Bölünmesini tamamlamış istirahat halindeki hücrelerde tüm nükleoplazma boyunca ince minik benekler görülür. Nükleoller boyanmış veya boyanmamış olabilir. Mitotik hücrelerde (metafaz, anafaz ve telofaz) kromatin kütleleri boyanmamıştır. Bu paterne anti-SSA/Ro ve anti-SSB/La grubu antikorlar neden olabilir (57). Özellikle SjS, SLE, subakut kutanöz lupus eritematozus, neonatal lupus eritematozus, konjenital kalp bloğu, diabetes mellitus, SSc ve overlap sendromu hastalarında değişen derecelerde görülebilir (54,57).

2.6.1.5. Büyük(large)/kaba benekli (AC-5)

Önceki isimlendirme; *spliceozom*/nükleer matriks. Bölünmesini tamamlamış istirahat halindeki hücrelerin tüm nükleoplazmalarında kaba benekler görülür. Nükleoller boyalı veya boyanmamış olabilir. Mitotik hücrelerde (metafaz, anafaz ve telofaz) kromatin kütleleri boyanmamıştır. Bu paterne anti-Sm, anti-U1 RNP ve anti-RNA polimeraz III antikorları neden olabilir (54,57). Farklı sistemik otoimmün hastalıklarda, özellikle SLE, SSc, overlap sendromu ve miks bağ doku hastalığı olanlarda değişen derecelerde mevcuttur (54,57).

2.6.1.6. Çok sayıda nükleer noktalı (AC-6)

İstirahat halindeki HEp-2 hücrelerin nükleoplazmalarında hücre başına 6 ila 20 nükleer nokta görülür (57). Sp-100, PML proteinleri ve MJ/NXP-2 antijenlerine karşı oluşan otoantikörler bu paterne neden olabilir (54,57). Mitotik hücrenin kromatin kütlesi boyanmaz. Primer biliyer siroz, diabetes mellitus ve diğer inflamatuvar durumlar dahil olmak üzere geniş bir otoimmün hastalık yelpazesinde bulunur (54,57).

2.6.1.7. Az sayıda nükleer noktalı (AC-7)

İstirahat halindeki HEp-2 hücrelerinin nükleoplazmalarında ortalama 2-3 nokta (1 ila 6 noktaya kadar) şeklinde noktasal boyanma gözlenir (57). Bunlar Cajal cisimleri veya sarmal cisimler olarak bilinir. SMN (*survival of motor neurons protein*) ve p80-coilin antijenleri ile ilişkili olan bu paternde mitotik hücrelerde kromozom kütlesi boyanmaz (54,57). AC-7 paterni herhangi bir hastalık için düşük pozitif öngörü değerine sahiptir (54,57).

2.6.1.8. Nükleolar homojen (AC-8)

HEp-2 hücrelerinin nükleolusları homojen, nükleoplazmaları ise zayıf homojen veya benekli boyanırken, mitotik hücrelerde kromozom kütlesinde (metafaz plakası) boyanma izlenmez (57). Bu patern PM-Scl-75, PM-Scl-100, Th/To, B23/nükleofosmin, nükleolin, No55/SC65 proteinlerine karşı gelişen otoantikörler nedeni ile oluşabilir (54,57). SSc ve overlap sendromu gibi otoimmün hastalıklarda görülebilir (54,57).

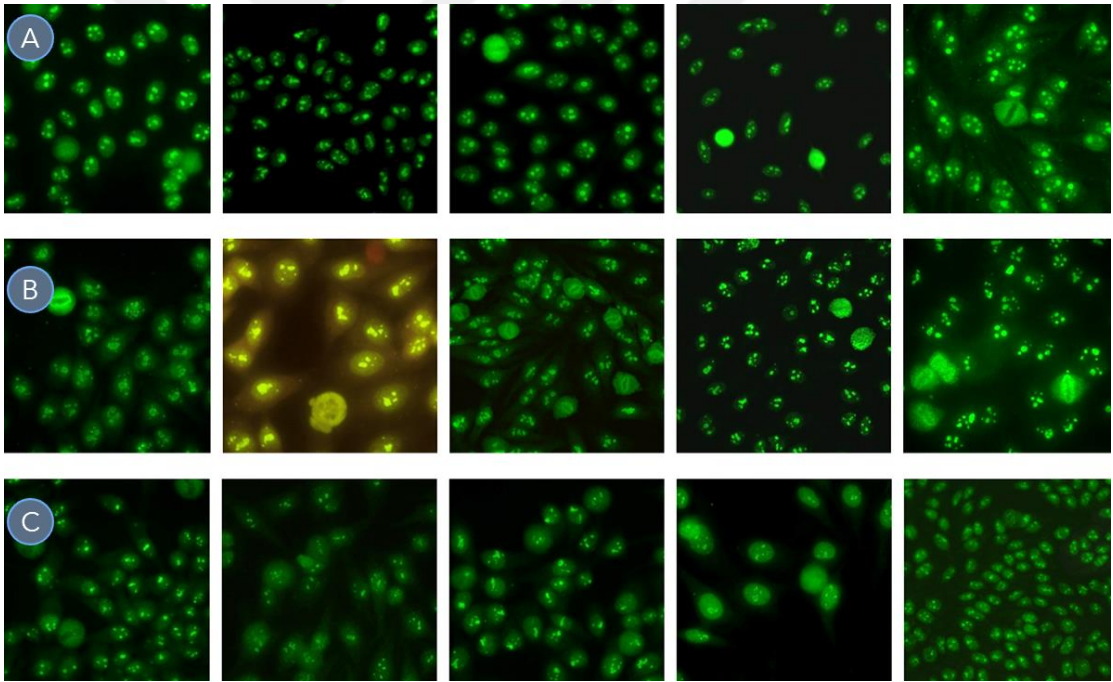
2.6.1.9. Nükleolar küme (AC-9)

İstirahat halindeki hücrelerin nükleolusları büyüklüğü ve şekli değişkenlik gösteren küme (*clumpy*) şeklinde boyanırken, mitotik hücre kromozom kütlesinde peri-kromozomal boyanma izlenir ve ek olarak Cajal cisimlerinin düzensiz boyanması ile karakterizedir (57). U3-snoRNP/fibrillar antijenlerine karşı oluşan antikörlerle ilişkili olan bu patern SSc hastalarında görülür (54,57). SSc hastaları

arasında anti-U3RNP/fibrilların antikorları en sık Afrika kökenli Amerikalı ve Latin Amerikalı hastalarda bulunur (57).

2.6.1.10. Nükleolar noktalı (*punctate nucleolar*) (AC-10)

Önceki isimlendirme; nükleolar benekli (*nucleolar speckled*). Bölünmesini tamamlamış istirahat halindeki hücrelerin nükleolusları belirgin benekli şekilde boyanırken, metafaz hücrelerinde kromatin kütesinde 5'e kadar parlak nükleolar düzenleyici bölge (*nucleolus organizer regions*, NOR) çifti görülebilir. Mitotik hücrelerin sitoplazması hafif pozitif olabilir (57). hUBF/NOR-90 ve RNA polimeraz I'e karşı oluşan otoantikorlar bu paterni oluşturabilir (54,57). AC-10 paterni SSc, Raynaud fenomeni, SjS ve kanser (hepatosellüler karsinom ve diğer maligniteler) dahil olmak üzere çeşitli koşullarda görülebilir (54,57).



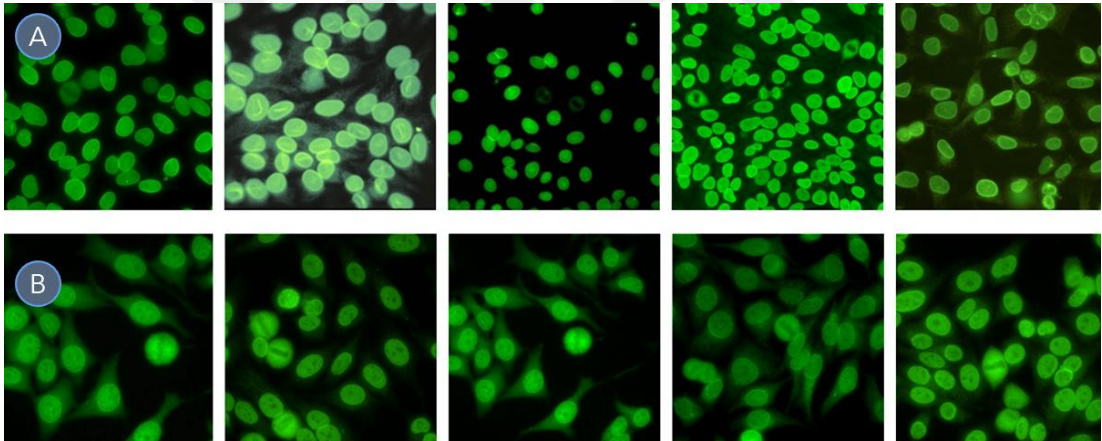
Şekil 2.6. Nükleolar boyanma paternleri (AC-8, AC-9, AC-10) (57). (A) Nükleolar homojen; tüm nükleolusun yaygın floresansı gözlenir, metafaz plakası boyanmaz. (B) Nükleolar küme; metafaz plaklarında peri-kromozomal boyanma ile nükleollerin ve Cajal cisimlerinin düzensiz boyanması. (C) Nükleolar noktalı (*punctate*); interfaz hücrelerinin nükleollerinde yoğun olarak dağılmış ancak belirgin benekler.

2.6.1.11. Pürüzsüz (*smooth*) nükleer membran (AC-11)

Önceki isimlendirme; nükleer rim, nükleer membran, membranöz. Lamin A, B ve C veya lamina ilişkili polipeptitler (*lamina-associated polypeptide*, LAP-2 gibi) bu paternle ilişkilidir (54,57). Otoimmün sitopeniler, otoimmün karaciğer hastalıkları, lineer skleroderma, antifosfolipit sendromu ve diğer sistemik otoimmün hastalıklarda tanımlanmıştır (54,57); klinik ilişkiler hakkındaki güncel bilgiler esas olarak vaka raporlarına ve küçük kohortlara dayanmaktadır (57).

2.6.1.12. Noktalı (*punctate*) nükleer membran (AC-12)

Önceki isimlendirme; nükleer membran porları. Primer biliyer sirozlu hastalarda ve diğer otoimmün karaciğer hastalıkları ve sistemik otoimmün hastalıkları olan hastalarda bulunmuştur (57). Nükleer por kompleks proteinleri (gp210, p62 nükleoporin, lamin B reseptör ve Tpr antijenleri) ile ilişkilidir (54,57).



Şekil 2.7. Nükleer membran paternleri (AC-11, AC-12) (A) Pürüzsüz (*smooth*) nükleer membran (AC-11); homojen boyanmış çekirdek (dış kenarında daha yoğun) ve metafaz ve anafaz kromatin plakalarında boyanma yok. Komşu hücrelerin birbirine değdiği noktalarda floresansın vurgulanması görünüyor. Örneğin, anti-lamin B. (B) Noktalı (*punctate*) nükleer membran (AC-12); Bitişik hücrelerin birbirine değdiği noktalarda floresansın vurgulanmasıyla birlikte, interfaz hücrelerinde noktasal bir boyanma izlenir. Metafaz ve anafaz kromatin plakalarında boyanma yok. Örneğin, anti-gp210. (57)

2.6.1.13. PCNA benzeri (AC-13)

Pleomorfik benekli nükleoplazmik boyanma. Beneklerin boyutunda ve parlaklığında değişkenlik görülebilir. İnterfazda bazı hücreler negatiftir (G1 fazı), bazıları ise yoğun şekilde boyanmıştır (S fazı) ve bazıları nadir ve dağınık benekler ve ara sıra nükleolar boyanma (geç S ve erken G2 fazları) sergiler (57). Mitotik hücreler ise boyanmaz. İlişkili antijen proliferatif hücre nükleer antijenidir (*proliferating cell nuclear antigen*, PCNA) (54,57). AC-13 paterni daha önce SLE için oldukça spesifik olarak kabul edilmişken, günümüzde bu özgülük tartışılmaktadır (54,57).

2.6.1.14. CENP-F benzeri (AC-14)

Önceki isimlendirme; MSA-3, NSp-II. Yoğunlukta çarpıcı değişkenliğe sahip nükleer benekli desen, en güçlü boyanma G2 fazında ve en zayıf/negatif boyanma G1 fazında izlenir (57). Sentromerler yalnızca prometafaz ve metafazda pozitiftir ve çok sayıda hizalanmış küçük ve soluk nokta ortaya çıkar. Prometafaz hücreleri sıklıkla nükleer zarfın zayıf boyanmasını gösterir. Anafaz ve telofaz sırasında bazı serumlar, yavru hücrelerin bölünmesinin gerçekleştiği orta bölgede (yani gövdenin ortası) bulunan halkada yoğun boyanma gösterir. Mitotik hücrelerin çevresindeki sitoplazma yaygın olarak boyanır. İlişkili antijen CENP-F'dir (57). AC-14 desenini gösteren serumların çoğu, çeşitli neoplastik rahatsızlıkları olan (meme, akciğer, kolon, lenfoma, yumurtalık ve beyin karsinomları) hastalardan alınmıştır (54,57); paradoksal olarak, bu malignitelere sahip hasta gruplarında AC-14 paterninin sıklığı düşüktür (57). AC-14 paterni ayrıca inflamatuvar durumlarda da görülür (Crohn hastalığı, otoimmün karaciğer hastalığı, SjS ve greft-versus-host hastalığı); klinik ilişkilerle ilgili güncel bilgiler esas olarak vaka raporlarına ve vaka serilerine dayanmaktadır (57).

2.6.1.15. DNA topoizomeraz I benzeri (AC-29)

Önceki isimlendirme Scl-70-benzeri, Scl-86, DNA topoizomeraz I benzeri. Topo I benzeri AC-29 paterni beş alt hücreyel bölgenin boyanmasını içerebilir (57). İnterfaz hücrelerinde belirgin ince benekli AC-4 tipi nükleer boyanma, mitotik

hücrelerde yoğunlaşmış kromatinin tutarlı güçlü ince benekli boyanması (kullanılan serum seyreltmesine bağlı olarak, mitotik kromatin boyanması homojen görünebilir), mitotik hücrelerde yoğunlaşmış kromozomlarla ilişkili güçlü NOR boyanması, interfaz (ve mitotik) hücrelerdeki zayıf sitoplazmik boyanma, interfaz hücrelerinde noktali nükleolar veya perinükleolar boyanma olarak görülebilen değişken nükleolar boyanma (nükleolar boyanma bu desenin evrensel bir özelliği değildir). AC-29 paterni, özellikle diffüz kutanöz SSc ve daha agresif SSc formları için oldukça spesifiktir. SSc'den klinik olarak şüpheleniliyorsa, anti-topoizomeraz I (eski adıyla Scl-70) antikoları için bir takip testi yapılması önerilir; anti-topoizomeraz I antikoları SSc için sınıflandırma kriterlerine dahil edilmiştir ve antijen rutin ENA profillerine dahil edilmiştir (57).

2.6.2. Sitoplazmik boyanma paternleri

Hücre sitoplazma boyanma paternleri veya sitoplazmik paternler ICAP tarafından atanan AC-15'ten AC-23'e kadar olan boyanma paternlerini içerir (57).

2.6.2.1. Sitoplazmik fibriller lineer (AC-15)

Önceki isimlendirme; aktin benzeri patern. Bu patern, sitoplazmada hücrenin uzunluğu boyunca bazen küçük, kesikli granüler birikintilerle dekore sitoskeletal liflerin boyanması karakterize edilir (57). Tipik boyanma, hücrelerin uzun eksenini kaplayan çizgili aktin filamentlerini gösterir. Aktin ve kas dışı miyozine karşı antikor gelişir (57). Otoimmün hepatit tip 1, kronik hepatit C virüsü enfeksiyonu ve çölyak hastalığı (IgA izotipi) olan hastalarda bulunur; sistemik otoimmün hastalıklarda ise nadirdir (54,57).

Tablo 2.5. Sitoplazmik ANA paternleri ve ilgili hedef antijenler.

| ANA paternleri | İlgili antijenler | Kaynaklar |
|---|---|------------|
| <i>Sitoplazmik paternler (ICAP kodu)</i> | | |
| Sitoplazmik fibriller lineer (AC-15) | F-aktin, kas dışı miyozin | (54,57) |
| Sitoplazmik fibriller filamentöz (AC-16) | Vimentin, sitokeratinler, tropomiyozin | (54,57) |
| Sitoplazmik fibriller segmental (AC-17) | Alfa-aktinin, vinculin | (54,57) |
| Sitoplazmik ayırık noktalar (AC-18) | GW182, Su/Ago2 | (54,57) |
| Sitoplazmik yoğun ince benekli (AC-19) | PL-7, PL-12, ribozomal P proteinleri | (17,54,57) |
| Sitoplazmik ince benekli (AC-20) | Jo-1 (histidil-tRNA sentaz) | (17,54,57) |
| Sitoplazmik retiküler/AMA (AC-21) | Mitokondrial yapılar: PDC-E2/M2, BCOADC-E2, OGDC-E2, E1 α subunit of PDC, E3BP/protein X | (17,54,57) |
| Polar/Golgi benzeri (AC-22) | Golgi yapıları: Giantin/makrogolgin, golgin-95/GM130, golgin-160, golgin-97, golgin-245 | (17,54,57) |
| Çubuklar ve halkalar (<i>rods and rings</i>) (AC-23) | IMPDH2 | (54,57) |
| Kısaltmalar için “Simge ve Kısaltmalar” dizinine bakınız. | | |

2.6.2.2. Sitoplazmik fibriller filamentöz (AC-16)

Hücrenin nükleer kenarından yayılan mikrotübüller ve ara filamentler boyanır (57). Anti-sitokeratin, anti-vimentin ve anti-tropomiyozin antikorumları ile ilişkilidir. Anti-vimentin, antikor varlığında sitoplazmada ince fibrillerden oluşan bir ağ şekline ve hücre nükleusuna yakın bölümlerde daha yoğun olarak görünür. Metafaz evresinde kromozom kütleleri boyanmaz, ancak hücrelerin kromozom alanı dışında çok sayıda parlak damlacıklar görülür (57). Özel bir hastalıkla ilişkilendirilmemiştir (54,57).

2.6.2.3. Sitoplazmik fibriller segmental (AC-17)

Stres lifleri boyunca kısa segmentlerin, periyodik yoğun gövdelerin gelişmiş dekorasyonunu içerir. Anti-alfa-aktinin ve anti-vinculin antikorumları ile ilişkilidir. Rutin serolojik tanı ortamında çok nadiren bulunur (57). SLE, otoimmün hepatit tip I, kronik inflamatuvar demiyelinizan nöropati hastalarında bulunabilir (54,57).

2.6.2.4. Sitoplazmik ayrık noktalar (AC-18)

Sitoplazma geneline dağılmış ince benekli ya da kaba damlacık şeklinde görülür. Geç S/G2 dönem hücrelerinde yüksek sayılara sahip interfaz hücrelerinin sitoplazmasındaki GW cisimciklerinin (GW-182 antijeni) boyanması ile ilişkilidir. Lizozom organel membranına karşı antikolar nedeni ile oluştuğu belirtilir, ancak bu paterni destekleyen moleküler kanıtlar tartışmalıdır. Herhangi bir hastalık ile ilişkilendirilmemiştir. Sağlıklı bireylerde de rastlanabilmektedir (57).

2.6.2.5. Sitoplazmik yoğun ince benekli (AC-19)

Önceki isimlendirme; sitoplazmik homojen patern. Sitoplazmanın her tarafında yoğun ince benekli, bulanık ve neredeyse homojen pürüzsüz boyanma (perinükleer alanda daha şiddetli) izlenir (57). PL-7 (treonil-tRNA), PL-12 (alanil-tRNA) ve Rib-P'ye karşı antikolarla ilişkilidir (54,57). Poliartrit, anti-sentetaz sendromu, SLE, interstisyel akciğer hastalığı, Raynaud fenomeni gibi hastalıklarda görülebilir (54,57).

2.6.2.6. Sitoplazmik ince benekli (AC-20)

Önceki isimlendirme; sitoplazmik benekli patern. Sitoplazmada çoğunlukla homojen ya da yoğun ince benekli, hücrenin nükleusunda da görülebilen dağınık küçük benekler olarak görülür (57). Bu paterni anti-Jo-1 antikoları oluşturur (54,57). Anti-sentetaz sendromu, SSc, SLE, Raynaud sendromu, poliartrit, polimiyozit, interstisyel akciğer fibrozisi gibi hastalıklarda görülebilir (54,57).

2.6.2.7. Sitoplazmik retiküler/AMA (AC-21)

Önceki isimlendirme; mitokondri benzeri. Sitoplazma boyunca uzanan kaba benekli, nükleus çevresinde daha yoğun düzensiz filamentöz görüntü oluşturabilen bir boyanmadır. Anti-mitokondriyal antikolarla (en sık AMA-M2) ilişkilidir (57). Primer biliyer kolanjit, SSc, overlap sendromu, ilaca bağlı lupus hastalarında görülür (54,57).

2.6.2.8. Polar/Golgi benzeri (AC-22)

Sitoplazmada nükleusun hemen yanında polar dağılımlı kesikli benekli tipte kutupsal bir boyanmadır (57). Golgi kompleksi proteinlerine (giantin/makrogolgin, golgin-95/GM130, golgin-160, golgin-97, golgin-245) karşı antikolar oluşmuştur (54,57). Çeşitli rahatsızlıklara (SjS, SLE, RA, mik s bağ dokusu hastalığı, erişkin başlangıçlı Still hastalığı, viral enfeksiyonlar) sahip az sayıda hastada bulunmuştur (54,57). Bununla beraber, hastalıklarla ilişkisi azdır (57).

2.6.2.9. Çubuklar ve halkalar (rods and rings) (AC-23)

İnterfaz hücrelerinin sitoplazmasında belirgin çubuk ve halka yapıları şeklinde boyanma görülür (57). Çekirdekte de daha küçük çubuklar ve halkalar rapor edilmiştir. IMPDH2 antijenlerine karşı gelişen antikolarla ilişkilidir (57). En sık olarak kombine pegile interferon- α /ribavirin tedavisi görmüş hepatit C hastalarında görülür (54,57).

2.6.3. Mitotik boyanma paternleri

Mitotik paternler ICAP tarafından atanan AC-24'ten AC-28'e kadar olan boyanma paternlerini içerir (57).

Tablo 2.6. Mitotik ANA paternleri ve ilgili hedef antijenler.

| ANA paternleri | İlgili antijenler | Kaynaklar |
|---|--|------------|
| <i>Mitotik paternler (ICAP kodu)</i> | | |
| Sentrozom (AC-24) | Perisentrin, ninein, CEP250, CEP110 | (17,54,57) |
| İğsi (<i>spindle</i>) fiberler (AC-25) | HsEg5 | (54,57) |
| NuMA benzeri (AC-26) | NuMA | (54,57) |
| İntersellüler köprü (AC-27) | CENP-E, CENP-F, TD60, MSA36, KIF-14, MKLP-1, MPP1/KIF20B | (54) |
| Mitotik kromozomal (AC-28) | Modifiye histon H3, MCA-1 | (54,57) |
| Kısaltmalar için "Simge ve Kısaltmalar" dizinine bakınız. | | |

2.6.3.1. Sentrozom (AC-24)

Önceki isimlendirme; sentriyoller. İstirahat halindeki hücre sitoplazmalarında interfaz evresinde 1-2 nokta, mitotik hücre iğ iplikçiklerinin kutuplarında iki nokta şeklinde görülür (57). HEp-2 hücrelerinin çekirdek kromatinleri boyanır. Perisentrin, ninein, CEP250, CEP110 antijenlerine karşı oluşan antikolar ile ilişkilidir (54,57). AC-24 paterni herhangi bir hastalık için düşük pozitif öngörü değerine sahiptir. Raynaud fenomeni, lokalize skleroderma, SSc, SLE ve RA hastalarında tek başına veya diğer SSc ile ilişkili antikolarla kombinasyon halinde bulunur (54,57).

2.6.3.2. İğsi (spindle) fiberler (AC-25)

Kutuplar arasındaki iğ iplikleri mitotik hücrelerde boyanmıştır ve mitotik kutupların koni biçimli dekorasyonu ile ilişkilidir (57). HsEg5 antijenine karşı oluşan antikolar ile ilişkilidir (54,57). AC-25 modelinin herhangi bir hastalık için düşük pozitif öngörü değeri vardır (54,57).

2.6.3.3. NuMA benzeri (AC-26)

Önceki isimlendirme; MSA-1, sentrofilin. İğ iplikleri ile nükleer benekli boyanma görülür. NuMA antijenine karşı antikor oluşur. AC-26 paterni olan hastaların yaklaşık yarısında SjS, SLE, sınırlı SSc veya RA klinik özellikleri görülür; AC-26 paterni organa özgü otoimmün hastalıkları olan hastalarda ve daha az sıklıkla özellikle düşük titrede olduğunda otoimmün olmayan koşullarda da görülür (57).

2.6.3.4. İntersellüler köprü (AC-27)

Önceki isimlendirme; stem body, midbody. Hücre bölünmesinin sonunda, ancak hücre ayrılmasından önce, yavru hücreleri birbirine bağlayan hücreler arası köprünün boyanması söz konusudur. AC-27 modelinin herhangi bir hastalık için düşük pozitif öngörü değeri vardır (57). Çok nadir olmakla beraber SSc, SLE, Raynaud fenomeni ve malignitelerde görülebilir (54).

2.6.3.5. Mitotik kromozomal (AC-28)

Önceki isimlendirme; kromozom kaplama proteini, bölünen hücre antijeni, MCA (mitotik kromozom otoantijeni). Profaz ve metafazdaki kromozomların noktasal boyanması izlenir, interfaz hücrelerinde ise boyanma olmaz. Modifiye edilmiş histon H3 ve MCA-1 ile ilişkilidir. AC-28 paterninin herhangi bir hastalık için düşük pozitif öngörü değeri vardır (57).





3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Çalışma Onayları

Çalışma Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulundan 27.02.2024 tarih ve 2024-95 (46418926) sayılı karar ile etik kurul onayı alındıktan sonra Helsinki Deklarasyonuna uygun olarak yürütüldü.

3.2. Hasta Grubu

Bu çalışmaya, 2022-2023 yıllarını kapsayan iki yıllık dönemde Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Temel İmmünoloji Laboratuvarına başta romatoloji, iç hastalıkları ve gastroenteroloji kliniği olmak üzere çeşitli kliniklerden ANA testi istenen, hasta bilgilerine ulaşılabilen ve 18 yaş üstü hastalar dahil edildi. Hastaların klinik tanı veya eşlik eden hastalık gibi demografik verileri, istem yapan klinikler ve test sonuçları hastane laboratuvar bilgi yönetim sistemi (LBYS) üzerinden alınarak retrospektif olarak incelendi. Çalışmamıza 2173 kadın ve 609 erkek olmak üzere toplam 2782 farklı hastadan alınan serum örneği dahil edildi.

3.3. Yöntemler

ANA testi istenen hastaların serum örneklerinin ANA İİF yöntemi ile immün floresan mikroskopik değerlendirmesi ve line immünoblot assay (LIA) yöntemi ile çeşitli otoantikörlerin varlığı yönünden incelenmesi laboratuvarımızda rutin olarak çalışılmaktadır. Bu çalışmada erişkin hastalara ait ANA İİF mikroskopik bulguları ve immünoblot assay test sonuçları LBYS kayıtlarından retrospektif olarak alındı ve sonuçların karşılaştırmalı analizleri yapıldı. Anti-DFS70 antikörlerinin yanı sıra anti-SSA, anti-SSB, anti-Sm D1, anti-Scl 70, anti-Jo1, anti-RNP, anti-Rib-P, anti nükleozom, anti sentromer gibi line blot assay parametresinde yer alan antikörlerin varlığı incelendi. Çalışma kapsamında hastaların demografik verileri, istek yapan klinikler ve eşlik eden hastalıklar hastane bilgi sisteminden alınarak kaydedildi.

3.3.1 ANA İİF Yöntemi

ANA testleri, substrat olarak HEp-2 hücreleri ve maymun karaciğer dokusu içeren özel olarak tasarlanmış slaytlar olan HEp-20-10/Karaciğer (maymun mozaiği) (Euroimmun AG Lübeck, Almanya) içeren kitler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Test aşamaları şu şekilde yürütülmüştür: Serum örneklerinin 1:100 oranında tarama dilüsyonu yapıldıktan sonra özel tekniklerle üretilmiş olan kuyucuklara seyreltilmiş hasta serumları inkübe edildi. Tampon solüsyonu ile yıkandıktan sonra reaksiyon pozitif ise spesifik antikorlar ilgili antijene bağlanmaktadır. İkinci aşamada, eklenen FITC-H (floresan izotiyosiyanat) işaretli anti-human antikorları ile boyanarak tekrar inkübasyon ve yıkama yapıldı. Devamında slayt üzerine gliserol damlatılarak uygun lamel ile kapatıldı. Böylece incelenecek örneklerdeki antikorlar floresan mikroskobu ile görünür hale getirilmiş oldu. Üretici firma önerileri doğrultusunda hazırlanılan preparatların İİF antikor metodu ile 20× ve 40× büyütmelemlerde floresan mikroskop (EUROStar 1, Euroimmun AG, Almanya) altında incelenmesi ve değerlendirilmesi ile testler yarı kantitatif (+, ++, +++, +++) olarak sonuçlandırıldı.

ANA İİF testinin çalışma prosedürü

1. Reaktiflerin hazırlanması ve stabilitesi: İlk defa açıldıktan sonra, reaktifler buzdolabında (+2°C ile +8°C) aksi bir durum olmadığı takdirde son kullanma tarihine kadar stabil kalmaktadır.
2. Slaytlar: Kit içerisinde kullanıma hazır olarak sunulan slaytlar koruyucu ambalajdan çıkarıldı ve numaralandırıldı.
3. PBS-Tween: Kit içerisinde bulunan PBS (Fosfat Tuz Tamponu), 1 litre distile su ile çözülerek, 2 ml Tween 20 ile homojenleşene kadar karıştırıldı. Bu solüsyon örnek seyreltme ve yıkama aşamalarında kullanıldı.
4. Örneklerin hazırlanması: Analiz edilecek hasta örnekleri (serum veya plazma) +2°C ile +8°C arasında 14 güne kadar saklandı.

Testin çalışması manuel olabildiği gibi cihaz ile de çalışılabilmektedir. Çalışma listesi hazırlandı ve dilüsyon yapılacak tüpler numaralandırıldı. Manuel

çalışmada kalitatif değerlendirme için örnekler PBS-Tween 20 içerisinde 1:100 oranında seyreltildi. Pipetleme öncesinde 4 saniye vortekslenildi (örneğin, 10,1 µl örneği 1000 µl PBS-Tween içerisinde seyreltilir ve iyice karıştırılarak 4 saniye vortekslenir).

5. Pipetleme: Her bir örnek çalışma listesine uygun olarak hava kabarcığı oluşturmadan 30 µl seyreltilmiş örnek pipetlendi.

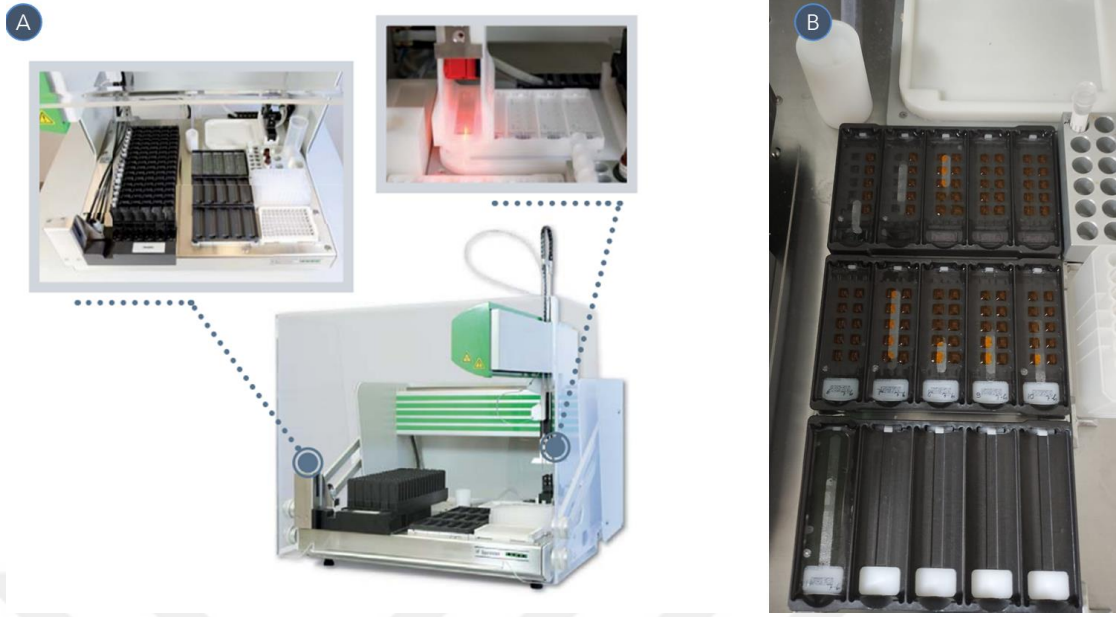
6. İnkübasyon: Slaytlar pipetlenen seyreltilmiş örneklere tam temas ettirilerek kapatıldı. Oda ısısında (+18°C ile +25°C) 30 dakika inkübe edildi.

7. Yıkama: Slaytlar, PBS-Tween ile yıkandı ve 5 dakika süre ile bu solüsyon içinde bekletildi.

8. Pipetleme: Her bir örneğin bulunduğu kuyucuğa 25 µl floresan ile işaretlenmiş anti-human IgG (konjugat) pipetlendi. Slaytlar uygun şekilde hava kabarcığı oluşturmadan kapatıldı ve güneş ışığına direkt maruz bırakılmaksızın 30 dakika inkübe edildi.

9. Yıkama: Slaytlar PBS-Tween ile yıkandı ve 5 dakika bu solüsyon içinde bekletildi. Yıkama işlemi biten slaytların sadece arka yüzeyleri silinerek gliserol damlatılmış lameller üzerine hava kabarcığı oluşmayacak şekilde kapatıldı.

Slaytlar mikroskopik değerlendirme işlemine kadar +2°C ile +8°C'de "direkt ışık" almayacak şekilde bekletildi. Laboratuvarımızda IF Sprinter IIIFT cihazı (Euroimmun AG, Lübeck, Almanya) ile çalışmada kullanılan solüsyonlar üretici firma talimatına göre uygun pozisyonlara yerleştirildi. Hasta serumları ayrılarak cihazdaki uygun pozisyona barkod okuyucu ile okutuldu. Cihaz çalışma aşamaları prosedüre göre gerçekleştirdi. Çalışma sonunda slaytlar gliserol damlatılmış lamel üzerine kapatıldı. Slaytlar mikroskopik değerlendirme için +2°C ile +8°C'de "direkt ışık" görmeyecek şekilde bekletildi.



Şekil 3.1. IF Sprinter IIFT cihazı. (A) IF Sprinter (Euroimmun AG, Lübeck, Almanya). (B) IF sprinter cihazında IgG konjugat damlatılmış inkübasyon aşaması.

3.3.2. Floresan mikroskop değerlendirmesi

ANA İİF için hazırlanan slaytlar 20× ve 40× objektifli floresan mikroskop (EUROStar I, Euroimmun AG, Almanya) ile değerlendirildi. İİF tekniği ile çalışılan slaytlar mikroskopta boyanma paternlerine göre değerlendirildi. ANA İİF slaytları negatif ve pozitiflik açısından incelendi. Negatif örnekler hücre çekirdekleri ve sitoplazmalarında spesifik floresan göstermezler. Pozitif örneklerde ise spesifik paternlerle karakterize çekirdek ve/veya sitoplazma boyanma paternleri gözlenir. ANA İİF slaytlarındaki paternler; nükleer, sitoplazmik ve mitotik paternler olarak değerlendirildi ve raporlandı. Raporlamada; çalışılan yöntem, floresan paterni ve şiddeti belirtildi. Mikroskopik görüntünün floresan şiddetine göre sonuçlar “(+), +, ++, +++, +++++” şeklinde raporlandı. 1/100 tarama dilüsyonunda ANA pozitiflik ve titreleri; <1/100 Negatif; 1/100 (+) Zayıf Pozitif; 1/320 ++; 1/1000 +++; 1/3200 +++++ olacak şekilde değerlendirildi.

3.3.3. ANA profil immüno blot yöntemi

ANA pozitifliği saptanan tüm hasta örnekleri spesifik otoantikör alt tiplerinin tanımlanması için immüno blot yöntemi ile yeniden test edildi. Kit içerisinde

membrana emdirilmiş yüksek oranda saflaştırılmış antijenlerle birbirine paralel çizgiler şeklinde farklı tekniklerle kaplanmış stripler (şeritler) bulunmaktadır. Antijen antikör birleşmesi ve oluşan reaksiyonun katı fazda nitroselüloz membran üzerinde bir renk değişimi oluşturması prensibi ile çalışan immüno blot testi için EUROLİNE ANA profili et Mİ-2, Ku, DFS70, (IgG) (Euroimmun, Lübeck, Almanya) kiti kullanıldı ve tüm test aşamaları üretici firmanın talimatlarına göre yürütüldü.

İmmüno blot test prosedürü

1. Reaktiflerin hazırlanması: Tüm reaktifler ve hasta örnekleri kullanımdan 30-40 dakika önce oda sıcaklığına (+18°C ile +25°C) kadar gelmesi için buzdolabının içinden çıkarıldı. Açılmamış reaktifler son kullanma tarihine kadar +2°C ile +8°C aralığında stabil kalır. Açılan reaktifler ise 12 ay stabil kalır.

2. Strip: Kullanıma hazır stripler tek kullanımlık küvet içerisine membrana dokunmadan yerleştirildi.

3. Enzim Konjugat: Konsantre reaktif, kit talimatına göre 1:10 oranında seyreltildi. Her strip için 1 ml yıkama tamponu ve 9 ml distile su kullanıldı. Hazırlanan çözelti gün içerisinde kullanıldı.

4. Numune Tamponu: Kullanıma hazırdır.

5. Yıkama Tampon çözeltisi: Konsantre reaktif 1:10 oranında distile su ile seyreltildi ve aynı gün içinde kullanıldı.

6. Substrat Solüsyonu: Kullanıma hazır solüsyon ışığa duyarlı olduğu için koyu renkli reaktif şişesine konulup ağzı hemen kapatıldı.

7. Örneklerin hazırlanması: İnsan serum ya da plazması +2°C ile +8°C'de 14 güne kadar saklanabilir. İncelenecek hasta örnekleri 1:10 oranında seyreltilerek aynı gün içerisinde çalışma yapıldı. 15 µL örnek için 1,5 ml tampon çözeltisi kullanıldı.

8. Paketinden çıkartılan stripler cihaz inkübasyon tepsisindeki boş kuyucuklara yerleştirildi. Test stripleri kuyucuklara yerleştirilirken numaraların

görünecek şekilde olmasına dikkat edildi. Çalışma manuel olduğu gibi cihaz ile de çalışılabilmektedir.

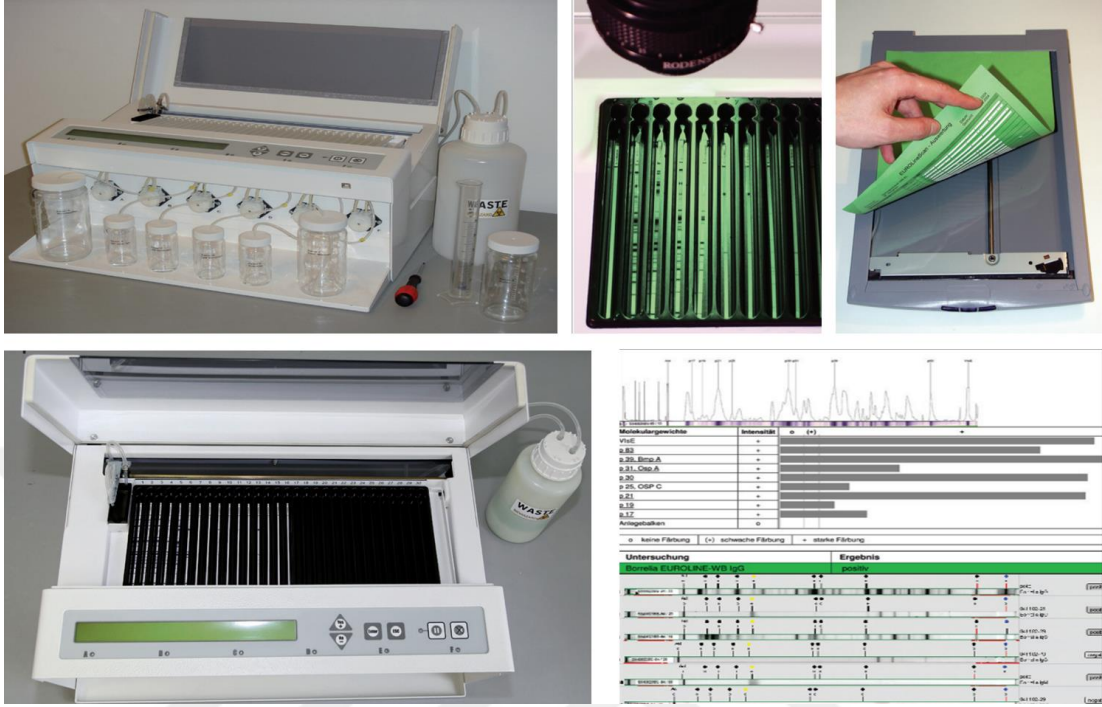
Manuel test prosedürü

Stripler inkübasyon tepsisine uygun şekilde yerleştirildikten sonra her bir kuyucuğa tampon çözeltisi (1,5 ml) eklenerek 5 dakika ön ıslatma işleminden sonra temiz uçlu bir pipetle 15 µl hasta serumu eklendi. Oda sıcaklığında (+18°C ile +25°C) çalkalayıcıda 30 dakika inkübe edildi. Kuyucuklardaki sıvı aspire edildikten sonra her bölme 1,5 ml yıkama tamponu ile 3 kez 5'er dakika süreyle yıkandı ve sıvı aspire edildi. Her kuyucuğa enzim konjugat (alkalin fosfataz işaretli anti-human IgG) pipetlendi ve oda sıcaklığında 30 dakika çalkalandı. Aynı aşamalar substrat için de gerçekleştirildi. Reaksiyon distile su ile durduruldu, 10 dakika çalkalandı ve sıvı aspire edildi ve strip havada kurutuldu. Laboratuvarımızda bulunan EUROBlotMaster cihazı (Euroimmun, Lübeck, Almanya) ile solüsyonlar üretici firma önerilerine göre uygun pozisyonlara yerleştirildikten sonra cihaz manuel prosedüre göre çalıştırıldı.

İlk aşamada immüno blot stripleri dilüsyon yapılan serum ile inkübe edildikten sonra pozitif reaksiyon gelişirse spesifik IgG antikorları ilgili bölgeye bağlanırlar. Bağlanmamış olan antikorlar yıkama yapılarak uzaklaştırılır. Bağlanan antikorları tespit etmek için, renk katalizörü olarak enzim işaretli anti-human IgG (enzim konjugat) kullanılarak ikinci inkübasyon uygulanır ve strip üzerinde bir renk oluşur. Test stripleri değerlendirebilmeleri için yeşil kağıt üzerine yapışkan folyoya yapıştırılır ve havada kurutulurlar.

İmmüno blot test sonuçları üretici firma önerilerine uygun olarak stripteki bant varlığı ve boyanma yoğunluğunun EUROLIneScan tarayıcı sistemi (Euroimmun AG, Lübeck, Almanya) ile analiz edilmesi ile değerlendirildi. 0-5 aralığında negatif, 6-10 aralığında (+) sınır değer, 11-25 veya 26-50 aralığında pozitif (+, ++) ve >50 olan değerler ise yüksek pozitif (+++) test sonucu olarak raporlandı. Bu kit ile hastada bulunabilecek nükleer ve sitoplazmik 18 farklı antijene (DFS70, nRNP/Sm, Sm, SSA, SSB, Ro-52, Scl-70, PM-Scl-100, Jo-1, CENP-B, PCNA, dsDNA,

nükleozomlar, histonlar, Rib-P proteini, AMA-M2, Ku, Mi-2) karşı IgG tipi otoantikolar değerlendirilerek tanımlandı.



Şekil 3.2. İmmüno blot testlerinin çalışıldığı EUROBlotMaster cihazı ve analiz ekranı.

3.4. İstatistiksel Analizler

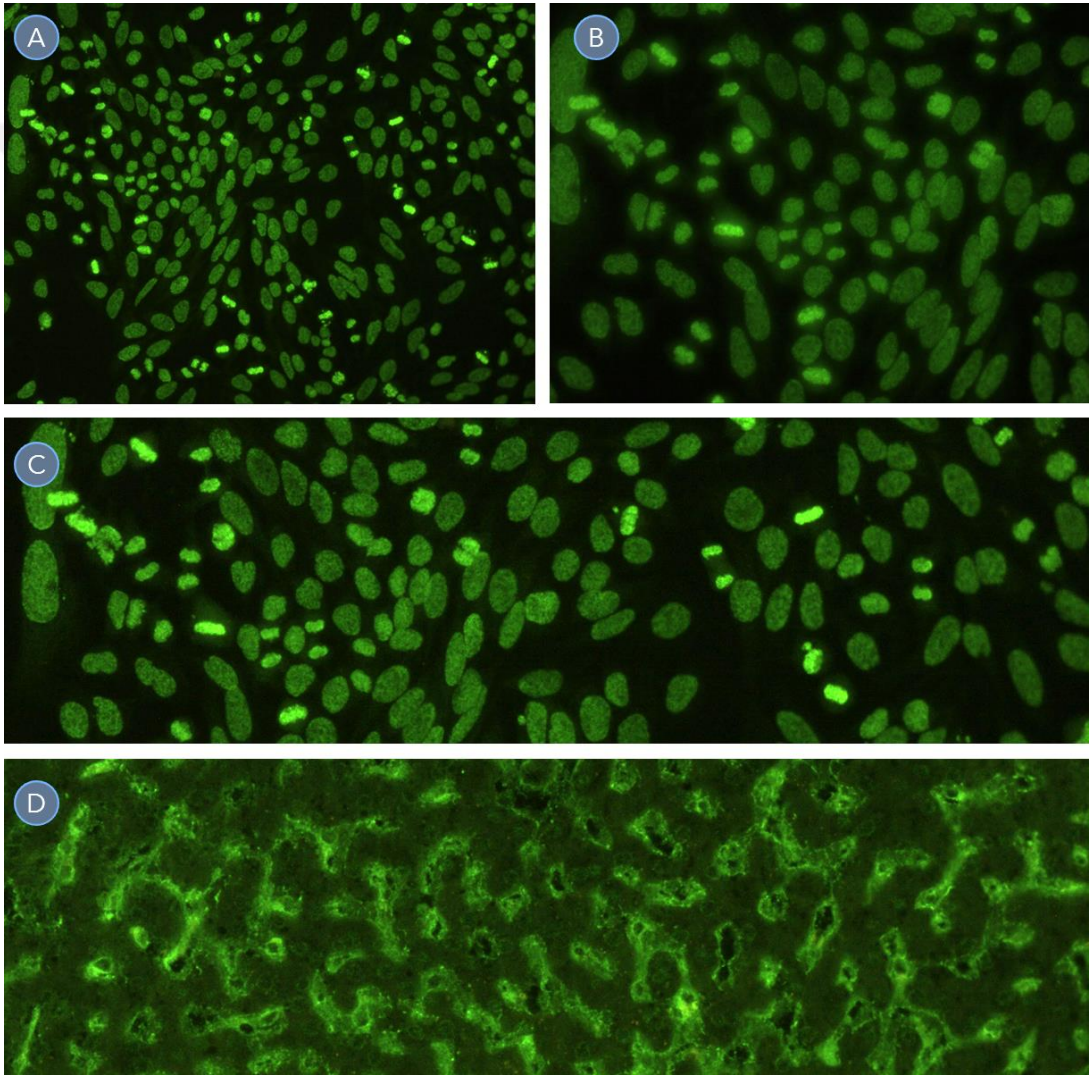
Gruplar için frekans (yüzdese), ortalama ve standart sapma değerleri gibi temel istatistiksel ölçütler hesaplandı. Verilerin normal dağılıma uygunluğunu test etmek için örneklem büyüklüklerine göre Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri kullanıldı. Bağımsız gruplarda ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığını test etmek için Student's t testi, varyanslar anlamlı derecede farklı olduğunda (Levene testinin p değeri $<0,05$ olduğunda) ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Gruplar arasındaki kategorik değişkenlerdeki farklılıkları incelemek için ki-kare testi ve Fisher's Exact test kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında (confidence interval, CI) $p < 0,05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Bu çalışmanın verileri açık kodlu bir yazılım olan Jamovi (versiyon 2.4.14) (<https://www.jamovi.org/>) istatistik programı kullanılarak analiz edildi.



4. BULGULAR

4.1. Örnek Test Sonuçları

Çalışma grubumuzda bulunan ve nefroloji biriminde takip edilen, böbrek taşı ve anormal böbrek fonksiyonları bulunan 51 yaşındaki bir erkek hastanın ANA İİF incelemesinde izlenen DFS70/LEDGF benzeri (AC-2) boyanma paterni görünümü Şekil 4.1’de gösterilmektedir.

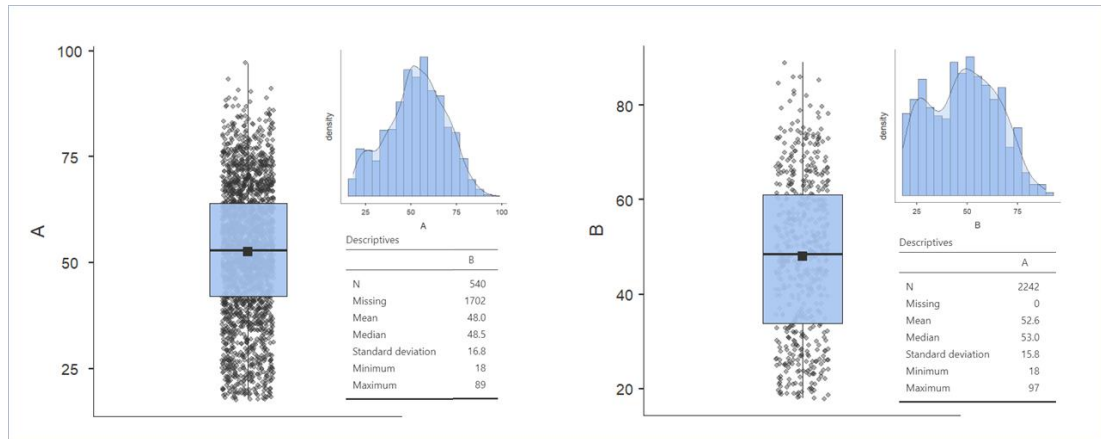


Şekil 4.1. İmmünfloresan mikroskopik incelemesinde anti-DFS70/LEDGF benzeri boyanma paternleri. (A ve C); 20× büyütme HEp-2 hücreleri, (B); 40× büyütme HEp-2 hücreleri, (D); 20× büyütme primat karaciğer hücreleri. *Bu hastanın*

Şekil 4.2’de ilk sütundaki koyu renkli bantlar kontrol pozitiflikleri iken ikinci sütunda anti-DFS70 antikorlarına ait hasta sonuçları görülmektedir. Diğer striplerdeki bantlar şeklin alt bölümünde sırası ile yazıldığı gibidir. İlk dört hasta sadece DFS70 için pozitif olarak bulunurken, 5. ve 6. hastada DFS70 ile birlikte çeşitli diğer otoantikör pozitiflikleri de izlenmektedir. Burada yer alan altı hastanın tümü için EUROLinScan tarayıcı sistemi (Euroimmun AG, Lübeck, Almanya) ile analiz edilen ve pozitiflik saptanan striplerin yoğunluk titreleri ve değerlendirme sonuçları Şekil 4.3’te detaylı olarak sunulmuştur.

4.2. Çalışma Grubunun Demografik Özellikleri

Çalışma grubu tümü ANA İİF test sonucu pozitif olan 2173 (%78,1) kadın ve 609 (%21,9) erkek olmak üzere toplam 2782 kişiden oluşmaktadır. Tümü ANA İİF pozitif 2782 hastanın 540’ında (%19,4) anti-DFS70 otoantikörleri pozitif saptandı. Çalışma grubunun yaş ortalaması $51,724 \pm 16,078$ (median 53, yaş aralığı 18-97) olarak bulundu (Şekil 4.4.). Anti-DFS70 pozitif hastaların yaş ortalaması ($47,989 \pm 16,76$), anti-DFS70 negatif hastalara ($52,624 \pm 15,77$) göre anlamlı derecede ($p < 0,001$) daha düşük bulundu (Tablo 4.1.).



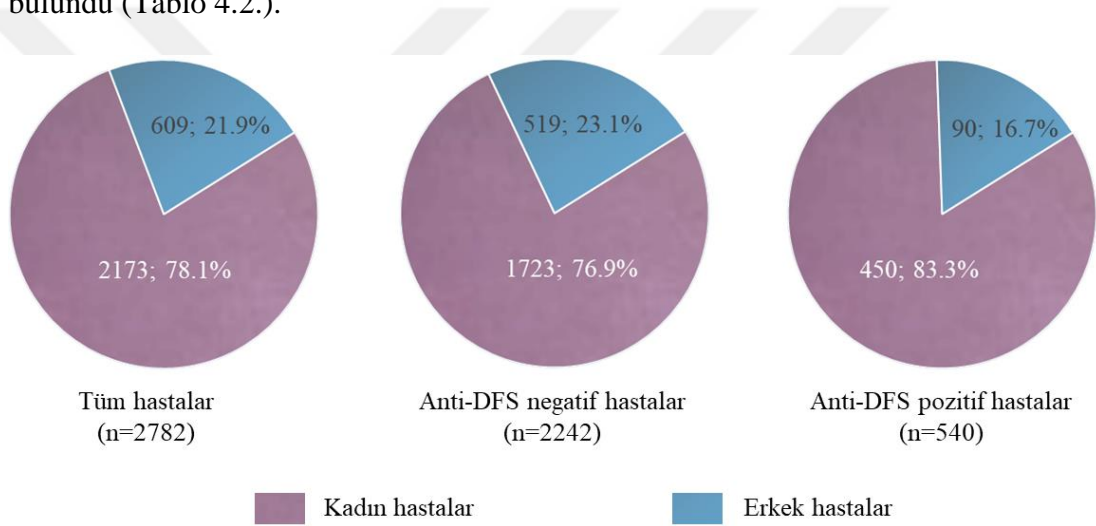
Şekil 4.4. Anti-DFS70 negatif ve pozitif hastaların yaş dağılımı grafikleri. (A) Anti-DFS70 negatif hastaların normal dağılıma uygun yaş dağılım grafikleri, çarpıklık (*skewness*) ve basıklık (*kurtosis*) değerleri sırasıyla -0,184 ve -0,523. (B) Anti-DFS70 pozitif hastaların normal dağılıma uygun yaş dağılımı grafikleri, çarpıklık ve basıklık değerleri sırasıyla 0,0169 ve -0,918.

Tablo 4.1. Anti-DFS70 pozitif ve negatif hastaların yaş ortalamalarının karşılaştırılması.

| | | n (%) | yaş ortalaması (\pm SS) | yaş aralığı (medyan) | p |
|--------------|-------------|-------------|----------------------------|----------------------|--------|
| Anti-DFS70 | Negatif | 2242 (80,6) | 52,624 \pm 15,77 | 18-97 (53) | <0,001 |
| | Pozitif | 540 (19,4) | 47,989 \pm 16,76 | 18-89 (48,5) | |
| Tüm hastalar | ANA pozitif | 2782 (100) | 51,724 \pm 16,078 | 18-97 (53) | - |

ANA; Anti nükleer antikor. DFS; Yoğun ince benekli (*dense fine speckled*). SS; Standart sapma.

Tüm çalışma grubunda olduğu gibi, anti-DFS70 pozitif ve anti-DFS70 negatif hastalarda kadın hastaların oranı daha yüksekti ve sırasıyla %83,3 ve %76,9 idi. (Şekil 4.5). Bununla beraber, anti-DFS70 pozitif hastalar arasında kadın hastaların oranı anti-DFS70 negatif hastalara göre anlamlı derecede ($p<0,001$) daha yüksek bulundu (Tablo 4.2.).

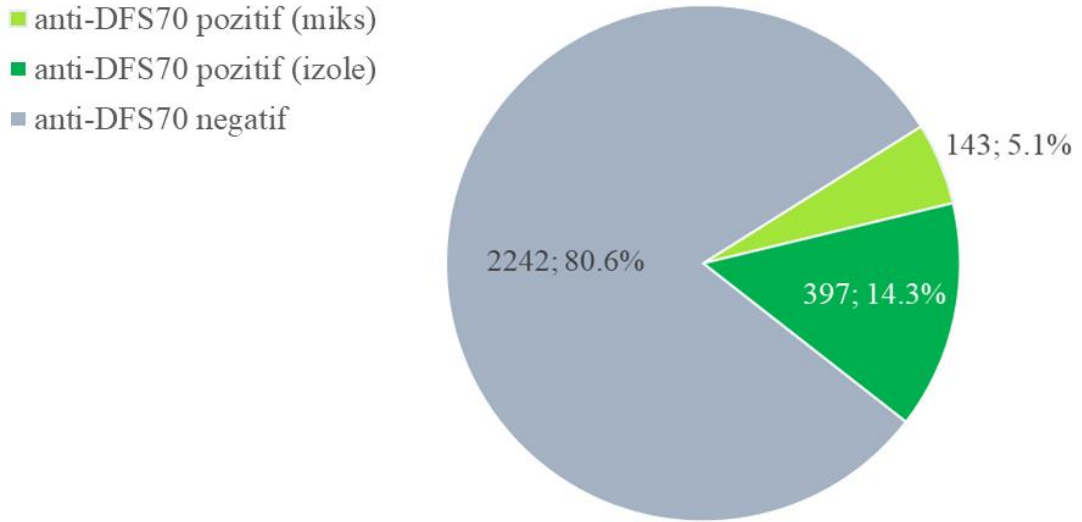
**Şekil 4.5.** Tüm hastalarda ve anti-DFS70 pozitif ve negatif hastaların cinsiyet dağılımı.**Tablo 4.2.** Anti-DFS70 pozitif ve negatif hastaların cinsiyet dağılımının karşılaştırılması.

| | | n | % | p |
|-----------------------------|-------|------|------|--------------|
| Anti-DFS70 negatif (n=2242) | kadın | 1723 | 76,9 | 0,001 |
| | erkek | 519 | 23,1 | |
| Anti-DFS70 pozitif (n=540) | kadın | 450 | 83,3 | |
| | erkek | 90 | 16,7 | |
| Tüm hastalar (n=2782) | kadın | 2173 | 78,1 | - |
| | erkek | 609 | 21,9 | |

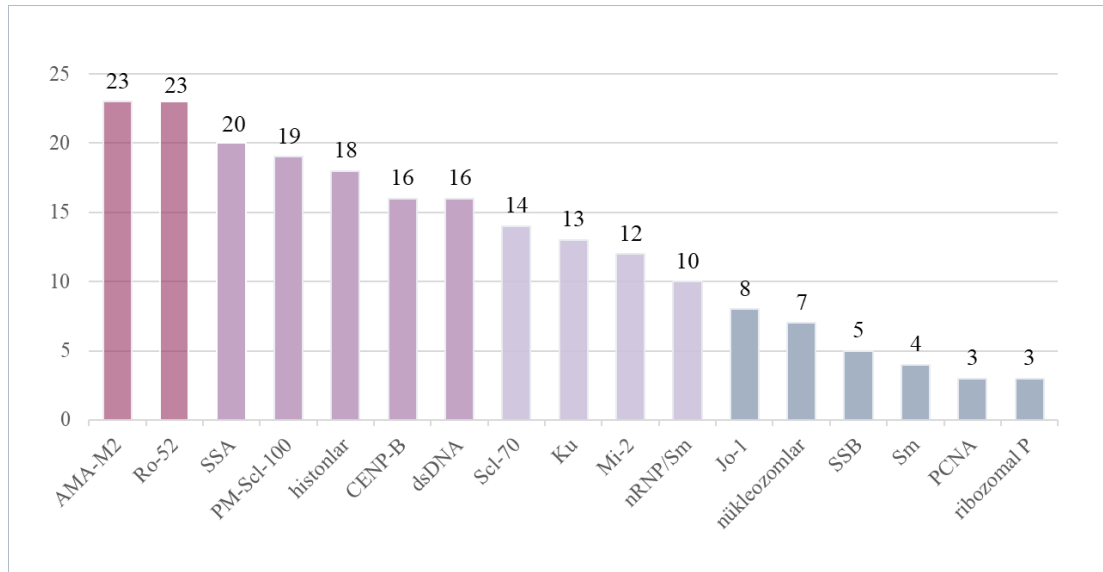
DFS; Yoğun ince benekli (*dense fine speckled*).

4.3. Anti-DFS70 Pozitif Hastaların Özellikleri

Anti-DFS70 pozitif hastaların (n=540) 397'sinde (%73,5) izole pozitiflik varken, 143 (%26,5) hastada eşlik eden diğer spesifik antikörlerin varlığı saptandı (Şekil 4.6). Anti-DFS70 pozitifliğine en sık eşlik eden otoantikörler sırasıyla AMA-M2 (23 hastada), Ro-52 (23 hastada), SSA (20 hastada), PM-Scl-100 (19 hastada) ve histon (19 hastada) antijenlerini hedefleyen antikörlerdir. Eşlik eden tüm antikörler Şekil 4.7.'de sunulmuştur.



Şekil 4.6. ANA İİF pozitif hastalarda izole ve miks anti-DFS70 pozitiflik oranları.



Şekil 4.7. Anti-DFS70 miks pozitif hastalarda eşlik eden diğer spesifik otoantikörler.

Tablo 4.3. Anti-DFS70 pozitif ve negatif hastalarda spesifik antikor dağılımının karşılaştırılması.

| Hedef antijenler | Anti-DFS70 pozitif hastalarda (n=540) | | Anti-DFS70 negatif hastalarda (n=2242) | | Tüm hastalarda (n=2782) | | p |
|------------------|---------------------------------------|-----|--|------|-------------------------|---------|------------------|
| | var | yok | var (%) | yok | var | var (%) | |
| AMA-M2 | 23 (%4,3) | 517 | 132 (%5,9) | 2110 | 155 | 5,6 | 0,139 |
| Ro-52 | 23 (%4,3) | 517 | 203 (%9,1) | 2039 | 226 | 8,1 | <0,001 |
| SSA | 20 (%3,7) | 520 | 187 (%8,3) | 2055 | 207 | 7,4 | <0,001 |
| PM-Scl-100 | 19 (%3,5) | 521 | 149 (%6,6) | 2093 | 168 | 6,0 | 0,006 |
| Histonlar | 18 (%3,3) | 522 | 64 (%2,9) | 2178 | 82 | 2,9 | 0,554 |
| CENP-B | 16 (%3,0) | 524 | 81 (%3,6) | 2161 | 97 | 3,5 | 0,458 |
| dsDNA | 16 (%3,0) | 524 | 93 (%4,1) | 2149 | 109 | 3,9 | 0,203 |
| Scl-70 | 14 (%2,6) | 526 | 24 (%1,1) | 2218 | 38 | 1,4 | 0,006 |
| Ku | 13 (%2,4) | 527 | 78 (%3,5) | 2164 | 91 | 3,3 | 0,209 |
| Mi-2 | 12 (%2,2) | 528 | 119 (%5,3) | 2123 | 131 | 4,7 | 0,002 |
| nRNP/Sm | 10 (%1,9) | 530 | 84 (%3,7) | 2158 | 18 | 0,6 | 0,029 |
| Jo-1 | 8 (%1,5) | 532 | 40 (%1,8) | 2202 | 48 | 1,7 | 0,624 |
| Nükleozomlar | 7 (%1,3) | 533 | 49 (%2,2) | 2193 | 56 | 2,0 | 0,187 |
| SSB | 5 (%0,9) | 535 | 78 (%3,5) | 2164 | 83 | 3,0 | 0,002 |
| Sm | 4 (%0,7) | 536 | 21 (%0,9) | 2221 | 25 | 0,9 | 0,804 |
| PCNA | 3 (%0,6) | 537 | 39 (%1,7) | 2203 | 42 | 1,5 | 0,043 |
| Ribozomal P | 3 (%0,6) | 537 | 24 (%1,1) | 2218 | 27 | 1,0 | 0,273 |

Kısaltmalar için "Simge ve Kısaltmalar" dizinine bakınız.

Çalışma genelinde en sık saptanan spesifik antikorlar Ro-52 (%8,1), SSA (%7,4), PM-Scl-100 (%6,0) ve AMA-M2 (%5,6) olarak bulundu. Anti-DFS70 pozitif ve negatif hastalarda saptanan spesifik antikorların dağılımı incelendiğinde anti-DFS70 pozitif hastalarda genel olarak otoantikor saptanma oranlarının "Ro-52, SSA, Mi-2 ve SSB gibi bazıları için istatistiksel olarak anlamlı derecede olmak üzere" daha düşük olduğu bulundu (Tablo 4.3). Buna karşın çalışmamızda araştırılan 17 spesifik antikor tipinden sadece Scl-70 antikorunun anti-DFS70 pozitif hastalarda anlamlılık düzeyine yakın derecede (p=0,006) daha yüksek oranda bulunduğu saptandı.

Tüm çalışma grubunda en sık test istemi yapılan birimler romatoloji (%58,3) ve iç hastalıkları (%25,5) poliklinik/klinikleri iken, test istemlerinin dağılımı anti-DFS70 pozitif ve anti-DFS70 negatif hastalar için benzerdi (Tablo 4.4.).

Tüm çalışma grubunda İİF mikroskopi paternleri arasında en sık görülen ANA paternleri; benekli (n=1903, %68,4), sitoplazmik granüler (n=1149, %41,3) ve homojen (n=628, %22,6) paternler iken, DFS70 benzeri yoğun ince benekli patern en

sık görülen dördüncü paterndi (n=467, %16,8). DFS70 benzeri yoğun ince benekli paternin anti-DFS70 izole pozitif (n=397), miks pozitif (n=143) ve negatif (n=2242) hastalarda raporlanma oranları sırasıyla %92,9, %62,2 ve %0,4 olarak bulundu. Diğer mikroskobik patenlerin görülme sıklığına göre dağılımı Tablo 4.5.'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Anti-DFS70 pozitif ve anti-DFS70 negatif hastalar için test istemi yapılan klinikler.

| | Romatoloji | İç hastalıkları | Gastroenteroloji | Nefroloji | Dermatoloji | Alerji | Diğer |
|-----------------------------|---------------|-----------------|------------------|-------------|-------------|------------|-----------|
| Anti-DFS70 negatif (n=2242) | 1295 %57,8 | 574 %25,6 | 208 %9,3 | 92 %4,1 | 51 %2,3 | 18 %0,8 | 4 %0,2 |
| Anti-DFS70 pozitif (n=540) | 328 %60,7 | 135 %25 | 41 %7,6 | 17 %3,1 | 14 %2,6 | 4 %0,7 | 1 %0,2 |
| Tüm hastalar (n=2782) | 1623 %58,3 | 709 %25,5 | 249 %9 | 109 %3,9 | 65 %2,3 | 22 %0,8 | 5 %0,2 |

DFS; Yoğun ince benekli (*dense fine speckled*).

Tablo 4.5. Anti-DFS70 pozitif ve negatif hastalarda majör ANA paternlerinin dağılımı.

| | Anti-DFS70 | | | Tüm hastalar (n=2782) |
|------------------------------------|-----------------------|----------------------|------------------|-----------------------|
| | İzole pozitif (n=397) | Miks pozitif (n=143) | Negatif (n=2242) | |
| Benekli | 24 | 32 | 1847 | 1903 |
| Granüler (sitoplazmik) | 13 | 28 | 1108 | 1149 |
| Homojen | 20 | 27 | 581 | 628 |
| Yoğun ince benekli (DFS70 benzeri) | 369 | 89 | 9 | 467 |
| Nükleolar | 4 | 11 | 236 | 251 |
| Sentromer | 2 | 13 | 82 | 97 |
| Periferal | | 1 | 57 | 58 |
| AMA tipi | | 3 | 23 | 26 |
| Nükleer noktalı | | | 22 | 22 |
| Az sayıda nükleer noktalı | 2 | 1 | 18 | 21 |
| Filamentöz | | 2 | 10 | 12 |
| İğsi (spindle) fiber | | | 10 | 10 |
| Sitoplazmik fibriller | 2 | | | 2 |
| Vimentin | | 1 | 2 | 3 |
| Midbody | | | 1 | 1 |
| Aktin benzeri | | | 1 | 1 |

AMA; Anti-mitokondriyal antikor. ANA; Anti Nükleer Antikor. DFS; Yoğun ince benekli (*dense fine speckled*).

Çeşitli romatolojik hastalıkların ayırıcı tanısında ve taranmasında kullanılan ANA testi istemleri sırasında izole anti-DFS70 antikor pozitifliği saptanan hastaların hastane bilgi sisteminden elde edilen hasta şikayetleri, tanı ve ön tanıları içeren

verilerin dağılımı Tablo 4.6’da sunulduğu gibidir. Bunlar arasında eklem ağrısı olan hastalar, diabetes mellitus tanısı veya şüphesi olan hastalar, vitamin D eksikliği olan hastalar, RA, çeşitli bağ dokusu hastalığı ve SjS tanısı veya şüphesi olan hastaların sıklığı dikkat çekmektedir. Anti-DFS70 antikorunun çok geniş bir hastalık grubunda (ön tanıları da kapsamak üzere) pozitif olduğu görülmektedir.

Tablo 4.6. İzole anti-DFS70 pozitifliği bulunan hastalarda tanı ve ön tanıları.

| <i>Spesifik hastalıklar</i> | | | | | |
|---|-----|------------------------------------|----|---|---|
| Diyabetes mellitus ve tarama muayenesi | 37 | Sistemik lupus eritematozus | 4 | Hidradenitis suppurativa | 1 |
| Vitamin D eksikliği | 36 | Behçet hastalığı | 3 | Enflamatuvar spondilopatiler | 1 |
| Romatooid artrit | 21 | Raynaud fenomeni | 2 | Miyozit | 1 |
| Bağ dokusu hastalığı | 18 | Sistemik skleroz | 2 | Primer biliyer siroz | 1 |
| Sjögren sendromu | 18 | Gut | 2 | Ankilozan spondilit | 1 |
| Hipotiroidi | 8 | Vitiligo | 2 | Viral enfeksiyon (Herpes) | 1 |
| Psöriatrik artrit | 7 | Multipl skleroz | 2 | Akut lenfoblastik lösemi | 1 |
| Fibromiyalji | 5 | Çölyak hastalığı | 1 | Over karsinomu | 1 |
| FMF | 5 | Alerjik rinit | 1 | Meme karsinomu | 1 |
| <i>Organ ve sistemlerin genel hastalıkları</i> | | | | | |
| Eklem ağrısı | 127 | Deri ekleri ile ilgili hastalıklar | 14 | Nöropsikiyatrik hastalıklar | 9 |
| Karaciğer hastalıkları | 17 | Böbrek hastalıkları | 11 | Akciğer hastalıkları | 7 |
| Gastrointestinal sistem hastalıkları | 16 | Kardiyovasküler hastalıklar | 11 | Hematolojik hastalıklar ve splenomegali | 6 |
| Hipertansiyon | 23 | Dislipidemi | 3 | | |
| DFS; Yoğun ince benekli (<i>dense fine speckled</i>). | | | | | |

Miks anti-DFS70 pozitifliği bulunan hastalara ait hastane bilgi sisteminden elde edilen hasta şikayetleri, tanı ve ön tanıları içeren verilerin dağılımı Tablo 4.7’de sunulduğu gibidir. Hastalıkların dağılım sıklıklarına bakıldığında izole anti-DFS70 pozitifliği bulunan hastalara benzer bir dağılım olduğu, bununla beraber nadir görülen hastalıkların varlığı da dikkat çekmektedir. Bu veriler kesin hastalık tanıları yanında ön tanıları da içerdiği için bir nedensellik ve sıklık karşılaştırması yapılmamıştır.

Tablo 4.7. Miks anti-DFS70 pozitifliği bulunan hastalarda tanı ve ön tanıları.

| <i>Spesifik hastalıklar</i> | | | | | |
|---|----|------------------------------------|---|--------------------------------------|---|
| Diyabetes mellitus ve tarama muayenesi | 17 | Ankilozan spondilit | 2 | Sistemik lupus eritematozus | 1 |
| Sjögren sendromu | 12 | Behçet hastalığı | 2 | Psöriatrik artrit | 1 |
| Romatoid artrit | 10 | Fibromiyalji | 2 | Guillain-Barre sendromu | 1 |
| Vitamin D eksikliği | 8 | İdiyopatik trombositopenik purpura | 2 | Sarkoidoz | 1 |
| Bağ dokusu hastalığı | 7 | Multipl skleroz | 1 | Wernicke ensefalopatisi | 1 |
| Hipotiroidi | 6 | Gut | 1 | Miller Fisher sendromu | 1 |
| Sistemik skleroz | 3 | Primer biliyer siroz | 1 | Diskoid lupus | 1 |
| <i>Organ ve sistemlerin genel hastalıkları</i> | | | | | |
| Eklem ağrısı | 40 | Deri ekleri ile ilgili hastalıklar | 5 | Gastrointestinal sistem hastalıkları | 3 |
| Hematolojik hastalıklar ve splenomegali | 7 | Nöropsikiyatrik hastalıklar | 5 | Akciğer hastalıkları | 3 |
| Karaciğer hastalıkları | 6 | Böbrek hastalıkları | 4 | Kardiyovasküler hastalıklar | 2 |
| Hipertansiyon | 11 | Dislipidemi | 4 | | |
| DFS; Yoğun ince benekli (<i>dense fine speckled</i>). | | | | | |



5. TARTIŞMA

Küresel Otoimmün Enstitüsü'nün (*Global Autoimmune Institute*) 20 Şubat 2024 tarihli "Otoimmün Hastalığın Küresel Görünümü" raporuna göre otoimmünite geleneksel olarak gelişmiş batı ülkeleriyle ilişkilendirilmiştir (62). Bazı çalışmalar Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika gibi endüstriyel bölgelerde daha yüksek bir insidans oranı gösterirken, kapsamlı çalışmalar otoimmün hastalıkların kümülatif olarak endüstriyel dünya nüfusunun %5 ila %10'unu etkilediğini göstermektedir (62–64). Diğer çalışmalar, gelişmekte olan ülkelerde otoimmün hastalık prevalansının daha düşük (65), ancak artışta olduğunu (66) göstermektedir. Birleşik Krallık'ta yürütülen ve 22 milyon kişinin izlendiği yakın tarihli bir çalışmada otoimmün hastalıkların yaklaşık on kişiden birini etkilediği, çölyak hastalığı, SjS ve Graves hastalığı gibi bazı otoimmün bozuklukların görülme sıklığında ise artış olduğu bildirilmiştir (67). Aynı çalışmada çeşitli otoimmün bozukluklarda gözlemlenen sosyoekonomik, mevsimsel ve bölgesel farklılıkların hastalık patogenezinde bazı çevresel faktörlerin etkisini düşündürdüğü şeklinde değerlendirilmiştir (67). Ülkemizdeki duruma bakıldığında yapılan çalışmaların genellikle belirli hastalıklar için ya da bölgesel veya tek merkezli çalışmalar şeklinde tasarlanmış olduğu ve otoimmün hastalıkların ülke genelindeki prevalansını gösterir kapsamlı bir veri bulunmadığı görülmektedir (68,69). Bununla beraber, dünya genelinde insanların %5'inden fazlasının; mikts bağ dokusu hastalığı, RA, ankilozan spondilit, psöriatik artrit, SLE, SjS, SSc, atopik dermatit, Crohn hastalığı, ülseratif kolit, lupus nefriti, dermatomyozit, miyastenia gravis, çölyak hastalığı, otoimmün tiroid, karaciğer ve mide hastalıkları, otoimmün nöropatiler ve diğer otoimmün bozukluklar gibi yaklaşık 100 farklı klinik durumu içeren otoimmün hastalıklardan etkilendiği tahmin edilmektedir (46). İmmünoloji testleri otoimmün hastalıkların erken ve doğru tanısı ve klinik bulgularla birlikte hasta yönetimindeki merkezi rolünü ve önemini korumakla beraber, zaman içerisinde mevcut testlerin duyarlılıklarını artırmaya yönelik çalışmalar, yeni ve daha duyarlı tekniklerin kullanıma girmesi ve otoantikör panellerinin genişletilmesi gibi çalışmalarla laboratuvarların yetkinlik kapasiteleri aktif bir süreçte yenilenmeye devam etmekte ve yeni ve kapsamlı çalışmalarla bu testlerin ve spesifik parametrelerin klinik önemleri detaylıca incelenmektedir (19).

ANA SLE, SSc, SjS, juvenil artrit veya polimiyozit ve dermatomiyozit gibi otoimmün hastalıkların olası göstergesi olarak ele alınmakla beraber, tek bir pozitif ANA test sonucu her zaman otoimmün bir hastalığın kesin bir işareti olarak kabul edilmemektedir (15). Çin'de yapılan kesitsel bir çalışmada, genel popülasyonda (2-88 yaş aralığındaki 20.970 kişi, ortalama yaş 32) HEp-2 İİF ile ANA yaygınlığı 1:100 kesme değeri kullanıldığında %13,98 ve 1:320 kesme değeri kullanıldığında %5,92 olarak bulunmuştur (70). Aynı çalışmada ANA pozitiflik oranı kadınlarda/kızlarda erkeklere/erkek çocuklara göre ve yaşlı kişilerde genç kişilere göre daha yüksek bulunmuştur (70). ABD'de yapılan kesitsel bir çalışmada ise, genel popülasyonda (≥ 4 yaş 4754 birey) HEp-2 İİF ile ANA yaygınlığı 1:80 kesme değeri kullanıldığında %13,8 bulunmuş, ANA yaygınlığının yaşla birlikte arttığı ve ANA pozitifliğinin kadınlarda erkeklere kıyasla daha yaygın olduğu bildirilmiştir (71). Almanya'da yapılan bir kesitsel çalışmada da, genel popülasyonda (≥ 20 yaş 1199 kişi) yarı otomatik HEp-2 İİF ile ANA'nın yaygınlığı, 1:80'lik bir kesme değeri kullanıldığında %33 olarak bulunmuş, ANA'nın çoğunluğunun (%29) zayıf pozitif (titre 1:80 veya 1:160) olduğu ve ANA pozitifliğinin kadınlarda erkeklerden daha yaygın olduğu bildirilmiştir (72). Tüm bu çalışmalar ANA testlerinin klinik yararlılığı ile ilgili önemli bir problemin sağlıklı bireylerde görülen otoantikörler olduğuna işaret etmektedir. Genel popülasyonun yaklaşık %25'inde ölçülebilir düzeylerde ANA pozitifliği saptanabilirken ve yüksek titreli pozitiflik yaygınlığının %2,5'a ulaşabildiği tahmin edilmektedir (55). Laboratuvarımızda yürütülen önceki bir çalışmada 19.248 İİF temelli ANA testi istemi için pozitiflik oranı %23,1 (n=4446) olarak bulunmuştur (15). Bahsedilen çalışma bir genel prevalans çalışması olmamakla birlikte hastanemiz popülasyonundaki pozitiflik oranlarının literatürdeki genel popülasyon oranlarına yakın olduğunu göstermektedir.

Sağlıklı bireylerdeki ANA pozitifliği genellikle bilinmeyen bir öneme sahiptir ve çoğu durumda iyi huyludur. Çok sayıda çalışmadan elde edilen bulgular, ANA ölçümü için birçok farklı yöntem kullanılmasına rağmen etnik ve ırksal olarak çeşitli çalışma popülasyonları arasında dikkate değer bir tutarlılık göstermektedir (55). İnsan popülasyonunda bu tür bir otoreaktivitenin devam etmesi, ANA'nın normal bağışıklık tepkisinin bir bileşeni olabileceğini düşündürmektedir. Pozitif ANA'sı olan bireylerin çoğu otoimmün bir hastalığa sahip değildir ve çoğunun da bir hastalık

geliştirmesi olası değildir. Bununla beraber, bazı romatolojik hastalıklar için klinik öncesi hastalık evrelerinde olan bireylerin de ANA pozitif sağlıklı popülasyonda temsil ediliyor olabileceğinin dikkate alınması gerektiği ve dahası ANA pozitif sağlıklı kişilerin bir alt kümesinin otoimmün hastalık geliştirme riski altında olabileceği üzerinde de durulmaktadır(55).

ANA testinin semptomatik bireylerden istenmesi ve dolayısıyla sağlıklı bireylerden istenmemesi nedeniyle, otoimmün hastalığı olmayan ancak farklı hastalıkları olan bireylerde ANA testinin sonuçlarını anlamak da önemlidir (19). Hipertansiyon, diabetes mellitus, gut ve dislipidemi dahil olmak üzere birden fazla tıbbi sorunu olan hastalarda 1:80 seyreltmede %12 oranında pozitif HEp-2 İİF testi sıklığı bildirilmiştir (73). Solid ve hematolojik kanserli bireylerde, titre çoğunlukla 1:320'nin altında olmak üzere, %20 oranında pozitif HEp-2 İİF testi sıklığı bildirilmiştir (74). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ise otoimmün dışı hastalıkları olan 558 birey, 194 AARD hastası ve 1217 sağlıklı bireyde HEp-2 İİF testinin sonuçları karşılaştırılmış ve pozitif sonuçların sıklığı otoimmünite dışı farklı hastalıklara sahip bireylerde (%18,3) sağlıklı bireylere (%12,3) göre daha yüksek bulunmuştur (75). İlginç bir şekilde, düşük titreli (1:80 ve 1:160) ANA pozitifliği sağlıklı bireylerde otoimmün dışı hastalığı olan bireylere göre daha sık görülürken, 1:320 titre ANA pozitifliğinde ise durum tam tersinedir (75). Çalışmamızda izole ve miks anti-DFS70 pozitif hastaların mevcut hastalıklarını ve olası ön tanıılarını gösteren Tablo 4.6 ve Tablo 4.7'de yer alan hastalıklar ve çalışma grubunun yaş ortalamasının yüksekliği göz önüne alındığında diabetes mellitus, vitamin D eksikliği, hipertansiyon, karaciğer hastalıkları ve diğer non-romatolojik hastalıkların yüksek oranları ANA test pozitifliklerinin önemli bir bölümünün kronik ve yaşla ilişkili hastalıklardan kaynaklanabileceğine işaret etmekte ve anti-DFS70 antikorlarının izole varlığının bu noktada değerli bir marker olarak kullanılabilmesine işaret etmektedir. Ülkemizde yapılan ve anti-DFS70 pozitif hastalar için benzer bir hastalık dağılımının bulunduğu yakın tarihli bir çalışmada vitamin D düzeyleri ile anti-DFS70 antikorlarının birlikte görülme sıklığı araştırılmış, ancak aralarında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (76).

Sağlıklı bireylerdeki ANA pozitifliği konusu dışında hücre içi antijenlerin oldukça geniş bir spektrumuna karşı yönlendirilmiş antikoları kapsayan ANA pozitifliği AARD'nin ayırt edici bir özelliğidir (24). HEp-2 İİF testi, ANA tespiti için en sık kullanılan rutin tarama testleri arasındadır ve ARC tarafından ANA taraması önerilmektedir (45). Bununla beraber AARD'nin serolojik araştırması, ANA İİF'nin ötesinde, tipik olarak otoantikor özgüllüklerinin belirlenmesini, yani spesifik antikoların tanımlanmasını içerir (15).

ANA pozitifliği için riskler arasında kadın cinsiyeti ve organa spesifik otoimmünite yer alır (55). ANA pozitifliği ile de ilişkili olarak SLE, RA ve SSc gibi otoimmün hastalıklar da yetişkin kadınlarda daha sık görülmektedir (77–79). Sağlıklı bireylerde ANA pozitifliği yaşlı bireylerde ve sıklıkla 65 yaş üstü kadınlarda görülmektedir (19). Türkiye'de yürütülen bir çalışmada benzer şekilde en yüksek ANA pozitiflik oranı 61-70 yaş aralığında bulunmuştur (80). Toplam 2782 ANA pozitif hastanın dahil edildiği çalışmamızda katılımcıların yaş ortalaması %51,7 olup, kadınların %78,1'lik oranı otoimmün hastalıklar ve ANA prevalansı ile ilgili güncel literatür verileri ile uyumlu gözünmektedir. Çalışmamızda ANA İİF pozitif 2782 hastanın 540'ında (%19,4) anti-DFS70 otoantikorlarının varlığı saptandı. Anti-DFS70 pozitif hastaların yaş ortalaması, anti-DFS70 negatif hastalara göre anlamlı derecede ($p<0,001$) daha düşük bulundu (Tablo 4.1.). Çalışmalar ANA pozitif hastaların bir alt grubunu oluşturan ve daha çok sağlıklı kişilerde görülen anti-DFS70 antikolarının genç bireylerde ve kadınlarda daha yaygın olduğunu bildirmekte olup (24), bizim bulduğumuz bu farklılığın literatür verileri ile uyumlu olduğunu göstermektedir. Bir diğer ilginç bulgu ise, çalışmamızda otoimmün hastalıklar ve ANA pozitifliğinin kadınlarda daha sık görüldüğü verisine ek olarak ANA pozitif kişilerin bir alt grubu olan anti-DFS70 pozitif hastalar arasında kadın hastaların oranının anti-DFS70 negatif hastalara göre anlamlı derecede ($p<0,001$) daha yüksek olması idi. İtalya'da yürütülen bir çalışmada, rutin bir ANA başvuru kohortu bağlamında anti-DFS70 antikolarının prevalansı tüm çalışma grubunda %1,7 ve ANA pozitif örneklerde %4,6 olarak bulunmuş olup (81), bu oran bizim çalışmamıza göre (%19,4) daha düşük düzeydedir. Klinisyenlerin test istemlerindeki farklılıklar ve çalışma grubunun özellikleri (yaş gibi) ile ilişkili olması muhtemel bu farklılığın dışında aynı çalışmada bizim verilerimize benzer şekilde anti-DFS70 pozitiflik

prevalansı kadınlarda (%2,1, 45/2145) erkeklerden (%1,0, 10/1030) önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur (81).

Hastanemizde yürütülen önceki bir çalışmada 4446 ANA pozitif hastada ANA ile ilişkili otoantikordardan en sık saptananlar anti-dsDNA (%9,2) ve anti-SSA (%8,2) olarak bulunmuştur (15). Otoimmün hastalığı olduğundan şüphelenilen 98 hastadan alınan örneklerin hem İİF hem de LİA(Line İmmuno Assay) ile çalışılıp, klinik tanı ile ilişkilendirildiği yakın tarihli başka bir çalışmada ANA profili pozitif örneklerde en sık bulunan otoantikorlar sırasıyla anti-U1-snRNP (%46,2), anti-SSB/La (%44,4) ve anti-SSA/Ro60 (%42,6) olarak bulunmuştur (50). Jeon ve ark. tarafından yürütülen bir çalışmada (82) ise LİA pozitif örneklerdeki ANA profilinde en yaygın otoantikorlar anti-Ro52 (%44,3), anti-SSA (%42,4) ve anti-SSB (%17) olarak bulunmuştur. Çalışmamızda en sık saptanan spesifik antikorlar Ro-52 (%8,1), SSA (%7,4), PM-Scl-100 (%6,0) ve AMA-M2 (%5,6) olarak bulundu. Bu veriler hem kendi hastanemizdeki hem de literatürdeki verilerle belirli noktalardan benzerlik gösterirken “çalışma dönemi, örneklem büyüklüğü, çalışma popülasyonu, kit profilinin genişliği” gibi çeşitli faktörlerle ilişkili olarak belirli noktalardan farklılaşmakta olup, SSA ve Ro-52 antikorlarının yaygın antikorlar olduğunu desteklemektedir. Bu durumu destekleyen bir veri olarak; çalışmamızda 18 farklı spesifik antijeni hedefleyen antikorlar araştırılmış olup, yine hastanemizde yürütülen diğer bir çalışmada ENA profilinde 11 farklı antijen tipine karşı oluşan antikorlar taranmış ve en sık saptanan antikorlar anti-SSA (%22,7), anti-sentromer (%12,8), anti-RNP (%10,2) ve anti-dsDNA (%9,7) olarak bulunmuştur (16). Bu tez çalışmasında ayrıca anti-DFS70 pozitifliğine eşlik eden antikorların varlığını inceledik ve beklenildiği üzere sağlıklı bir popülasyon olarak kabul edilen anti-DFS70 pozitif hastalarda incelediğimiz 17 antikorun neredeyse tamamı için ve Ro-52, SSA, Mi-2 ve SSB antijenlerine karşı oluşan antikorlar için istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmak üzere daha düşük oranlardaydı. Belki de bu çalışmanın özel bulgularından biri olarak diğer spesifik antikor tiplerinden farklı olarak sadece anti-Scl-70 antikoru anti-DFS70 pozitif hastalarda anlamlılık düzeyine yakın derecede ($p=0,006$) yüksekti. ANA HEp-2 hücrelerinde nükleer homojen benzeri desenlere neden olan otoantikorlar arasında (anti-dsDNA, anti-nükleozom, anti-histon, anti-

Scl-70 ve anti-DFS70) yer alan bu antikorların (83), birlikte görülme sıklığının araştırılması için ileri klinik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Tez çalışmamızın odak noktası olan anti-DFS70 otoantikoları spesifik otoantikolar arasında diğerlerinden farklı olarak hastalık tanısı yerine romatolojik otoimmün hastalıkların dışlanması ve sağlıklı olma yönünde bir gösterge olması ile özel bir önem taşımaktadır. Brezilya'da yapılan kesitsel bir çalışmada, 918 sağlıklı bireyden oluşan bir kohortta ANA prevalansı (HEp-2 İİF ile) 1:80 kesme noktasında %12,9 olarak bulunmuştur (84). Çoğunluğunun (%53,4) titresi $\leq 1:160$ olmak üzere AARD kohortunda bu oranın %10,8 olduğu belirlenmiştir. İİF paterninin sağlıklı ve AARD kohortu arasında da farklılık gösterdiği, DFS paterninin (AC-2), ANA pozitif sağlıklı bireylerin %33,1'inde mevcut olduğu, AARD hastalarının ise hiçbirinde bulunmadığı bildirilmiştir. Buna karşılık, homojen nükleer patern (AC-1), sentromer paterni (AC-3) ve kaba benekli nükleer patern (AC-5) görünümünün yalnızca AARD hastalarında gözlemlendiği ayrıca vurgulanmıştır (84). Anti-DFS70 antikorları ve ANA paternleri ile ilgili bulgularımızı tartışmaya devam etmeden önce çalışma grubumuzla ilgili bir detaya bakalım. Türkiye'de yapılan çalışmalar incelendiğinde en sık ANA test istemi yapılan kliniğin romatoloji olduğu (15,78,85,86) görülmekle beraber, bazı çalışmalarda nöroloji ve (23) iç hastalıkları (80) gibi farklı kliniklerin öne çıktığı görülmektedir. Bu tez çalışmasında en sık test istemi yapılan birimler romatoloji (%58,3) ve iç hastalıkları (%25,5) birimleri iken, test istemlerinin dağılımı anti-DFS70 pozitif ve anti-DFS70 negatif hastalar için neredeyse aynı yüzdesel oranlarla benzerdi (Tablo 4.4.) ve bu nedenle ek bir karşılaştırma ve değerlendirme yapılmadı. Bununla beraber romatoloji kliniği ve polikliniğine başvuran hastaların yüksek oranı (tüm hastaların %60'ına yakını) romatolojik hastalıkların dışlanmasında kullanılan ve tez konumuz olan anti-DFS70 antikorlarının prevalansını ve eşlik eden spesifik antikorlar ve hastalık tabloları ile ilgili sonuçlarımızın değerini arttırabilir. Bu kısa bilgiden sonra ANA paternleri konusuna geri dönecek olursak, az sayıda olgunun dahil edildiği yakın tarihli bir çalışmada ANA pozitif 82 hastada HEp-2 İİF ile ANA taramasında en sık görülen boyanma paterni "benekli patern" (49/82, %59,8) olarak belirlenirken, bunu nükleolar patern izlemiştir (11/82, %13,4) (50). Jeon ve ark. tarafından yürütülen İİF ve LİA test sonuçlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada benekli desen SSc hariç

sistemik otoimmün hastalıklarda en sık gözlenen desen olarak bulunmuş, bunu sitoplazmik desenin izlediği bildirilmiştir (82). Yukarıda daha önce bahsedilen ve otoimmün olmayan hastalıkları olan 558 birey, 194 AARD hastası ve 1217 sağlıklı bireyin dahil edildiği çalışmada paternlerin dağılımına bakıldığında otoimmünite dışı farklı hastalıklara sahip bireyler ve sağlıklı bireylerde benzer olarak; nükleer ince benekli (AC-4) ve yoğun ince benekli (AC-2) paternlerin baskın olduğu ve nükleer homojen (AC-1), sentromer (AC-3) ve nükleer kaba benekli (AC-5) paternlerin bulunmadığı bildirilmiştir (75). Çalışma grubumuzun genelinde İİF mikroskopi paternleri arasında en sık görülenler; benekli (%68,4), sitoplazmik granüler (%41,3) ve homojen (%22,6) paternler iken, tez çalışmasının konusu olan DFS70 benzeri yoğun ince benekli patern %16,8'lik oranı ile en sık görülen dördüncü patern olmuştur.

HEp-2 hücrelerinde İİF ile tespit edilen DFS paterninin çeşitli inflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmesi için yapılan çalışmalar bulunsa da bu patern en sık AARD'si olmayan bireylerde ve hatta sıklıkla görünüşte sağlıklı olan bireylerde görülmektedir (24,26). Bu nedenle, İİF paterninin doğru bir şekilde tanımlanması ve raporlanması son derece önemlidir. HEp-2 İİF modellerini tanımlamak ve açıklamak için en son ve kapsamlı çaba ICAP tarafından yapılmıştır (19,57). Bazı ülkelerde ulusal kılavuzlar, örneğin Brezilya ve Hollanda'da yapıldığı gibi, ICAP fikir birliğini kendi yerel durumlarına uyarlamıştır (19). Bununla beraber, özgün tasarımı bir çalışmada İİF yöntemi ile DFS paternini doğru bir şekilde tanıma doğruluğunun diğer daha klasik paternlere kıyasla önemli ölçüde daha düşük olduğu ve testin duyarlılığının %50'yi geçmediğini gösterilmiştir (26). Bahsedilen çalışmada DFS paterninin deneyimli teknik uzmanlar tarafından ne kadar doğru bir şekilde tanındığını değerlendirmek için internet tabanlı bir anket kullanılmıştır. Yüksek çözünürlüklü dijital İİF görüntüleri otomatik IIF NOVA View cihazı (Inova Diagnostics, San Diego, CA) kullanılarak elde edilmiş ve görüntüleri değerlendirmek üzere 230 İİF teknisyeni davet edilmiştir. Anketteki görüntülerin dördü daha önce klasik ANA İİF örüntülerine (nükleolar, sentromer, homojen ve benekli) sahip serum örneklerinden ve görüntülerin ikisi ise DFS İİF ANA örüntüsüne ve kemilüminesans immünoassay testi ile belirlenen izole anti-DFS70 antikorlarına sahip örneklerden oluşturulmuştur. "Homojen, DFS, sentromer, nükleolar, benekli, diğer veya

tanımlanamaz” şeklinde çoktan seçmeli seçenekleri içeren anketi tamamlayan 230 katılımcının 125’i HEp-2 hücrelerinde İİF patern tanıma konusunda <1 yıldan >10 yıla kadar değişen farklı deneyim düzeylerine sahipti (ortalama >10 yıl). Katılımcıların klasik ANA İİF paternlerini doğru şekilde sınıflandırmada yüksek bir uyumu vardı ve bu uyum sentromer için %95,2’den nükleolar paternler için %74,4’e kadar değişiyordu. İlgili çalışmada (26), karışık olmayan (*unmixed*) DFS paterni önemli ölçüde daha düşük doğrulukla tanınmıştır (~%50; $p < 0,05$). Dahası, katılımcıların %10’dan azı hem klinik olarak ilgili ANA hem de anti-DFS70 antikorlarını içeren serumlardan türetilen miks paternleri doğru şekilde tanımlamıştır. ANA İİF’nin bu önemli duyarlılık sorununu aşmak için immüno blot ve ELİSA teknikleri gibi daha yüksek duyarlılığa sahip yöntemler geliştirilmiş olup, laboratuvarımızda da immüno blot temelli bir test olan EUROLİNE ANA profili et Mİ-2, Ku, DFS70 (IgG) testi kullanılmaktadır. Çalışmamızda DFS70 benzeri yoğun ince benekli paternin anti-DFS70 izole pozitif (n=397), miks pozitif (n=143) ve negatif (n=2242) hastalarda raporlanma oranları sırasıyla %92,9, %62,2 ve %0,4 olarak bulundu. Bu oranlar daha duyarlı bir yöntem olan immüno blot tekniğinin “İİF ile patern görünümü tanımlanamayan veya farklı paternlerin izlendiği hastalarda (yaklaşık %7)” izole anti-DFS70 varlığını tanımlamada daha güçlü bir araç olduğu verisini desteklemektedir. Anti-DFS70 paterninin, miks anti-DFS70 pozitifliği bulunan hastaların sadece %62,2’sinde saptanmış olması ise eşlik eden otoantikorlarla ilişkili paternlerin AC-2 paternini değerlendirmeyi güçleştirdiğine işaret etmektedir. Şöyle ki, AARD hastalarını AARD olmayanlardan ayıran şey, AARD hastalarında tipik olarak ek otoantikorlar saptanırken, sağlıklı kişilerde ise genellikle yalnızca artmış anti-DFS70 antikor seviyeleri saptanmasıdır (24). Bu gerçek, HEp-2 İİF örüntüsünü etkiler, çünkü klasik DFS örüntüsü, anti-DFS70’in test edilen örneklerde tek otoantikor özgülüğü olduğu durumlarda yaygın olarak tanınır, ancak ek otoantikorların varlığı tarafından engellenebilir. Aslında, ek otoantikorların DFS paterninin tanınabilir özelliklerine etki ederek kendi İİF boyanma paternlerini ortaya çıkardığı bilinmektedir (24). Yine çalışmamıza dönecek olursak ANA İİF ile DFS paterni raporlanan ancak anti-DFS70 immüno blot testi negatif bulunan %0,4’lük grupta görülen bu farklılık değerlendirici yorumları başta olmak üzere çeşitli faktörlerle ilişkili olabilir. Ancak bu oranın dikkat çekici düzeylerde oldukça

düşük olması “değerlendirme yapan uzmanların raporlama öncesi uyumsuz sonuçları gözden geçirmesi ile ilişkili” olabilir. ANA İİF paternleri ve immünoblot test sonuçları geriye dönük olarak incelendiğinde uyumsuzlukların özellikle anti-DFS70 antikoları için düşük pozitiflik izlenen hastalarda ve karışık otoantikoların varlığında ortaya çıktığı değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, DFS ANA İİF paternini özellikle de diğer otoantikoların varlığında tanımak önemli bir zorluk teşkil etmektedir. Bu nedenle kesin sonuçlar hekimlere bildirilmeden önce anti-DFS70 antikolarının varlığını doğrulamak için DFS'ye özgü uygun antijenlerin kullanıldığı yüksek duyarlılıklı immünolojik analizlerin yapılması zorunlu görülmektedir (24,26). Yaygın bir algoritma, HEp-2 İİF ile başlayan ve ardından HEp-2 İİF bulgularına ve klinik senaryoya göre spesifik immünolojik testler içeren bir tarama adımına dayanmaktadır. AC-2'nin HEp-2 ANA İİF rutinde baskın bir patern olduğu anlayışı (*ki bizim çalışmamızda dördüncü en sık görülen patern*), anti-DFS70 antikolarının spesifik immünoassaylerle araştırılmasının antikor testinin önemli bir bileşeni olması gerektiğini göstermektedir. Çünkü bu yaklaşım AC-2 paterninin başka bir paternle birlikte ortaya çıktığı durumda zorlu miks DFS70 paternlerinin doğru yorumlanmasını kolaylaştıracaktır (24).

Özetleyecek olursak, anti-DFS70 antikoları ilk olarak interstisyel sistitli hastaların serumlarında insan HEp-2 hücre substratı ve fare böbreği/mide dokusu substratı üzerinde ANA testi ve Western blot yöntemleri kullanılarak tanımlanmıştır ve yoğun ince nükleer benekli patern sergileyen bu otoantikoların yeni bir otoantijen hedefe işaret ettiği vurgulanmıştır (87). Ancak, sonraki yıllarda anti-DFS70 antikolarının belirli bir klinik durumla ilişkili olmadığı, sağlıklı bireylerde ve fonksiyonel, metabolik, neoplastik ve kronik inflamatuvar hastalıklar dahil olmak üzere bir dizi hastalığı olan hastalarda tespit edilebildiği gösterilmiştir (24). Günümüzde DFS paterninin ve anti-DFS70 antikolarının önemine ilişkin son veriler baz alınarak bu testlerin AARD'nin serolojik tanısını optimize etmek için nasıl kullanılabileceği üzerinde çalışılmaktadır. HEp-2 hücrelerindeki DFS paterni, dsDNA antikolarıyla ilişkili klasik "homojen" ANA paterninden oldukça farklıdır. Bu, yüksek titreli ANA pozitif sağlıklı kişilerde en sık görülen paterndir. DFS paterniyle ilişkili en karakteristik spesifik antikor anti-DFS70 antikordur (diğer adı ile LEDGF antikor) (88). AARD hastalarında anti-DFS70 antikolarının yaygınlığı,

ANA pozitif sağlıklı kişilerdeki yaygınlığa kıyasla önemli ölçüde düşüktür, yani anti-DFS70 antikoru ile AARD arasında, özellikle eş zamanlı AARD'ye özgü otoantikörler bulunmazsa, negatif bir ilişki vardır. İzole anti-DFS70 antikoru, AARD'nin %1'inden azında tespit edilebilirken, sağlıklı kişilerin %2-22'sinde tespit edilebilmektedir (88). Bu da izole anti-DFS70 antikoru varlığında, AARD için ileri testlerin yapılması olasılığı önemli ölçüde azaldığı anlamına gelir. AARD'yi dışlamaya yardımcı olan bir kriter olarak anti-DFS70 antikoru'nun önemi, herhangi bir hastalığa özgü otoantikör olmayan anti-DFS70 antikoru pozitif sağlıklı bireyler üzerinde yapılan uzun dönem (4 yıllık) takip çalışmalarında “gözlem süresi boyunca herhangi bir AARD gelişmediğinin gösterilmesi” ile doğrulanmıştır (84). Sonuç olarak, anti-DFS70 antikoru, negatif AARD ile ilişkili otoantikör vakalarında pozitif ANA'nın daha iyi yorumlanması için değerli yeni biyobelirteçtir ve ANA pozitif kişilerin gereksiz sevk ve muayenelerinden kaçınmak için modifiye edilmiş test algoritmalarına entegre edilmesi önerilmektedir (88). Bir başka ifade ile serum örneğinde tek spesifik otoantikör olarak anti-DFS70 antikoru'nun bulunması, SLE, SSc, idiyopatik inflamatuvar miyopatiler, SjS ve MCTD dahil olmak üzere AARD tanısını dışlamada güçlü bir argümandır (84,88).

Son bir veri olarak, DFS70/LEDGFp75 proteininin bir dizi insan kanserinde aşırı eksprese edilmesi ve kanser hücresi çoğalmasını ve göçünü, anjiyogenezini, klon oluşumunu, kemoterapiye direnci ve tümör büyümesini destekleyen bir onkoprotein olarak işlev gördüğü de öne sürülmektedir (24). Bu doğrultuda, kanser hastalarının genellikle tümörle ilişkili antijenlere karşı antikörler ürettiği ve çeşitli insan kanser tiplerinde DFS70/LEDGFp75'in bir onkoprotein olarak ortaya çıkan rolü göz önüne alındığında, kanser hastalarında nispeten yüksek sıklıkta anti-DFS70 otoantikörleri bulunmasının beklenebileceği değerlendirilmektedir (24). Bu konuda yapılan araştırmalar arasında prostat kanseri ve human papillomavirus ilişkili servikal kanserler yer almaktadır (24,89). Anti-DFS70 antikoru en sık prostat kanseri olgularında bildirilmiş (%17,2-22,3), daha az oranda da (%1,8) farklı malignitelerde tespit edilmiştir (76). Anti-DFS70 antikoru'nun bildirildiği diğer maligniteler arasında literatürde kolon, tiroid ve meme kanseri olguları yer almaktadır (76). Çalışmamızda izole anti-DFS70 pozitifliği olan 397 hastadan üç hasta kanser (akut lenfoblastik lösemi, over karsinomu, meme karsinomu) tanısı

almışken, miks anti-DFS70 pozitifliği olan 143 hastada herhangi bir malignite tanısı yoktu. Bununla beraber bu olası ilişkileri keşfetmek için daha fazla çalışmaya gereksinim olduğu söylenebilir.





6. SONUÇLAR

(•) DFS70 paterni ve ANA ilişkili romatolojik hastalıkların varsayılan negatif ilişkisi ve ANA İİF örüntüsünün yüksek doğrulukla tanınmasındaki zorluklar temelinde, mikroskopik paternin doğru raporlanmasını sağlamak için immünoelot temelli testler gibi daha duyarlı yöntemler ile kombine değerlendirmeler yapmak bir zorunluluk haline gelmiştir.

(•) Tanı algoritmalarına yeni testler eklemek, sağlık harcamaları üzerindeki etkisi nedeniyle belirli endişeleri gündeme getirse de romatolojik hastalıkların tanısal değerlendirme aşamasında bir triyaj işlevi görmesi ile hastalara gereksiz ileri tanı tetkiklerinin ve takip testlerinin yapılmasının önüne geçmesi nedeni ile anti-DFS70 antikor testinin maliyet etkin bir yaklaşım olduğu söylenebilir.

(•) Çalışmamızda ANA pozitif hastalar arasında anti-DFS70 pozitif hastaların oranı diğer bazı çalışmalara kıyasla yüksek bulunmuş olmakla birlikte, anti-DFS70 pozitif hastaların anti-DFS70 negatif hastalara göre yaş ortalamasının ve kadın cinsiyet oranının daha yüksek olduğu verisinin ve anti-DFS70 pozitif hastalardaki eşlik eden hastalık dağılımının literatürle uyumlu olduğu belirlenmiştir.

(•) Anti-DFS70 antikor tespitinin uzun vadeli kullanımı esas olarak gelecekte İİF'nin ANA testinin merkezi bir parçası olmaya devam etmesine bağlı olacaktır. Anti-DFS70 antikorlarının tüm ANA test algoritmalarının değilse bile gelecekte çoğunun ayrılmaz bir parçası haline gelmesi çok olasıdır. Ek olarak belirli coğrafyalarda anti-DFS70 antikor analizlerinin daha yüksek pozitiflik oranlarında varlığı testin benimsenmesini etkileyebileceği için bizim çalışmamız ve benzeri çalışmaların sunacağı veriler ileriye dönük kestirimler yapmada ayrıca önem arz etmektedir.

(•) Çalışma grubumuzu anti-DFS70 pozitif ve anti-DFS70 negatif hastalar olarak iki gruba ayırarak anti-DFS70 otoantikorlarının diğer spesifik antikorlarla birlikteliğini belirlemeye çalıştık. Çalışma sonuçlarımız beklenildiği üzere sağlıklı bir popülasyon olarak kabul edilen anti-DFS70 pozitif hastalarda incelediğimiz diğer spesifik antikorların neredeyse tamamının daha düşük oranlarda pozitif olduğunu

ortaya koyarken, diğer spesifik antikor tiplerinden farklı olarak anti-Scl-70 antikor pozitifliğinin anti-DFS70 pozitif hastalarda dikkat çekici şekilde yüksek olduğunu ortaya koydu. Bununla beraber bu otoantikorların tekli ve miks varsayılan klinik ilişkileri hakkında daha fazla bilgi edinmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

(•) Anti-DFS70 pozitif hastaların klinik tanı ve ön tanılarını izole antikor pozitifliği ve miks antikor pozitifliği bağlamında incelediğimiz bu çalışmada elde ettiğimiz veriler nadir bir durum olsa da anti-DFS70 pozitifliğinin romatolojik ve romatoloji dışı kronik hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli hastalık tabloları ile birlikteliği ve olguların yaklaşık dörtte birinde miks antikorların varlığı nedeni ile anti-DFS70 antikorlarının pozitifliği ile beraber yüksek klinik şüphe varlığında hastaların belirli bir süre izlem altında tutulabileceğini, bununla beraber anti-DFS70 antikorlarının birkaç yıl boyunca çoğunlukla stabil kaldığını da dikkate alınması gerektiğini değerlendirmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Marshall J.S., Warrington R., Watson W., Kim H.L. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2018; 14(Suppl 2): 49.
2. Ahmad H.I., Jabbar A., Mushtaq N., Javed Z., Hayyat M.U., Bashir J., et al. Immune Tolerance vs. Immune Resistance: The Interaction Between Host and Pathogens in Infectious Diseases. *Front Vet Sci.* 2022; 9: 827407.
3. Richard-Eaglin A., Smallheer B.A. Immunosuppressive/Autoimmune Disorders. *Nurs Clin North Am.* 2018; 53(3): 319-34.
4. Castagnoli R., Delmonte O.M., Notarangelo L.D. Congenital and acquired defects of immunity: An ever-evolving story. *Pediatr Allergy Immunol.* 2022; 33 Suppl 27(Suppl 27): 61-4.
5. Chinen J., Shearer W.T. Secondary immunodeficiencies, including HIV infection. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 125(2 Suppl 2): S195-203.
6. Jarczak D., Nierhaus A. Cytokine Storm-Definition, Causes, and Implications. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(19): 11740.
7. Schietinger A., Greenberg P.D. Tolerance and exhaustion: defining mechanisms of T cell dysfunction. *Trends Immunol.* 2014; 35(2): 51-60.
8. Delogu L.G., Deidda S., Delitala G., Manetti R. Infectious diseases and autoimmunity. *J Infect Dev Ctries.* 2011; 5(10): 679-87.
9. Pisetsky D.S. Pathogenesis of autoimmune disease. *Nat Rev Nephrol.* 2023; 19: 509-24.
10. Hocking A.M., Buckner J.H. Genetic basis of defects in immune tolerance underlying the development of autoimmunity. *Front Immunol.* 2022; 13: 972121.
11. Fridkis-Hareli M. Immunogenetic mechanisms for the coexistence of organ-specific and systemic autoimmune diseases. *J Autoimmune Dis.* 2008; 5: 1.
12. Ge Q., Gu X., Yu W., Zhang G., Liang W., Li M., et al. Antinuclear antibodies in healthy population: Positive association with abnormal tissue metabolism, inflammation and immune dysfunction. *Int Immunopharmacol.* 2022; 113: 109292.
13. Marin G.G., Cardiel M.H., Cornejo H., Viveros M.E. Prevalence of Antinuclear Antibodies in 3 Groups of Healthy Individuals. *JCR J Clin Rheumatol.* 2009; 15(7): 325-9.

14. Grygiel-Górniak B., Rogacka N., Puszczewicz M. Antinuclear antibodies in healthy people and non-rheumatic diseases – diagnostic and clinical implications. *Rheumatology*. 2018; 56(4): 243-8.
15. Tekin K., Karakuş H., Karabulut S., Şahiner F., Gümral R. Choosing Wisely in Immunology Laboratory: Reviewing of Antinuclear Antibody (ANA) Test Requests and Results Together with Other Tests. *Life Med Sci*. 2023; 2(3): 125-36.
16. Aygar İ.S., Cebeci İ. Five-Year Analysis of Anti-Nuclear Antibody (ANA) and Extractable Nuclear Antigen Antibody (anti-ENA) Immunoblot Test Results. *Life Med Sci*. 2023; 2(4): 143-9.
17. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD), Ankara, Türkiye. Otoantikörlerin Laboratuvar Tanısı Rehberi. KLİMUD Kaynak No: 9, Düzeltilmiş 2. Baskı. 2016. Çağhan Ofset Matbaacılık, Ankara.
18. Fritzler M.J. Choosing wisely: Review and commentary on anti-nuclear antibody (ANA) testing. *Autoimmun Rev*. 2016; 15(3): 272-80.
19. Bonroy C., Vercammen M., Fierz W., Andrade L.E.C., Van Hoovels L., Infantino M., et al.; European Federation of Laboratory Medicine (EFLM) Working Group “Autoimmunity Testing,” the European Autoimmune Standardization Initiative (EASI) and International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns (ICAP). Detection of antinuclear antibodies: recommendations from EFLM, EASI and ICAP. *Clin Chem Lab Med*. 2023; 61(7): 1167-98.
20. Holborow E.J., Weir D.M., Johnson G.D. A serum factor in lupus erythematosus with affinity for tissue nuclei. *Br Med J*. 1957; 2(5047): 732-4.
21. Kraev K., Hristov B., Uchikov P., Kraeva M., Basheva-Kraeva Y., Valova S., et al. Comprehensive Exploration of Antinuclear Antibodies (ANAs): Unveiling Clinical Significance, Associations with Cancer, and the Nuances of Differential Diagnosis in Positive ANA Patients. *Diagnostics (Basel)*. 2024; 14(3): 320.
22. Lee A.Y.S., Hudspeth A.R., Ray U. Evaluation of antinuclear antibody (ANA) in ANA-associated connective tissue diseases. *J Clin Pathol*. 2015; 68(10): 853-4.
23. Üsküdar Cansu D., Üsküdar Teke H., Gündüz E., Korkmaz C. Clinical distribution of antinuclear antibody (ANA) requests and positivity in daily practice: which departments request ANA test most frequently? *Ulus Romatoloji Derg*. 2019; 11(1): 16-22.
24. Mahler M., Andrade L.E., Casiano C.A., Malyavantham K., Fritzler M.J. Anti-DFS70 antibodies: an update on our current understanding and their clinical usefulness. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019; 15(3): 241-50.

25. Chan E.K., Damoiseaux J., Carballo O.G., Conrad K., de Melo Cruvinel W., Francescantonio P.L., et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns 2014-2015. *Front Immunol.* 2015; 6: 412.
26. Bentow C., Fritzler M.J., Mummert E., Mahler M. Recognition of the dense fine speckled (DFS) pattern remains challenging: results from an international internet-based survey. *Auto Immun Highlights.* 2016; 7(1): 8.
27. Varadé J., Magadán S., González-Fernández Á. Human immunology and immunotherapy: main achievements and challenges. *Cell Mol Immunol.* 2021; 18(4): 805-28.
28. Justiz Vaillant A.A., Sabir S., Jan A. Physiology, Immune Response. [Updated 2024 Jul 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539801/>
29. McDaniel M.M., Meibers H.E., Pasare C. Innate control of adaptive immunity and adaptive instruction of innate immunity: bi-directional flow of information. *Curr Opin Immunol.* 2021; 73: 25-33.
30. Chaplin D.D. Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 125(2 Suppl 2): S3-23.
31. Nicholson L.B. The immune system. *Essays Biochem.* 2016; 60(3): 275-301.
32. Bouwman W., Verhaegh W., Holtzer L., van de Stolpe A. Measurement of Cellular Immune Response to Viral Infection and Vaccination. *Front Immunol* 2020; 11: 575074.
33. Bou Zerdan M., Moussa S., Atoui A., Assi H.I. Mechanisms of Immunotoxicity: Stressors and Evaluators. *Int J Mol Sci.* 2021; 22: 8242.
34. Palm A.E., Henry C. Remembrance of Things Past: Long-Term B Cell Memory After Infection and Vaccination. *Front Immunol.* 2019; 10: 1787.
35. Janeway C.A. Jr., Travers P., Walport M., Shlomchik M.J. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease* [Internet]. 5th edition. New York: Garland Science. 2001. Chapter 9, The Humoral Immune Response. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10752/>
36. Cano R.L.E., Lopera H.D.E. Introduction to T and B lymphocytes. In: Anaya J.M., Shoenfeld Y., Rojas-Villarraga A., Levy R.A., Cervera R., editors. *Autoimmunity: From Bench to Bedside* [Internet]. Bogota (Colombia): El Rosario University Press; 2013. Chapter 5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459471/>

37. Janeway C.A. Jr., Travers P., Walport M., Shlomchik M.J. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease [Internet]. 5th edition. New York: Garland Science; 2001. Chapter 8, T Cell-Mediated Immunity. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10762/>
38. Institute of Medicine (US) Committee on Military Nutrition Research. Military Strategies for Sustainment of Nutrition and Immune Function in the Field [Internet]. Washington (DC): National Academies Press (US). 1999. A, Overview of the Immune System and Other Host Defense Mechanisms. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK230976/>
39. Mak T.W., Saunders M.E. 2 - Introduction to the Immune Response, Mak T.W., Saunders M.E. (editors), The Immune Response, Academic Press, 2006; 17-33.
40. Riddell N.E. Immune Responses: Primary and Secondary. In Encyclopedia of Life Sciences, John Wiley & Sons, Ltd. 2024.
41. Pollard A.J., Bijker E.M. A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nat Rev Immunol.* 2021; 21: 83-100.
42. Forsdyke D.R. Lymphocyte repertoire selection and intracellular self/non-self-discrimination: historical overview. *Immunol Cell Biol.* 2015; 93(3): 297-304.
43. Rezende R.M., Weiner H.L. History and mechanisms of oral tolerance. *Seminars in Immunology.* 2017; 30: 3-11.
44. Shirafkan F., Hensel L., Rattay K. Immune tolerance and the prevention of autoimmune diseases essentially depend on thymic tissue homeostasis. *Front Immunol.* 2024; 15: 1339714.
45. Meroni P.L., Schur P.H. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis.* 2010; 69(8): 1420-2.
46. Shurin M.R., Wheeler S.E. Clinical Significance of Uncommon, Non-Clinical, and Novel Autoantibodies. *Immunotargets Ther.* 2024; 13: 215-34.
47. Hargraves M.M., Richmond H., Morton R. Presentation of two bone marrow elements; the tart cell and the L.E. cell. *Proc Staff Meet Mayo Clin.* 1948; 23(2): 25-8.
48. Hong M., Ma B., Lin Z., Zhou X., Geng X., Shen L., et al. Hep-2 cell based indirect immunofluorescence assay for antinuclear antibodies as a potential diagnosis of drug-induced autoimmunity in nonclinical toxicity testing. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2015; 71(2): 141-7.

49. Wiik A.S., Høier-Madsen M., Forslid J., Charles P., Meyrowitsch J. Antinuclear antibodies: a contemporary nomenclature using HEp-2 cells. *J Autoimmun.* 2010; 35(3): 276-90.
50. Kumar A., Bansal A., Mahto M., Kumari B., Kumar S., Banerjee A., et al. The Role of Indirect Immunofluorescence (IIF) and Line Immunoassay (LIA) in the Diagnosis of Autoimmune Diseases and Their Clinical Correlation: An Observational Study From a Tertiary Care Center in Bihar. *Cureus.* 2023; 15(10): e47702.
51. Alsaed O.S., Alamlah L.I., Al-Radideh O., Chandra P., Alemadi S., Al-Allaf A.W. Clinical utility of ANA-ELISA vs ANA-immunofluorescence in connective tissue diseases. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 8229.
52. Al-Mughales J.A. Anti-Nuclear Antibodies Patterns in Patients With Systemic Lupus Erythematosus and Their Correlation With Other Diagnostic Immunological Parameters. *Front Immunol.* 2022; 13: 850759.
53. Nordal E.B., Songstad N.T, Berntson L., Moen T., Straume B., Rygg M. Biomarkers of chronic uveitis in juvenile idiopathic arthritis: predictive value of antihistone antibodies and antinuclear antibodies. *J Rheumatol.* 2009; 36: 1737-43.
54. Vilchez-Oya F., Balastegui Martin H., García-Martínez E., Corominas H. Not all autoantibodies are clinically relevant. Classic and novel autoantibodies in Sjögren's syndrome: A critical review. *Front Immunol.* 2022; 13: 1003054.
55. Li Q.Z., Karp D.R., Quan J., Branch V.K., Zhou J., Lian Y., et al. Risk factors for ANA positivity in healthy persons. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(2): R38.
56. Thomson K.F., Murphy A., Goodfield M.J., Misbah S.A. Is it useful to test for antibodies to extractable nuclear antigens in the presence of a negative antinuclear antibody on Hep-2 cells? *J Clin Pathol.* 2001; 54(5): 413.
57. International Consensus on Antinuclear Antibody (ANA) Patterns (ICAP). [Internet]. 2024. Available from: <https://anapatterns.org/>
58. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell* [Internet]. 4th edition. New York: Garland Science. 2002. An Overview of the Cell Cycle. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26869/>
59. Sivakumar S., Daum J.R., Gorbisky G.J. Live-cell fluorescence imaging for phenotypic analysis of mitosis. *Methods Mol Biol.* 2014; 1170: 549-62.

60. Damoiseaux J., von Mühlen C.A., Garcia-De La Torre I., Carballo O.G., de Melo Cruvinel W., Francescantonio P.L., et al. International consensus on ANA patterns (ICAP): the bumpy road towards a consensus on reporting ANA results. *Auto Immun Highlights*. 2016; 7(1): 1.
61. Euroimmun AG, Lübeck, Germany. ANA diagnostics using indirect immunofluorescence, [Internet]. 2020. Available from: https://www.euroimmun.com/documents/Indications/Autoimmunity/Rheumatology/ANA/FA_1510_I_UK_B.pdf
62. Global Autoimmune Institute (McLean VA, USA) 20 February 2024. The Global Landscape of Autoimmune Disease, [Internet]. Available at: <https://www.autoimmuneinstitute.org/articles/the-global-landscape-of-autoimmune-disease/>
63. Shapira Y., Agmon-Levin N., Shoenfeld Y. Defining and analyzing geoepidemiology and human autoimmunity. *Journal of autoimmunity*. 2010; 34(3): J168–J177.
64. Cooper G.S., Bynum M.L., Somers, E.C. Recent insights in the epidemiology of autoimmune diseases: improved prevalence estimates and understanding of clustering of diseases. *Journal of autoimmunity*. 2009; 33(3-4): 197-207.
65. Adebajo A.O. Low frequency of autoimmune disease in tropical Africa. *Lancet (London, England)*. 1997; 349(9048): 361-2.
66. Tolentino Júnior D.S., de Oliveira C.M., de Assis, E.M. Population-based Study of 24 Autoimmune Diseases Carried Out in a Brazilian Microregion. *Journal of epidemiology and global health*. 2019; 9(4): 243-51.
67. Conrad N., Misra S., Verbakel J.Y., Verbeke G., Molenberghs G., Taylor P.N., et al. Incidence, prevalence, and co-occurrence of autoimmune disorders over time and by age, sex, and socioeconomic status: a population-based cohort study of 22 million individuals in the UK. *Lancet*. 2023; 401(10391): 1878-90.
68. Cakır N., Pamuk Ö.N., Derviş E., Imeryüz N., Uslu H., Benian Ö., et al. The prevalences of some rheumatic diseases in western Turkey: Havsa study. *Rheumatol Int*. 2012; 32(4): 895-908.
69. Yildiz F., Kobak Ş., Semiz H., Orman M. Concomitant Autoimmune Diseases in Patients With Sarcoidosis in Turkey. *Arch Rheumatol*. 2020; 35(2): 259-63.
70. Guo Y.P., Wang C.G., Liu X., Huang Y.Q., Guo D.L., Jing X.Z., et al. The prevalence of antinuclear antibodies in the general population of China: a cross-sectional study. *Curr Ther Res Clin Exp*. 2014; 76: 116-9.

71. Satoh M., Chan E.K., Ho L.A., Rose K.M., Parks C.G., Cohn R.D., et al. Prevalence and sociodemographic correlates of antinuclear antibodies in the United States. *Arthritis Rheum.* 2012; 64: 2319-27.
72. Akmatov M.K., Rober N., Ahrens W., Flesch-Janys D., Fricke J., Greiser H., et al. Anti-nuclear autoantibodies in the general German population: prevalence and lack of association with selected cardiovascular and metabolic disorders-findings of a multicenter population-based study. *Arthritis Res Ther.* 2017; 19: 127.
73. Wichainun R., Kasitanon N., Wangkaew S., Hongsongkiat S., Sukitawut W., Louthrenoo W. Sensitivity and specificity of ANA and anti-dsDNA in the diagnosis of systemic lupus erythematosus: a comparison using control sera obtained from healthy individuals and patients with multiple medical problems. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2013; 31: 292-8.
74. Mohammed M.E., Abdelhafiz K. Autoantibodies in the sera of breast cancer patients: antinuclear and anti-double stranded DNA antibodies as example. *J Cancer Res Therapeut.* 2015; 11: 341-4.
75. Agustinelli R.A., Rodrigues S.H., Mariz H.A., Prado M.S., Andrade .LE.C. Distinctive features of positive anti-cell antibody tests (indirect immunofluorescence on HEp-2 cells) in patients with non-autoimmune diseases. *Lupus.* 2019; 28: 629-34.
76. Duran A.C., Cuzdan N., Atik T.K. The clinical significance of anti-DFS70 autoantibodies and its correlation with Vitamin D levels. *North Clin Istanbul.* 2022; 9(6): 581-9.
77. Invernizzi P., Pasini S., Selmi C., Gershwin M.E., Podda M. Female predominance and X chromosome defects in autoimmune diseases. *J Autoimmun.* 2009; 33(1): 12-6.
78. Çelikkbilek N., Özdem B., Açıkgöz Z.C. Evaluation of Anti-Nuclear antibody test results in clinical practice. *J Microbiol Infect Dis.* 2015; 5(2): 63-8.
79. Marder W., Vinet É., Somers E.C. Rheumatic autoimmune diseases in women and midlife health. *Women's Midlife Heal.* 2015; 1(1): 11.
80. Azeez H.J., Bayram Y., Parlak M., Akyüz S., Güdücüoğlu H. Evaluation of Anti-nuclear Antibody (ANA) Results of Yüzüncü Yıl University Faculty of Medicine. *Med Res Rep.* 2020; 3(2): 24-8.
81. Carbone T., Pafundi V., Tramontano G., Gilio M., Padula M.C., Padula A.A., et al. Prevalence and serological profile of anti-DFS70 positive subjects from a routine ANA cohort. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 2177.
82. Jeon Y.L., Kim M.H., Lee W.I., Kang S.Y. Comparison of indirect immunofluorescence and line immunoassay for autoantibody detection. *Clin Exp Rheumatol.* 2013; 31(1): 84-90.

83. Won D.I., Park J., Kim B.S., Kim C.E., Yoon H.S., Jung J.S. Stratification of Nuclear Homogeneous Patterns on HEp-2 Cells Based on Neutrophil Nuclear Staining. *Chonnam Med J.* 2021; 57(1): 51-7.
84. Mariz H.A., Sato E.I., Barbosa S.H., Rodrigues S.H., Dellavance A., Andrade L.E. Pattern on the antinuclear antibody-HEp-2 test is a critical parameter for discriminating antinuclear antibody-positive healthy individuals and patients with autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.* 2011; 63: 191-200.
85. Gür Vural D., Tanrıverdi Çaycı Y., Bıyık İ., Bilgin K., Birinci A. Evaluation of immunoblotting test results in patients with positive antinuclear antibodies. *Turkish Bull Hyg Exp Biol.* 2021; 78(4): 443-50.
86. Karakeçe E. Antinuclear Antibody Positivity in a University Hospital. *Turkish J Immunol.* 2014; 2(1): 5-8.
87. Ochs R.L., Stein T.W. Jr., Peebles C.L., Gittes R.F., Tan E.M. Autoantibodies in interstitial cystitis. *J Urol.* 1994; 151(3): 587-92.
88. Conrad K., Röber N., Andrade L.E., Mahler M. The Clinical Relevance of Anti-DFS70 Autoantibodies. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2017; 52(2): 202-16.
89. Dai L., Li J., Ortega R., Qian W., Casiano C.A., Zhang J.Y. Preferential autoimmune response in prostate cancer to cyclin B1 in a panel of tumor-associated antigens. *J Immunol Res.* 2014; 2014: 827827.

EKLER

EK 1: T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 21.11.2023 tarih ve 209(29) sayılı toplantısı 3591 sayılı Yönetim Kurulu Kararı.

EK 2: Ankara Valiliği İl Sağlık Müdürlüğü Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi Bilimsel Araştırma Değerlendirme Kurulu (BADEK) ve Eğitim Planlama Kurulu (EPK)'nun 24.01.2024 tarih ve 2 nolu kurul kararı.

EK 3: Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu 27.02.2024 tarih ve 2024/02 toplantı numaralı ve 2024/95 sayılı kararı.

EK 1: T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 21.11.2023 tarih ve 209(29) sayılı toplantısı 3591 sayılı Yönetim Kurulu Kararı.



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANKARA

**GÜLHANE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÖNETİM KURULU KARARI**

Toplantı Tarihi : 21.11.2023
Toplantı Sayısı : 209(29)
Karar Sayısı : 00003591

Tıbbi Mikrobiyoloji yüksek lisans programı öğrencisi Sevinç KARABULUT'un tez konusu önerisi, Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 21.11.2023 tarih 209(29) sayılı oturumunda oy birliğiyle kabul edildi.

Öğrencinin:

| Adı Soyadı | Statüsü | Tez Konusu |
|---------------------|------------------|--|
| Sevinç KARABULUT | Yüksek Lisans | Antinükleer antikor testi yapılan hastalarda anti-DFS70 antikorlarının prevalansı ve otoimmün antikor profilinin araştırılması |

YÖNETİM KURULU

Prof. Dr. Onur GENÇ
Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ali ALBAY
Üye

Prof. Dr. Yalçın ÖZKAN
Üye

Prof. Dr. Simele AYYILDIZ
Üye

Prof. Dr. Hatice AYHAN
Üye

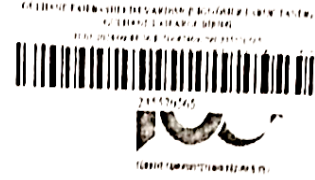
Dr. Öğr. Üyesi Okan Ali AKSOY
Üye

Prof. Dr. Yalçın ÖZKAN
Enstitü Sekreteri Vekili

EK 2: Ankara Valiliği İl Sağlık Müdürlüğü Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi Bilimsel Araştırma Değerlendirme Kurulu (BADEK) ve Eğitim Planlama Kurulu (EPK)'nun 24.01.2024 tarih ve 2 nolu kurul kararı.



T.C.
ANKARA VALİLİĞİ
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi



Sayı : E-50687469-799-235570565
Konu : 24.01.2024 Tarihli Bilimsel Araştırma
Değerlendirme Kurulu (BADEK) ve
Eğitim Planlama Kurulu (EPK) Kararları
İlk.

31.01.2024

DAĞITIM YERLERİNE

Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Bilimsel Araştırma Değerlendirme Kurulu (BADEK) ve Eğitim Planlama Kurulu (EPK)'nun 24.01.2024 tarih ve 2 no'lu kurul kararları Ek'te sunulmuştur.

Gereğini bilgilerinize arz/rica ederim.

Doç. Dr. Soner YILMAZ
Başhekim Yardımcısı

Ek:

- 1 - 24.01.2024 Tarihli BADEK Kararları
- 2 - 24.01.2024 Tarihli EPK Kararları

Dağıtım:

- Genel Cerrahi Kliniği
- Ortopedi Ve Travmatoloji Kliniği
- Sualtı Hekimliği Ve Hiperbarik Tıp Kliniği
- Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Kliniği
- Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği
- Dahiliye Yoğun Bakım Kliniği
- Romatoloji Kliniği
- Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği
- Kadın Doğum Hastalıkları Ve Doğum Kliniği
- Nükleer Tıp Kliniği
- Çocuk Ve Ergen Ruh Sağlığı Ve Hastalıkları Kliniği
- Beyin Ve Sinir Cerrahisi Kliniği

EK 3: Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu
27.02.2024 tarih ve 2024/02 toplantı numaralı ve 2024/95 sayılı kararı.



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 46418926

27.02.2024

Konu : Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul Kararları

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

TOPLANTI TARİHİ : 27.02.2024
TOPLANTI SAATİ : 13:30 (toplantı online yapılmıştır)
TOPLANTI NO : 2024/02
PROJE/ KARAR NO : 2024-95 (Değerlendirilme Tarihi: 27.02.2024)

Üniversitemiz Gülhane Tıp Fakültesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında görevli Doç. Dr. Tuğrul HOŞBUL'un sorumlu araştırmacı, Yüksek Lisans Öğrencisi Biyolog Sevinç KARABULUT'un yardımcı araştırmacı olduğu, 2024/95 kayıt numaralı, "**Antinükleer Antikor Testi Yapılan Hastalarda Anti-DFS70 Antikorlarının Prevalansı ve Otoimmün Antikor Profilinin Araştırılması**" başlıklı yüksek lisans tezi proje önerisi, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur. Rica ederim.

| Sıra No | Unvanı ve Adı/Soyadı | Kuruldaki Görevi | İmza |
|---------|----------------------------------|-------------------|------|
| 1 | Prof. Dr. Ahmet COŞAR | Başkan | |
| 2 | Prof. Dr. Alper GÖZÜBÜYÜK | Başkan Yardımcısı | |
| 3 | Prof. Dr. Selahattin BEDİR | Üye | |
| 4 | Prof. Dr. Levent KENAR | Üye | |
| 5 | Prof. Dr. Ali Kağan COŞKUN | Üye | |
| 6 | Prof. Dr. Hüseyin Levent YAMANEL | Üye | |
| 7 | Prof. Dr. Fulya TOKSOY TOPÇU | Üye | |
| 8 | Prof. Dr. Gülten GÜVENÇ | Üye | |
| 9 | Prof. Dr. Dilek YILDIZ | Üye | |
| 10 | Prof. Dr. Eda PURUTÇUOĞLU | Üye | |
| 11 | Prof. Dr. Mehmet Erhan YUMUŞAK | Üye | |
| 12 | Prof. Dr. Umut BEYLİK | Üye | |
| 13 | Prof. Dr. Onur ERDEM | Üye | |
| 14 | Doç. Dr. Serkan PEKÇETİN | Üye | |
| 15 | Doç. Dr. Asiye Çiğdem ŞİMŞEK | Üye | |
| 16 | Doç. Dr. Sait YEŞİLLİK | Üye | |
| 17 | Doç. Dr. Nezahat Özgül ÜNLÜER | Üye | |
| 18 | Doç. Dr. Eray Serdar YURDAKUL | Üye | |

ÖZGEÇMİŞ VE İLETİŞİM BİLGİLERİ

A. KİŞİSEL BİLGİLER

| | |
|----------------------|------------------|
| Adı Soyadı | Sevinç KARABULUT |
| Doğum yeri ve tarihi | |
| Uyruğu | |
| Medeni durumu | |
| Askerlik durumu | - |
| Telefon numarası | |
| Adres | |
| E-posta adresi | |

B. EĞİTİM BİLGİLERİ

| Yıl | Bölüm | Okul adı | |
|-----------|--|---|---------------|
| 2021-2022 | Tıbbi Mikrobiyoloji | Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü | Yüksek lisans |
| 2017-2020 | Biyoloji | Hittit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi | Lisans |
| 2007-2009 | Laboratuvar ve Veteriner Sağlık Pr. | Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi | Ön lisans |
| 1993-1996 | Lise | Hacı Mehmet Sabancı Lisesi | Lise |

C. İŞ TECRÜBESİNE AİT BİLGİLER

| Tarih Aralığı | Kurum | Görev |
|---------------|---------------------------------------|-----------------------|
| 2010-2016 | Gülhane Askeri Tıp Akademisi | Laboratuvar Teknikeri |
| 2016- devam | Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi | Laboratuvar Teknikeri |

D. ARAŞTIRMALARLA İLGİLİ BİLGİLER

| 1. Yayınları |
|--|
| Kemal TEKİN, Hasan KARAKUŞ, Sevinç KARABULUT, Fatih ŞAHİNER, Ramazan GÜMRAL. İmmünoloji Laboratuvarında Akılcı Test Seçimi: Antinükleer Antikor (ANA) İstemlerinin ve Sonuçlarının Diğer Testler ile Birlikte İncelenmesi. <i>Choosing Wisely in Immunology Laboratory: Reviewing of Antinuclear Antibody (ANA) Test Requests and Results Together with Other Tests</i> . Life Med Sci. 2023; 2(3): 125-36. doi: 10.54584/lms.2023.38 [Araştırma Makalesi] |