

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GENEL DAHİLİYE POLİKİLİĞİNE BAŞVURAN
HASTALARDA DFS-70 ANTİ NÜKLEER ANTİKOR
POZİTİFLİĞİNİN KLİNİK SONUÇLARININ ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Narmin BEYDULOVA

İç Hastalıkları Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Eskişehir
2023

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GENEL DAHİLİYE POLİKİLİĞİNE BAŞVURAN
HASTALARDA DFS-70 ANTİ NÜKLEER ANTİKOR
POZİTİFLİĞİNİN KLİNİK SONUÇLARININ ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Narmin BEYDULOVA

İç Hastalıkları Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Pınar YILDIZ

Eskişehir
2023

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr. Narmin BEYDULOVA'ya ait 'Genel dahiliye polikliniğine başvuran hastalarda DFS-70 Anti Nükleer Antikor pozitifliğinin klinik sonuçlarının etkisinin değerlendirilmesi' adlı çalışma jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Pınar YILDIZ
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Timuçin KAŞİFOĞLU
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Melisa ŞAHİN TEKİN
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun
...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Atilla Özcan ÖZDEMİR
Dekan

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve uzmanlık eğitimim boyunca bilgi birikimi ve tecrübeleri ile destek olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Pınar YILDIZ'a, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalından Prof. Dr. Nilgün KAŞİFOĞLU'na, uzmanlık eğitimim ve tez çalışmamdaki katkılarından dolayı değerli hocam Prof. Dr. Timuçin KAŞİFOĞLU'na, Biyoistatistik Ana Bilim Dalından Prof. Dr. Ertuğrul ÇOLAK'a, uzmanlık eğitim dönemi boyunca bilgi, tecrübe ve görüşlerini benimle paylaşan tüm değerli hocalarıma ve uzmanlarıma, desteklerini her zaman yakından hissettiğim başta annem Peri BEYDULOVA ve babam İlham BEYDULOV olmakla canım aileme, arkadaşlarıma, asistanlık süresi boyunca birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım sevgili hekim arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Beydulova N. Genel Dahiliye polikliniğine başvuran hastalarda DFS-70 Anti Nükleer Antikor pozitifliğinin klinik sonuçlarının etkisinin değerlendirilmesi Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2023 Otoimmün hastalıklar, organizmanın kendi doku ve hücrelerine karşı immün yanıt gelişmesi sonucu oluşmaktadır ve bu hastalıkların tanısında otoantikor testleri büyük önem taşımaktadır. Hücre nükleusuna karşı gelişen Anti Nükleer Antikor (ANA) adı verilen otoantikorlar, bağ doku hastalıklarında önemli bir tanı kriteridir. ANA'ların tespit edilmesinde 1954 yılından beri İndirekt İmmünfloresan (IIF) testi yaygın olarak kullanılmaktadır. Test aynı zamanda antikorun boyanma özelliği ve titresini hakkında da bilgi vermektedir. Çalışmamızda 2019-2021 yılları arasında genel dahiliye polikliniğine romatolojik şikayetlerle başvuran ve ANA testi çalışılan 1500 hastanın ANA IIF boyanma paterni açısından taraması yapıldı. Bu çalışmada amacımız ANA IIF sonucu yoğun ince benekli DFS70 boyanma özelliğinde olan ve immunblot yöntemiyle doğrulanmış anti-DFS70 pozitif olan hastaları saptamak, klinik bulgular ve romatolojik hastalıklarla ilişkisini değerlendirmektir. 1500 hastanın 111'i IIF yoğun ince benekli boyanma paterninde (DFS70 benzeri) saptanmış olup 40 hastanın immunblot yöntemi ile anti-DFS70 antikoru doğrulandı. ANA IIF yoğun ince benekli DFS70 benzeri boyanan 70 hasta, anti-DFS70 pozitif 40 hasta ve kontrol grubu olarak ANA negatif 30 hastanın romatolojik semptomlar açısından klinik sorgulaması, laboratuvar tetkikleri retrospektif olarak değerlendirildi ve gruplar karşılaştırıldı. Anti-DFS70 pozitif grupla diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı ve kliniği etkileyebilecek bir sonuca ulaşılamadı. Çalışma grubumuzdaki anti-DFS70 pozitif 40 hastanın 14'üne farklı sistemik inflamatuvar ve otoimmün hastalık tanısı konulmuştur. Bu hastalardan 3 hasta olası SLE olarak kabul edilip takibe alınmıştır. Literatürde anti-DFS70 pozitif hastaların bağ doku hastalığı tanısı ile ilişkisi tartışmalı olup sistemik farklı inflamatuvar ve alerjik hastalıklarla ilişkisini gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Konuyla ilgili prospektif, geniş ölçekli ve daha uzun takip süreli çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: Anti Nükleer Antikor, otoimmün hastalık, otoantikor, DFS70

ABSTRACT

Beydulova N. Evaluation of the relationship of Anti Nuclear Antibody (ANA) and Dense fine speckled staining pattern (DFS70-like) with clinical outcomes in general internal medicine outpatient clinic. Eskisehir Osmangazi University Faculty of Medicine Department of Internal Medicine Medical Specialization Thesis, Eskisehir, 2023.

Autoantibody tests are of great importance in the diagnosis and follow-up of the treatment of autoimmune diseases. Autoantibodies called Anti Nuclear Antibody (ANA) against the cell nucleus are important diagnostic criterion in connective tissue diseases. The Indirect Immunofluorescence (IIF) test has been widely used since 1954 to detect ANA directed against these targets. We screened 1500 patients who presented to the general internal medicine outpatient clinic with rheumatologic complaints during 24 months between 2019 and 2021 for ANA IIF staining pattern. In this retrospective study we aimed to identify patients with Dense fine speckled-DFS70 staining and immunoblot-confirmed anti-DFS70 positive patients and to evaluate the relationship with clinical findings. Of the 1500 patients screened in the study, 111 patients were found to have IIF Dense fine speckled staining pattern (DFS70) and the anti-DFS70 antibody was confirmed by immunoblot method in 40 patients. Our study group consisted of 71 patients with ANA IIF Dense fine-speckled DFS70 staining pattern, 40 patients with confirmed anti-DFS70 antibodies, and 30 ANA-negative patients in the control group. The patients' rheumatologic clinical query and laboratory tests were evaluated retrospectively between the groups. The general complaint of the patients with dense fine speckled staining (DFS70-like) was diffuse body pain. Of the 40 patients in our study group, 4 patients (28.6%) were diagnosed with fibromyalgia, 3 with probable SLE (21.5%), 2 with urticaria (14.4%), 1 patient (7.1%) with multiple sclerosis, 1 patient (7.1%) with myasthenia gravis, 1 patient (7.1%) with sarcoidosis, 1 patient (7.1%) with Graves' disease, and 1 patient (7.1%) with pulmonary thromboembolism. In the literature, the association of Anti-DFS70 positive patients with rheumatologic disease diagnosis is controversial and there are results associated with different systemic inflammatory and allergic diseases.

Key Words: Anti Nuclear Antibody, autoimmune diseases, DFS-70, anti-DFS70

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİ	4
2.1 İmmün sistem	4
2.2 İmmün yanıt	5
2.3.İmmünolojik tolerans	6
2.4. Otoimmünite	8
2.5 Otoimmünite oluşumunu etkileyen faktörler	11
2.6. Otoimmün hastalıklar	12
2.7.Otoimmün hastalıkların epidemiyolojisi	21
2.8. Otoantikörler	22
2.9. Anti-nükleer antikörler	25

3.GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. Etik Kurul Onayı	40
3.2. Olgı seçimi	40
3.3 ANA ve ANA profil ölçümlerinde kullanılan yöntemler	42
3.4. İstatistiksel Analiz yöntemi	43
3.5. Hasta grubu	43
4.BULGULAR	44
5.TARTIŞMA	57
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AD	Atopik Dermatit
AFAS	Antifosfolipit Sendrom
ANA	Anti Nükleer Antikor
Anti-CCP	Anti- Cyclic Citrullinated Peptide
APC	Antigen Presenting Cell
ASH	Antijen Sunan Hücre
BCR	B cell ixeseptör
CIE	Counter Immünoelektroforez
CRP	C Reaktif Protein
DFS70	Dense Fine speckled 70
DM	Diabets Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ENA	Ekstrakte edilmiş hücre antijen
ESH	Eritrosit Sedimentasyon Hızı
FasL	Fas Ligand
GPA	Granülomatöz polianjitis
Hep2	Human laryngeal epidermoid karsinoma
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HLA	Human Leucocyte Antigen
ICAP	International Consensus on ANA PatternsIg- Immunglobin
IIF	İndirekt İmmünfloresan testi
IL	İnterlökin

IRMA	Immunoradiometrik Assay
LEDGF	Lens Epithelium-derived growth factor
LEMS	Lambert- Eaton Myastenik Sendromu
MBDH	Mikst Bağ Dokusu Hastalığı
MHC	Major histocompatibility complex
OİH	Otoimmün hastalıklar
RA	Romatoid artrit
RF	Romatoid Faktor
RIA	Radioimmunoassay
RNA	Ribonükleik asit
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
Sm-	Smith antikoru
SSc	Sistemik skleroderma
SS	Sjögren sendromu
TCR	Tcell xeseptör
Th	T helper
UV	Ultraviyole

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Ana Boyanma Paterni	29
2.2 Homojen Patern	31
2.3 Nükleer Membran Patern	31
2.4. Benekli Patern	32
2.5.Yoğun İnce Benekli- DFS-70 Benzeri Patern	33
2.6. Sentromer Patern	35
2.7 Nükleolar Paterni	36

TABLOLAR

2.1. Otoimmün hastalıklarda bağışıklık yanıtının tipi	13
2.2. Otoimmün hastalıklar	14
2.3.SLE sınıflandırma kriterleri	16
2.4. Sistemik lupus eritematozus'ta laboratuvar anormalliklerin sıklığı (%)	18
2.5. SLE'de sık olarak görülen otoantikorlar ve ilişkili klinik tablolar	19
2.6. Romatizmal hastalıklarda otoantikor sıklığı	23
2.7. Sağlıklı populasyonda ANA pozitiflik oranı	26
2.8. ANA pozitifliğinin hastalıkların tanısında yeri	26
2.9. Sık saptanan ANA IIF paternleri ve ilgili antijenler	30
2.10. Otoantikor tayininde kullanılan yöntemler	38
3.1. Romatolojik sorgulamada kullanılan semptom ve bulgular	42
4.1. Anti-DFS70 antikor pozitif olan hasta grubu, ana ıf yoğun ince benekli -DFS70 benzeri boyanma paterninde olan grup ve ANA IIF negatif olan hasta grubu arasında cinsiyet dağılımı	45
4.2. Anti-DFS 70 antikor pozitif olan (n=40), ANA IIF Yoğun	

ince benekli boyanma paterni (DFS 70- benzeri) gösteren (n=71) ve ANA IIF negatif olan (n=30) hastaların yaş, hemogram vebazı laboratuvar testleri açısından karşılaştırılması	47
4.3. Anti-DFS 70 antikoru pozitif olan (n=40), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma paterni (DFS70-benzeri) gösteren (n=71) ve ANA IIF negatif olan (n=30) hastaların romatolojik semptomlar açısından karşılaştırılması	50
4.4. Anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupla ANA IIF negatif olan grup arasında cinsiyet dağılımı	51
4.5. Anti-DFS 70 antikoru pozitif olan hasta grup ile ANA IIF negatif olan hasta grubunun laboratuvar parametreleri açısından karşılaştırılması	52
4.6. Anti-DFS 70 antikoru pozitif olan hasta grup ile ANA IIF negatif (n=30) olan grubun romatolojik semptomlar açısından karşılaştırılması	53
4.7. Anti-DFS 70 antikoru pozitif olan, ANA IIF yoğun ince benekli boyanma paterni-DFS 70 benzeri ve ANA IIF negatif olan (n=30) hastaların inflamasyon belirleyici olarak kullanılan ESH ve CRP'nin üst sınır değerlerine göre karşılaştırılması	55

4.8. Anti-DFS 70 pozitif olan hastaların klinik tanıları

58



1.GİRİŞ

Otoimmün hastalıklar, organizmanın kendi doku ve hücrelerine karşı immün yanıt gelişmesi sonucu oluşmaktadır ve bu hastalıkların teşhis ve tedavisinin takibinde otoantikör testleri büyük önem taşımaktadır (1). Anti nükleer antikör (ANA) adı verilen, hücre nükleusuna karşı gelişen otoantikörler, bağ doku hastalıklarında önemli bir tanı kriteridir. ANA'ların tanısında 1954 yılından beri İndirekt İmmünfloresan (IIF) testi yaygın olarak kullanılmaktadır. Testte hayvan (fare, maymun gibi) karaciğer, böbrek, mide doku kesitleri substrat olarak kullanılmış olup, günümüzde epitelyal kültür hücreleri (insan larenks karsinoma hücreleri, insan epitelyal hücre serisi- 2 (HEp-2), Amerikan doku koleksiyonu CCL-23) daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu hücreler düz cam yüzeylerde gelişebilir ve fikse edildiklerinde antikörlerin hücrelerin içine girmeleri mümkün olur. Hücre döngüsünün farklı aşamalarında eksprese olan antijenlere karşı antikörler doku substratlarında saptanamazken kültür hücrelerinde tespit edilebilmektedir (2). HEp-2 hücrelerini kullanarak IIF testi ile nükleer paternlerin yanı sıra sitoplazmik ve mitotik hücre paternleri de değerlendirilebilir. Bu nedenle bu otoantikörleri tanımlamak için ANA yerine "anti-cell antikör" terimi önerilmektedir. Uluslararası ANA Paternleri Konsensus'u (The International Consensus on ANA Patterns (ICAP)), paternleri nükleer, sitoplazmik ve mitotik olarak üç ana sınıfa ayırmış, AC (anti-cellular)-0'dan AC-29'a kadar numaralandırarak tanımlamıştır (3). Romatolojik hastalıklarda ANA pozitifliği tanıda önem taşır. Bağ doku hastalıklarında romatolojik yakınmaları olan kişilerde ANA testi tarama testi olarak da kullanılır. Ancak bu testin sadece pozitif saptanması yeterli değildir; aynı zamanda boyanma paterni ve titresiyle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Otoantikör pozitifliklerinde gözlenen boyanma paternleri, klinik açıdan hastalıklarla ilişkilendirilebilir. ANA IIF testinde laboratuvar test sonuç raporunda, testte kullanılan substrat doku veya hücresi, tarama titresi (1/100 veya 1/160), dilüsyonlu çalışılmışsa titre (ileri dilüsyon çalışmasındaki pozitiflik saptanan en yüksek titre), floresans şiddeti (otoantikör derişimiyle ve titreye ilişkili olup 1+, 2+, 3+, 4+ olarak verilir), hücrenin nükleus, nükleolus, nükleus membranı, sitoplazma, diğer organellerde ve mitotik hücrelerde gözlenen boyanma paterni/paternleri, ilişkili olabilecek otoantikörler belirtilmektedir (4). Otoantikör pozitifliklerinin klinik

verilerle birlikte değerlendirilmesi ve klinik bulgusu olmayan ancak otoantikor pozitifliği saptanan olguların uzun süreli takibi önerilmektedir. Bazı spesifik görüntüler sadece spesifik substratlar ile görülebilir. Örneğin anti-Ro ve anti-sentromer antikorlar sadece bölünmekte olan HEp-2 hücrelerinde gözlenebilirler (5). Test ile ilgili bir diğer önemli nokta ANA pozitifliğinin sağlıklı bireylerde de görülebmesidir. 20 ila 60 yaşları arasındaki sağlıklı gönüllüler üzerinde yapılan çok merkezli büyük bir çalışmada, sırasıyla 1:40 ve 1:160 dilüsyonlarında serumların %32 ve %5'inde ANA pozitifliği saptandığı bildirilmiştir (6). 2002'de Amerikan Romatoloji Koleji (ACR) tarafından atanan bir komite, ANA testi için kanıta dayalı kılavuzlar yayınlamıştır (6). Komite, pozitif bir ANA sonucunun Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) ve sistemik skleroderma (SSc) tanısı için çok yararlı olduğu, Sjögren sendromu (SS), polimiyozit ve dermatomiyozit tanısı için biraz yararlı olduğu sonucuna varmıştır. ANA testi, asemptomatik üveit riski taşıyan juvenil idiyopatik artriti olan hastaları belirlemede ve primer Raynaud fenomeni olan hastaları, altta yatan bir sistemik otoimmün hastalıkla ilişkili sekonder Raynaud fenomeni olan hastalardan ayırmada yararlıdır. Pozitif bir ANA sonucu ayrıca ilaca bağlı lupus, Mikst Bağ Dokusu Hastalığı (MBDH) ve otoimmün hepatit için tanı kriterlerinin bir bileşenidir. 2014 yılında Brezilya, Sao Paulo'da Antinükleer Antikor paternleri üzerine bir Uluslararası Konsensüs çalışmayı (ICAP) düzenlendi. İlk ve sonraki toplantıların amacı "otoantikor terminolojisinin doğru anlaşılmasını teşvik etmek ve böylece klinik yaklaşımda ANA kullanımını optimize etmek" idi. ICAP üyeleri, 29 farklı HEp-2 hücre IIF paterninin tanımı ve klinik önemi konusunda fikir birliğine varmışlardır. ICAP çalıştay katılımcıları, tüm "yetkin düzeydeki" laboratuvarlar tarafından "bildirilmesi" gereken 11 boyama modeli (6 nükleer, 5 sitoplazmik) olduğunu öne sürdüler. (Ek bir 18 ANA boyama paterni "uzman düzeyinde" laboratuvarlar tarafından "raporlanmalıdır"). Tıbbi Laboratuvar İmmünologları Derneği ve Amerikan Klinik Patoloji Derneği üyeleri arasında yapılan bir anketin sonuçları, ICAP kılavuzlarının farkındalığının arttığını ve kabul edildiğini göstermektedir (7). Son dönemde sıklıkla gördüğümüz yoğun ince benekli (DFS70 benzeri) boyanma paterninde nükleoplazma yoğun ince benekli tarzda boyanırken benzer benekler metafaz evresindeki hücrelerin kromozomlarında da gözlenir (8). Anti- DFS70

antikorunun sağlıklı bireylerde %4,2-33,1 oranlarında görülebildiğine dair çalışmalar mevcuttur. Anti-DFS70 antikor ilk başlarda interstisyel sistit tanılı hastadan bir ANA IIF paterni olarak tanımlanmış, ancak daha sonra çeşitli diğer durumlarla ilişkilendirilmiştir (9). İzole anti-DFS70 antikor pozitifliği saptandığında klinisyenleri genellikle sistemik romatizmal hastalık tanısından uzaklaştırmaktadır (10). İntersistiyel sistit, atopik dermatit, alopesia areata, astım, pediatrik kronik yorgunluk sendromu gibi sistemik olmayan otoimmün hastalıklarda ve bunun yanında çeşitli kanserler ve göz hastalıklarında da anti-DFS70 pozitifliği görülebildiği bildirilmektedir (11). Biz de Ocak 2019-şubat 2021 arasındaki 2 yıllık sürede romatolojik semptom ve bulgularla polikliniğimize başvuran, ANA ve/veya ANA profil (Blotting) testi istenen hastalarda yoğun ince benekli-DFS70 benzeri boyanma paterni ve anti-DFS70 antikor pozitifliği saptanan hastalar ile saptanmayanların klinik ve laboratuvar tetkikleri yönünden değerlendirmesini yapmayı ve anti-DFS70 antikor pozitifliğinin klinik bulgular ve romatolojik hastalıklarla ilişkisini araştırmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİ

2.1 İmmün sistem

İmmün sistemin temel görevi, bireyi zararlı dış etkenlerden korumak ve vücudun işlevlerini normal olarak sürdürebilmesini sağlamaktır (12). İmmünite ve immün yanıtın gelişiminde büyük bir uyum içinde rol alan organ ve dokular, hücreler ve çözünür moleküller immün sistemin oluşumunda esas rol oynar. İmmün sistemin en önemli özelliği yabancı maddeleri (antijen) kendi (öz, self) yapılarından ayırt edebilmek, yabancıları tanıyarak onları vücuttan elimine etmek ve aynı antijenle tekrar karşılaştığında onu hatırlayarak (immünolojik bellek) enfeksiyona karşı bir direnç göstermektir. İmmün sistemin tüm komponentleri arasındaki karmaşık ilişkiler, otokrin ve endokrin fonksiyon gösteren çok sayıda aracı (mediyatör) ve düzenleyici (regülatör) sinyal proteinleri (sitokinler) tarafından sağlanır. Ayrıca tüm immün yanıt tipleri, homeostazın sağlanmasına yönelik düzenleyici birçok mekanizma tarafından kontrol edilir (13). İmmün sistemin uygun bir şekilde fonksiyon görmesinde esas olan, immün hücrelerin yabancı bir ajanı tanımasını, amplifikasyonunu ve yabancı ajanlara yanıt vermesini düzenleme yeteneğidir. İmmün sistem bir yabancı patojeni bir diğerinden ayırt etmeli aynı zamanda da vücuttaki normal hücreler ile proteinleri bu yabancı moleküllerden ayırmalıdır. Bu mekanizmalar birbiri ile bağlantılı iki savunma sistemine ayrılabilir: Non-spesifik veya kalıtsal immün sistem (doğal direnç) ve spesifik ya da edinsel immün sistem (12).

Non-spesifik (Kalıtsal) immünite (Doğal direnç): Savunma sisteminin ilk aşaması olan non-spesifik immün sistem, organizmaya ait olan ile yabancı olanı ayırt eder. Ancak bir patojen tipini diğerinden ayırt etmez. Non-spesifik direnç iki genel savunma hattından meydana gelir. Mikroorganizmalar cildimizin epitel dokusu, solunum yolu, gastrointestinal yol ve ürogenital yollardaki müköz membranlardan geçerken ilkdirenç hattı ile karşılaşırlar. Savunmanın ikinci aşaması ise, kimyasal sinyalleri, antimikrobiyal peptidleri, antifagositik ve doğal öldürücü hücreleri ve enflamasyona yanıt ile ilişkili ateşi kapsar (12).

2.2 İmmün yanıt

İmmün yanıtı başlatan yabancı maddeler antijen veya immünojen olabilir. İmmünojen kavramı, sadece immün yanıt oluşturma yeteneğindeki herhangi bir madde için kullanılır. Antijen ise bir molekülün, spesifik immünitinin ürünleri ile reaksiyona girebilme yeteneğini tanımlar, her zaman spesifik immüniteyi oluşturmaması beklenemez. Bütün immünojenlerin antijen olduğu ifade edilir, ancak bunun aksi her zaman geçerli değildir. Yeryüzünde yaklaşık 10^9 sayıda antijenin var olduğu kabul edilmektedir. Hastalık yapan mikroorganizmaların çoğu iyi bir antijen yapısına sahiptir (11).

2.2.1.İmmün yanıtın özellikleri

İmmün yanıt, birbirinden farklı milyonlarca antijene yanıt verebilir. Uzun süreli bir belleğe sahiptir. Bellek T hücreleri ve bellek B hücrelerinin üretimi nedeniyle ilk karşılaşmadan yıllar sonra bile aynı ajana yanıt verebilir. İmmün yanıtın etkileri, bu yanıtı başlatan antijene özgün olarak yönelmiştir (14).

Spesifite

Antijenlerin lenfositler tarafından spesifik olarak tanınan kısımlarına “antijenik determinant” ya da epitop adı verilir. Henüz spesifik antijen ile karşılaşmamış bir konakçıda her türlü antijeni tanıyıp reaksiyon verebilecek, antijen spesifik lenfosit klonları mevcuttur. Yabancı antijen organizmaya girdiği anda kendine özgü yüzey reseptörünü taşıyan lenfosit klonunu seçer ve aktive olur, çoğalır. Bu olaya “primer immün yanıt” adı verilir. Aynı antijen ile tekrar karşılaşıldığında; önceki karşılaşmada gerçekleşen immünizasyon sonucu, antijen spesifik lenfositlerin klonal olarak genişlemesi ile immün yanıt daha erken ve daha kuvvetli gelişir. Buna “sekonder immün yanıt” denir (15).

Çeşitlilik (Diversity)

Memelilerde immün sistemin 10^9 farklı antijeni tanıma kapasitesi bulunduğu düşünülmektedir. Bu özellik “Lenfosit Repertuarı” olarak bilinir. Bir klondaki lenfositlerin antijeni tanıyan reseptörleri aynıdır. Her lenfosit klonunun antijen reseptöründe antijen bağlanma yerinin farklı olması repertuarın ne kadar geniş olabileceğini göstermektedir (15).

Hafıza (Bellek)

İmmün sistem bir antijenle tekrar karşılaştığında daha kuvvetli ve hızlı immün yanıt sağlar. Bu özelliğe immünolojik bellek veya immunolojik hafıza adı verilir. Antijeneher maruziyet o antijen için spesifik olan klonun veya klonların artmasına sebep olur. Antijenik uyarı ile oluşan bellek hücreleri uzun ömürlü hücrelerdir (15).

Otoregülasyon

Antijenik uyarıyı takiben normal immün yanıt kendi kendini sınırlar. İmmün yanıt, zararlı olanı ve onu taşıyan hücreyi yok etmeyi hedefler. Bu hedefe ulaşıldığında antijenik uyarı ortadan kalkmış olacağından immün yanıt tamamlanmış olur (15).

Kendini (self'i) yabancı olandan ayırt etme (self-non self ayrımı)

İmmün sistem kendine ait olan antijenleri yabancılardan ayırt etme özelliğini lenfositlerin gelişme sürecinde primer lenfoid organlarda kazanır. Kendine ait yapılara karşı immün yanıt oluşturmaz. Bu duruma self tolerans veya immün tolerans denir. Self toleransın bozulması ile otoimmün hastalıklar meydana gelebilir (15).

2.3.İmmünolojik tolerans

Organizmanın immün sisteminin, belirli bir antijene karşı yanıtı kalması durumuna immünolojik tolerans denir. Bu yanıtı kalma durumunun organizmanın kendisine ait olup immünojenik özellik gösteren determinantlara karşı gelişmesine doğal immünolojik tolerans (self tolerans), yabancı antijenlere karşı gelişmesine ise kazanılmış immünolojik tolerans adı verilmektedir. Toleransa neden olan antijenlere ‘tolerojenler’, immün cevaba yol açanlara ise ‘immünojenler’ adı verilir. Normal koşullarda bütün öz antijenler tolerojen olarak nitelendirilir. İmmünojenik antijenler ise spesifik immüniteyi uyarırlar ve bu antijenlerle tekrarlanan karşılaşmalar sonucunda sekonder immün cevap artar (16). Normal şartlar altında immün sistemin kendi antijenik yapılarına karşı bir immün yanıt oluşturmadağı bilinmektedir. Fakat her bireyin kanında, konnektif dokularında ve hücrelerinde immün yanıt oluşturabilecek yapılar bulunmaktadır. Bu antijenlere self-antijen veya otoantijen denir. Lenfositler ile otoantijenler sıklıkla karşılaşmalarına rağmen

immün yanıt oluşturmamaktadırlar. Bu spesifik yanıtsız kalma durumundan çeşitli mekanizmalar sorumludur (17). Bu mekanizmalar:

- 1) Klonal delesyon: Bu mekanizma, self antijenler ile reaksiyon veren T lenfositlerin timusta olgunlaşmadan apopitoz yolu ile ortadan kaldırılmasıdır. Timustan kaçarak perifere geçmeyi başarabilen T lenfositler ise yine apopitoz ile elimine edilmektedir.
- 2) Saklı antijenler: Beyin, testis ve göz gibi organlarda bulunan antijenler immün sistem ile karşılaşmadıkları için bunlara karşı bir immün yanıt gelişmemektedir.
- 3) Antijeni görmezden gelme: Antijen sunucu hücrelerin (APC) yüzeyinde bazı self antijenler yoğun bir biçimde sergilendikleri için bu antijenlere karşı ne immün yanıt, ne de tolerans gelişmektedir.
- 4) Anerji: Antijen sunucu hücreler tarafından T lenfositlerine karşı yöneltilen tanıma sinyali bu hücrelerin aktive olması için yeterli olmamaktadır.
- 5) Supresyon: Birçok bireyde self antijenler ile güçlü reaksiyon veren B hücreleri bulunmaktadır. Uygun CD4 (+) Th hücrelerinin Treg hücreleri (Ts) ile self reaktif B lenfositlerinin baskılanması sonucunda ortadan kalkmakta veya anerjik fazda kalarak aktive olamamaktadır. Yani self-reaktif B lenfositleri Ts hücreleri ile dolaylı yoldan baskılanmaktadır (17).

2.3.1 Santral tolerans

Kemik iliğinde T hücre grubuna farklılaşan lenfositler timusa gelerek burada olgunlaşmalarını tamamlar. Bu süreçte T lenfositlerde T hücre yüzey reseptörleri (TCR), CD4 (+) ve CD8 (+) yardımcı molekülleri oluşmaktadır. Farklı APC hücreleri tarafından bu olgunlaşma döneminde T lenfositlerine doku uygunluk kompleksine (MHC) bağlı self antijenler sunulmaktadır. MHC-self antijen kompleksine düşük afiniteyle bağlanmış olan T lenfositleri sinyal alamadıkları için spontan bir şekilde apopitozdan korunur ve timusta ölürler. Bu komplekse yüksek afiniteyle bağlanan T lenfositleri ise apopitoz ile ortadan kaldırılır ve bu olay negatif seleksiyon olarak adlandırılır. MHC molekülüne bağlı self yapılara orta düzeyde afinite gösteren diğer T lenfositleri ise timusta olgunlaşmasını tamamladıktan sonra perifere ulaşmayı başarırlar. Bu olay ise pozitif seleksiyon olarak adlandırılır. Santral toleransın oluşabilmesi için otoantijenlerin timusta T hücrelerine tanıtılması gerekmektedir ve

timusta bulunmayan self yapılara karşı tolerans oluşumu için periferel toleransa ihtiyaç duyulmaktadır (15,16). T lenfositlerinin aksine B lenfositleri antijen üzerindeki uygun epitoplara antikor adını verdiğimiz B hücre yüzey reseptörleriyle (BCR) antijen sunumu olmadan veya MHC molekülüyle ilişki kurmadan bağlanmaktadır. Bu nedenle pozitif seleksiyon oluşmamaktadır. Ancak kemik iliğinde negatif seleksiyonla self reaktif, olgunlaşmamış B lenfositleri elimine edilmektedir (18).

2.3.2 Periferel tolerans

T hücrelerinin aktiveleşebilmesi için APC tarafından verilen tanıma sinyali tek başına yeterli olmamakta, aynı zamanda yine APC tarafından alınacak kostimülatör (sekonder) sinyale de ihtiyaç duyulmaktadır. Bu olay interlökin 2 (IL-2) gibi T-hücre büyüme faktörü olarak adlandırılan maddelerin salınımına yol açacaktır. Kostimülatör sinyali alamayan T hücreleri ise uzun süren bir yanıtsızlık dönemine, yani anerjik faza geçmektedirler. APC yüzeyinde kostimülatör moleküllerin sergilenememesi durumunda bu hücrelerin aktive edeceği self reaktif T lenfositleri anerjik hale geçer. IL-2 sentezleyemeyip kısa süre içinde ölürler. Bunun yanında yüksek konsantrasyondaki antijenler, spesifik T hücrelerini sürekli olarak uyarmakta ve onların Fas ligand (FasL) aracılığıyla, apoptozis sonucu ölümüne yol açmaktadır. Bazı lenfositler ise anerjik olmadıkları halde Ts hücreleri tarafından inhibe edilmektedirler. Bu mekanizmaların yanında T lenfositlerinin bazı antijenlere karşı duyarsız kaldığı bilinmektedir (18,19). B hücrelerinin periferde aktiveşebilmeleri için Th hücrelerinin yardımı gerekmektedir. B hücre yüzeyindeki CD40 ligandı ile aktive olmuş T hücresinin yüzeyindeki CD40 ligandı etkileşmekte ve Th2 hücreleri IL-4 ve IL-5 gibi sitokinler salgılamaktadır. Bu yolla, immatur B hücreleri aktive olabilmektedir. B lenfositlerindetolerans oluşumu için gerekli antijen miktarı T hücrelerine oranla daha fazladır. Böylece dolaylı yoldan daha kolay oluşan bir T hücre toleransı, B hücrelerinin de kolaybir yoldan toleransını sağlamaktadır (14,20).

2.4. Otoimmünite

Vücudun kendi antijenlerine karşı yanıtsızlık halinin hasar görmesi ya da kaybolması otoimmünite gelişimini tetiklemektedir. Konağın kendi antijenlerine karşı hücrel ve humoral immün yanıt oluşturmaması otoimmünite olarak adlandırılır.

Otoimmünite reaksiyonlarının neden olduğu doku harabiyeti sonucu oluşan klinik tablolar otoimmün hastalıklar (OİH) olarak tanımlanır. Otoimmün hastalıkların oluşmasında çevresel, genetik ve endojen faktörler rol oynamaktadır (13). Otoimmünitenin oluşmasında etkin olan bazı immünolojik mekanizmalar aşağıdakilerdir:

- *Santral tolerans bozukluğu
- *Periferal toleransın yetersiz kalması durumu
- *Lenfoid organ ve lenfosit bozuklukları
- *Konak antijenlerine benzeyen veya aynı olan mikrobiyal antijenler ile çapraz reaktivite (moleküler taklit) (örn. *Klebsiella pneumoniae* ile ankilozan spondilit; *Streptococcus pyogenes* ile romatizmal ateş ilişkisi).
- * Saklı kalmış antijenlerin travma, operasyon ya da enfeksiyonlar sonucu açığa çıkması.
- * Konağın kendi antijenlerinde mikroorganizmalar, ilaçlar, vb. tarafından oluşturulan değişiklik (çapraz reaktivite gösteren yani antijenlerin oluşması).
- *Belirli HLA tiplerinin varlığı (ankilozan spondilit için HLA-B27, sistemik lupus için HLA-DR3, romatoid artrit için HLA-DR4 varlığı risk teşkil eder)
- *Mikrobiyal antijenler tarafından Antijen Sunan Hücre (ASH) uyarımı ve sitokin üretiminin artırılması (13).

2.4.1 Otoimmünite mekanizmaları

Organizmanın kendi dokularına karşı immün sistemin yanıtsız kalması immünolojik tolerans mekanizmaları aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. İmmün sistemin bu görevinin aksaması ise otoimmüniteye neden olmaktadır (19).

Otoimmünite gelişiminin temel mekanizmaları

Moleküler taklit

Çeşitli virüs ve bakteriler, yardımcı T veya B hücrelerin etkinleşmesini tetikleyen çapraz tepki verici antijenlerin kaynağı olarak saptanmıştır. Örneğin, Reiter sendromu *Shigella* veya *Chlamydia* enfeksiyonlarından sonra, Guillain-Barre

sendromu *Campylobacter* enfeksiyonlarından sonra görülür. Bu olayları açıklayabilmek için ‘moleküler taklit’ kavramı kullanılır. Dış ortamdan gelen uyaranlar, çapraz reaksiyon veren vücut yapıtaşına yönelik bir bağışıklık saldırısını başlatmaya yetecek oranda birvücut yapıtaşına benzer (taklit eder). Moleküler takliti en iyi karakterize eden örneklerden bir tanesi *S. pyogenes*’ in M proteini ile kalp kası miyozin arasındaki ilişkidir. Bazı M proteinlerine karşı gelişen antikorlar, romatizmal ateşe yol açmak üzere kardiyak miyozin ile çapraz tepkime verirler. Moleküler taklit varsayımını destekleyen ek kanıtlar arasında, bazı viral proteinler ile bazı insan proteinlerinin aynı amino asit dizilerine sahip olması vardır. Örneğin, hepatit B polimeraz ile insan miyelin bazik proteini aynı amino asit dizilerine sahiptir (14).

Normal proteinlerde değişim

İlaçlar normal proteinlere bağlanabilir ve bunları immünojenik hale getirebilirler. Prokainamid ile SLE arasındaki bağlantı, bu mekanizmaya örnektir.

Hapsedilmiş antijenlerin salınması

Merkezi sinir sistemi, testis, gözde lens ve uveal traktus gibi bazı dokuların antijenleri bağışıklık sistemi ile karşılaşmayacak şekilde kapatılmıştır. Bunlara immünolojik olarak ayrıcalıklı noktalar adı verilir. Böyle bir antijen, kazara dolaşıma geçecek olursahem humoral hem de hücrel yanıt tetiklenir ve sırasıyla ensefalit, aspermatogenez veya endoftalmite neden olur. Bağışıklığın olgunlaşmasından sonra gelişmesi ve bunakarşın normalde immün bir saldırıya maruz kalmaması nedeniyle özellikle spermin immünolojik olarak ayrıcalıklı bir yerde hapsedilmesi zorunludur. DNA, histonlar ve mitokondri enzimleri gibi hücre içi antijenler normalde bağışıklık sisteminden gizlenmiştir. Diğer taraftan, bakteriyel veya viral enfeksiyonlar hücreleri tahrip edebilir ve bu hapsedilmiş antijenleri bir bağışıklık yanıtı aktive etmek üzere serbest bırakabilir. Otoantikorlar bir kez oluştuğu zaman, hapsedilmiş antijenlerin daha sonraserbest kalması immün karmaların oluşmasına ve otoimmün hastalığa ait semptomların belirlenmesine neden olur. Enfeksiyona ek olarak ışınlama ve kimyasallar gibi dış etkenler de hücreleri tahrip edebilir ve hapsedilmiş hücre içi bileşenlerin serbest kalmasına neden olabilir. Buna örnek olarak, güneş ışığının sistemik lupus eritematozusu bulunan hastalarda deri döküntülerini alevlendirdiği

bilinmektedir. UV ışınının hücreleri tahrip ettiği, bu durumun hastalığın esas antijenleri olan ve normalde hapsedilmiş bulunan histonları serbest bıraktığı düşünülmektedir (20).

Epitop yayılması

Epitop yayılması, viral enfeksiyonların sebep olduğu hücre harabiyeti sonucu, hapsedilmiş otoantijenlerle yeni bir karşılaşmayı tanımlamak için kullanılır. Bu yeni karşılaşılan otoantijenler yardımcı T hücrelerini uyarır ve otoimmün hastalık gelişimine neden olur (20).

2.5 Otoimmünite oluşumunu etkileyen faktörler

Otoimmün hastalıkların oluşmasına; genetik, çevre, stres, hormonlar ve immünolojik faktörler gibi birden çok değişken sebep olabilir. Romatoid Artrit’li (RA), Sistemik Lupus Eritematozus’lu (SLE), Fibromiyalji Sendrom’lu ve Juvenil Kronik Artrit’li hastaların %80’inin, bu otoimmün hastalıkların oluşmasından önce duygusal stres yaşadığı ileri sürülmektedir (21). Çocukluk çağlarında yaşanan travmatik stresin, yetişkin dönemde otoimmün hastalıkların oluşmasını arttırdığı yönünde çalışmalar mevcuttur. Bu şekilde toleransın bozulmasında, en çok çevresel faktörlerin ve takiben genetik değişimlerin etkisi gösterilebilir (22). Çevresel faktörler arasında en fazla üzerinde durulan konu enfeksiyonlardır. Enfeksiyonların otoimmün hastalıkların gelişimi üzerinde iki yönlü etkisi vardır. Enfeksiyonların otoimmün hastalıkların oluşumunu tetikleyebileceği gibi, son yıllarda giderek artan sayıda veri, bazı enfeksiyonların da otoimmünitenin gelişimini önlediğini düşündürmektedir (23). Self toleransın işlev görmemesi ve otoantikor üretimi, otoimmün hastalıkların oluşmasına neden olacaktır. Oluşan otoimmün hastalıklar sonucu otoantikor aracılı doku hasarı ortaya çıkmaktadır. Otoantikorlar, hücrenin çeşitli antijenik yapılarına karşı oluşabilmektedir. Sistemik otoimmün hastalıklarda mevcut olan otoantikorların büyük bir kısmı, bu hastalıkların ayırt edici tanısında kullanılabilir. Otoimmün hastalıkların çoğunda self reaktif T hücreler temel olayların başlatıcısı ve yürütücüsüdür. T hücrelerin saptanması zor olduğu için otoimmün hastalık araştırmalarında, serum örneklerinden otoantikor tayini daha rutin bir yaklaşım şeklidir (24). 1960 ve 1970’lerde, birçok araştırmacı, sistemik otoimmün hastalıkların tanısı için otoantikorlar ile çalışılması konusunda çeşitli çalışmalar yapmış ve bazı

immünolojik hastalıkların tanısında otoantikörlerin çok önemli klinik belirteçler olduğu konusunda hemfikir olmuşlardır (25). Nükleer ve sitoplazmik birçok otoantikör karakteristik olup, tanıda oldukça yararlıdır. Titre ve boyanma şekline dayalı pozitif ANA tarama testlerini mutlaka ekstrakte edilmiş hücre antijen (ENA) testi takip etmelidir. Eğer ANA tarama testi negatif çıkarsa, diğer tanımlama testlerinin yapılmasına büyük ölçüde gerek olmayacaktır (26).

2.6. Otoimmün hastalıklar

Otoimmünite, öz antijenlere yönelik immün aktivasyon yanıtın gelişmesi olarak tanımlanan önemli bir hastalık nedenidir (27). Erişkin bir konak genel olarak, fetal yaşam sırasında kendine sunulmuş olan ve kendi özüne ait olarak tanıdığı doku antijenlerine karşı tolerans gösterir. Öte yandan, bazı durumlarda bu tolerans kaybolabilir ve otoimmün bir hastalığa yol açmak üzere konak antijenlerine karşı immün yanıt gelişebilir. Otoimmün hastalığın oluşmasında en önemli basamak, yardımcı (CD4) T hücrelerinin etkinleşmesidir. Bu yardımcı Th-1 veya Th-2 hücreler, sırasıyla hücre aracılı otoimmün tepkimeleri aktive edebilir. Otoimmün hastalıkların çoğu antikör aracılıdır. Tablo 2.1’de otoimmün hastalıklarda bağışıklık yanıtının tipleri gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Otoimmün hastalıklarda bağışıklık yanıtının tipi (20).

Bağışıklık yanıtının tipi	Otoimmün hastalık	Bağışıklık yanıtının hedefi
Reseptörlere karşı antikorlar	Graves hastalığı	TSH reseptörü
	Myastenia gravis	Asetilkolin reseptörü
	İnsüline dirençli diabetes	İnsülin reseptörü
	Lambert-Eaton myastenik sendromu (LEMS)	Kalsiyum kanal reseptörü
Reseptörler dışında diğer hücre yapılarına karşı antikor	Sistemik Lupus Eritematozus	dsDNA, histonlar
	Hemolitik anemi	Eritrosit membranı
	Romatoid artrit	Eklemlerde IgG
	Romatizmal ateş	Kalp ve eklem dokusu
	İdiyopatik trombositopenik purpura	Trombosit membranı
	Goodpasture sendromu	Böbrek ve akciğer bazal membranı
	Pernisyöz anemi	İntrinsik faktör ve parietal hücreler
	Hashimoto tiroiditi	Tiroglobulin
	Tip 1 diabetes mellitus	Pankreas adacık hücreleri
	Addison hastalığı	Adrenal bez kortikal membranı
	Akut glomerülonefrit	Glomerüler membran
	Poliarteritis nodosa	Küçük ve orta çaplı arterler
	Guillain – Barre sendromu	Miyelin proteini
	Granümatöz polianjitis (GPA) (Wegener granülomatozu)	Nötrofillerin sitoplazmik proteinleri
	Pemfigus	Deri epidermal hücrelerde olan desmoglein
Hücre aracılı (T hücreleri ve makrofajlar)	Alerjik ensefalomyelit ve multipl skleroz	Miyelin proteinlerine karşı tepki beyinde demiyelinizasyon yapar

Otoimmün hastalıklar konusunda giderek artan bilgilere karşın, insanlarda otoimmün hastalıkların heterojen olması, birçok etkiye bağlı olarak gelişebilmesi, immün yanıtı başlatan ve hedefi olan öz antijenlerin sıklıkla bilinmemesi, otoimmün yanıtın hastalığın ortaya çıkmasından çok önceleri başlaması gibi nedenlerle, araştırmalar sürmektedir. Toplumda otoimmün hastalıkların %1–2 oranında olduğu tahmin edilmektedir (27).Tablo 2.2’de organ spesifik ve sistemik otoimmün hastalıklar gösterilmiştir.

Tablo 2.2 Otoimmün hastalıklar (28).

Organ	Spesifik	Otoimmün	Sistemik Otoimmün Hastalıklar
Hastalıklar			
Hashimoto Tiroiditi			Romatoid Artrit
Otoimmün Hemolitik Anemi			Sistemik Lupus Eritematozus
Pernisiyöz Anemi			Skleroderma
Adisson Hastalığı			Sjögren Sendromu
Otoimmun Ensefalomiyelit			Polimiyozit-Dermatomiyozis
Good-Pasture Sendromu			Reiter Sendromu
Otoimmün Trombositopeni			Mikst bağ dokusu hastalığı

2.6.1. Organa özgül (lokalize) otoimmün hastalıklar

Organ spesifik otoimmün hastalıklarda, hastalık semptomları otoimmün yanıtın türüne göre tek bir organla veya dokuyla sınırlı kalmakta, dolayısıyla hastalığın meydana geldiği organ veya dokuya göre sınıflandırılmaktadırlar (28). Bu hastalıklara, tiroidi tutan Hashimoto tiroiditi ve Graves hastalığı; kan hücrelerinin yıkımına yol açan otoimmün hemolitik anemi ve trombositopeni, pankreası etkileyen tip-1 diyabet; gastrointestinal organları etkileyen Pernisiyöz Anemi, Çölyak ve Crohn hastalığı; karaciğeri tutan Otoimmün Hepatit ve Primer Biliyer Siroz; deriyi tutan Pemphigus/Pemfigus vulgaris; kas-iskelet sistemini etkileyen Myastenia Gravis; beyin ve omuriliği etkileyen Multipl Skleroz; böbrek ve akciğeri etkileyen Goodpasture hastalığı örnek olarak verilebilir (13).

2.6.2. Organa özgöl olmayan (sistemik) otoimmün hastalıklar

Otoantikörlerin kendi antijenleriyle birleşmesi sonucu oluşan ve kanda dolaşan immün komplekslerin çeşitli organ ve dokularda (kan damarları, eklemler, böbrek, bağ dokusu, deri, vb.) birikimi sonucu ortaya çıkar. Sistemik otoimmün hastalıklar, kan damarları ve bağ dokusu tutulumuna neden olduğu için kollajen vasküler hastalık veya bağ dokusu hastalığı olarak da adlandırılırlar. Bunlara örnek olarak sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, Sjögren sendromu, sistemik skleroz ve mikst bağ dokusu hastalığı verilebilir (13).

Sistemik lupus eritematozus

SLE nükleer antijenlere karşı otoantikörlerle karakterize inflamatuvar otoimmün bir bozukluktur. SLE multifaktöriyel bir otoimmün hastalık olup hem çevresel hem genetik faktörlerden etkilenmektedir. Klinik bulgularının çoğu, antijen-antikör komplekslerinin visseral organ kapillerlerinde birikmesine ya da otoantikör aracılı hücre yıkımına (örn; trombositopeni) sekonder gelişir. SLE insidansı cinsiyet, ırk ve genetik kalıtım dahil birçok faktörden etkilenir. Hastaların %85'i kadındır. Seks hormonları rol oynamaktadır; vakaların çoğu menarş sonrası ve menapoz öncesi gelişir. Yaşlı popülasyonda cinsiyet dağılımı daha eşittir. SLE insidansı beyaz kadınlarda 1:1000 iken siyahi kadınlarda 1:250 olarak saptandığı için ırk da önemli bir faktördür. Tek yumurta ikizlerinde hastalığın konkordansı %25-70'dir. SLE'li bir annenin kız çocuklarının hastalık riski 1:40 ve erkek çocuklarının 1:250'dir. Asemptomatik aile bireylerinde serolojik olarak pozitif ANA görülür ve hastaların yakın akrabalarında diğer romatizmal hastalıkların insidansı artmaktadır. Özellikle DR2 ve DR3 olmak üzere bazı HLA haplotiplerinin ve etkisiz kompleman alellerinin yüksek frekansı SLE'deki spesifik genlerin önemini vurgulamaktadır (29). EULAR (European League Against Rheumatism) ve ACR'nin (American College of Rheumatology) ANA pozitif olan hastalarda kullanım için 2019'da önerdiği sınıflama kriterleri kullanılarak oluşturulan skrolama yapabilmek için bazı önşartlar konulmuştur: (30)

- Öncelikle ANA titrelerinin >1:80 olarak gösterilmesi gereklidir, aksitakdirde skrolama yapılmaz.

- Eğer SLE'den daha uygun bir tanı sözkonusu ise kriterasyonageçilmemelidir.
- Bir kriterin en az bir kez ortaya çıkması yeterlidir.
- SLE olarak sınıflayabilmek için en az 1 klinik kriter ve ≥ 10 puan şartı sağlanmalıdır.
- Kriterlerin eşzamanlı ortaya çıkmaları gerekli değildir.
- Aynı başlık altındaki kriterlerlerden sadece en yüksek puanlısı skorlamaya dahil edilmelidir.

Tablo 2.3. SLE sınıflandırma kriterleri (30).

Klinik alan ve kriterler	Puan	İmmunolojik kriterler	Puan
Konstitüsyonel Ateş	2	Antifosfolipid antikorları Anti-kardiyolipin veya Anti-beta-2 glikoprotein1 antikoru veya Lupus antikoagülanı	2
Hematolojik Lökopeni Trombositopeni Otoimmün hemolitik anemi	3 4 4	Kompleman proteinleri Düşük C3 veya düşükC4 düzeyi Düşük C3 ve düşük C4düzeyi	3 4
Nöropsikiyatrik Deliryum Psikoz Nöbet	2 3 5	SLE spesifik antikorları Anti-dsDNA veya anti- Smith antikor	6
Mukokütanoz Skar bırakmayan alopesi Oral ülserler Subakut kutanöz veya diskoid lupus Akut kutanöz lupus	2 2 6		

Tablo 2.3 "Devam" SLE sınıflandırma kriterleri (30)

Serozal		
Plevral veya perikardiyal effüzyon	5	
Akut perikardit	6	
Kas-iskelet sistemi		
Eklemler tutulumu	6	
Renal		
Proteinuri >0,5 g/24 saat	4	
Biyopsiye klas 2 veya 5	8	
lupus nefriti	10	
Biyopsiye klas 3 veya 4		
lupus nefriti		

SLE’de immün sistemde görev oynayan B hücreleri aktiftir ve immünglobülin (Ig) yapımları artmıştır. Aktif hastalarda, dolaşan T hücrelerinin sayısı azalmış, yardımcı T lenfosit işlevleri (fonksiyonları) artmıştır. Supresör–sitotoksik T lenfositler azalmıştır ve işlevleri bozuktur. B lenfositlerin, otoantikor yapımını uyarıcı (stimüle edici) etkileri olan CD4-, CD8- T lenfositler artmıştır (31).Tablo 2.4’te SLE’de laboratuvar anormalliklerin sıklığı gösterilmiştir.

Tablo 2.4. Sistemik Lupus Eritematozus'ta laboratuvar anormalliklerin sıklığı (%) (29)

Anemi	%60
Lökopeni	%45
Antifosfolipid antikorları	%25
Anti-kardiyolipin antikor	%7
Lupus antikoagulan	%25
Anti-beta-2-glikoprotein1	
Direkt Coombs pozitif	%30
Proteinüri	%30
Hematüri	%30
Hipokomplementemi	%60
ANA	%95-100
Anti-nativ DNA	%50
Anti-Sm	%20

Antinükleer antikor testleri, SLE için yaklaşık %100 sensitiftir; ancak spesifik değildir-yani sağlıklı yetişkinlerin %20'sine kadar düşük titrede pozitifdir ve ayrıca romatoid artrit, otoimmün tiroid hastalığı, skleroderma ve Sjögren sendromu gibi lupus dışı hastalıklarda da saptanabilir. ANA testinde HEp-2 hücrelerini kullanan immünofloresan değerlendirmelerine dayanan antinükleer antikor testleri kullanılmaktadır. Çift sarmallı DNA (dsDNA) ve Sm'ye karşı oluşan antikorlar SLE için spesifiktirler; ancak sensitif değildirler çünkü sırasıyla hastaların %60'ında ve %30'unda bulunurlar. Düşük serum kompleman düzeyi -hastalık aktivitesini gösteren bir bulgu-sıklıkla remisyona beraber normale döner. Anti-dsDNA antikor seviyeleri de bazı hastalarda hastalık aktivitesi ile ilişkilidir; anti-Sm seviyeleri için bu ilişki yoktur. SLE'de yaygın olarak görülen diğer otoantikorlar arasında SS-A/Ro, SS-B/La, ribonükleoprotein (RNP) ve fosfolipide karşı oluşan antikorlar bulunur (11). Tablo 2.5'te sık görülen otoantikorlar ve ilişkili klinik tablolar gösterilmiştir.

Tablo 2.5. SLE’de sık olarak görülen otoantikörler ve ilişkili klinik tablolar (31).

Otoantikörler	Sıklık	Klinik özellikler
Hücre içi	%50	Nefrit, serozit
Anti-dsDNA		
Anti-Ro (SSA)	%33	Fotosensitif deri döküntüleri, SKLE, neonatal lupus, nefrit, nötrojeni, homozigot kompleman eksikliği, Sjögren sendromu
Anti-La (SSB)	%33	Sjögren
Anti-U1 RNP	%33	Raynaud fenomeni, Miks BDH (anti-Sm yoksa)
Anti-histon	%30-80	İlaca bağı lupus
Hücre membranı	%33	Tekrarlayan düşükler, tekrarlayan arteriyel- venöz trombozlar, fokal MSS tabloları, livedo retikularis, trombositopeni
Anti-kardiolipin		
Anti-nöron		Diffüz nörolojik tutulum
Anti-lenfosit		Lenfopeni, MSS lupusu, hastalık aktivitesi
Anti-eritrosit	<%10	Otoimmün hemolitik anemi

Romatoid artrit

Romatoid artrit, majör bulgusu çok sayıda eklemin sinoviti olan kronik bir sistemik inflamatuvar hastalıktır (29). Tüm dünyada ortalama prevalansı %1-2'dir. Prevalans kadınlarda erkeklerden daha yüksektir. RA patogeneğinde cinsiyet, genetik, mikrobiyal antijenlere bağlı T hücre aktivasyonu ve artmış sinoviyal immün yanıt başta olmak üzere pek çok faktör rol oynar. Özellikle mikrobiyal antijenlerle ortak epitop taşıyan bireylerde kronik olarak sitriline olmuş peptidlere maruz kalma sonucunda anti-siklik sitrülenilmiş peptid antikorlar (anti-CCP) sentezlenir. RA'da hem otoantikor sentezleyen B hücreleri hem de otoreaktif TH1 hücrelerinin aktivasyonu sonucunda otoimmün yanıt ortaya çıkarmaktadır. Sinoviyal sıvıdaki bu yanıt lenfosit ve makrofajların olay yerine gelmesine ve kıkırdak dokuda hasara yol açar. Bu hasarda rol oynayan önemli faktörlerden biri IgM-IgG immün kompleksleridir. IgG'nin Fc parçasına karşı sentezlenen IgM tipindeki anti-IgG antikorları en önemli rolü oynar. Bu antikorlar romatoid faktör (RF) olarak tanımlanmaktadır (11). Anti-CCP ve RF romatoid artrit tanılı hastaların %70-80'inde pozitif bulunur. RF erken hastalıkta sadece %50 duyarlılığa sahiptir. Anti-CCP antikorları RA için en spesifik kan testidir (%95). Romatoid faktör diğer otoimmün hastalıklar ile Hepatit C, sifiliz, subakut bakteriyel endokardit ve tüberküloz gibi kronik enfeksiyonlarda pozitif saptanabilir. Romatoid faktör pozitifliğinin prevalansı sağlıklı bireylerde yaşla birlikte de artar. Romatoid artritli hastaların yaklaşık %20'sinde antinükleer antikorlar pozitifdir (29).

Skleroderma

Böbrek, deri, eklemlerdeki oluşumlar, özefagus, bağırsak kanalı, tiroid, akciğer ve iç organlarda bağ dokusunun anormal bir biçimde artması ile gelişen bir otoimmün hastalıktır. İmmünolojik faktörlerle beraber oluşan damar anomalilerinin hastalıkta etkili olduğu düşünülmektedir. Yaygın skleroderma, iç organ tutulumu ile beraber görülürse ölümle sonuçlanabilmektedir. Bazen de el ve yüzde oluşan skleroz yıllar sonra CREST sendromuna dönüşebilmektedir. Sklerodermanın en iyi huylu formunun CREST sendromu olduğu bilinmektedir. İlerleyen sklerodermada böbrek tutulumu en sık görülen ölüm nedenidir. ANA pozitifliği %60-90 oranında görülebilmektedir. Bunun yanında RF pozitifliği de görülmektedir. Çözünabilir nükleer antijenlere karşı

gelişen anti Scl-70 antikorlu skleroderma için spesifik olmakla birlikte anti-sentromer antikorlu ise CREST sendromu ile ilişkilendirilmektedir (32– 35).

Sjögren sendromu

Gözyaşı ve tükürük bezlerinin immün reaksiyonlar sonucu hasar görmesi ile oluşan ağız, göz ve mukozalarda kuruluk şeklinde kendini gösteren sistemik inflamatuvar bir hastalıktır. RA, SLE ve skleroderma gibi hastalıklarla bir arada görülebilmektedir. Özellikle kadınlarda 40 yaşın üzerinde görülme sıklığı artış gösterir. Solunum yolunda oluşan kuruma sonucu ölümcül pnömoniler gelişebilmektedir. Üç gruba ayrılır: Primer Sjögren Sendromu, Sekonder Sjögren Sendromu ve RA ile beraber görülen 3. tip Sjögren sendromu. Primer Sjögren Sendromu veya Sicca Sendromu adı verilen hastalık HLA-DW3 alleli ile ilişkilendirilmektedir. Sekonder Sjögren sendromunda ise Sicca sendromu, SLE, PBS, polimiyozit ile birlikte görülmektedir. Üçüncü grup ise RA ile birlikte görülür. Sjögren sendromunda %70'in üzerinde bir ANA pozitifliği ile beraber SS-A ve SS-B'ye karşı gelişen spesifik antikorların bulunması tanıda önemlidir. Bunun yanı sıra salgı kanallarının etrafında mononükleer ve CD4(+) lenfosit infiltrasyonu görülür (32–35).

2.7.Otoimmün hastalıkların epidemiyolojisi

Otoimmün hastalıkların genellikle nadir görülen hastalıklar arasında olduğu tahmin edilse de mortalite ve morbidite üzerindeki etkilerine bakıldığında bu oranın oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yapılan araştırmalar sonucunda otoimmün hastalıklar 65 yaşın altındaki kadınlar arasında önemli bir ölüm nedeni olarak gösterilmektedir (36). Bu hastalık grubunun çoğunun kronikleşmesi, sağlık alanında, yaşam kalitesi üzerinde ve ekonomik anlamda ciddi boyutlarda kayıplara yol açmaktadır (32). Otoimmün hastalıkların tamamının kadınlarda görülme sıklığı erkeklerde görülme sıklığından daha yüksek orandadır. Tiroid, SLE, Skleroderma, Sjögren sendromu gibi otoimmün hastalıkların kadınlarda görülme sıklığı %85'in üzerindeyken RA ve sistemik skleroz gibi otoimmün hastalıklarda ise bu oran %60-75 arasında değişmektedir. Tip 1 Diabetes Mellitus (DM) gibi bazı otoimmün hastalıkların kadın ve erkekler arasında, çocukluk döneminde başlama riskinin ise neredeyse birbirine eşit olduğu bildirilmektedir. Ayrıca juvenil RA gibi otoimmün hastalıklara kadınlarda daha sık rastlandığı

bildirilmiştir. Otoimmün hastalıklar üzerine yapılan son çalışmalarda ise yetişkin diyabet başlangıcında erkeklerin kadınlara oranla daha fazla risk taşıdığı görülmüştür (37,38) Yapılan çeşitli araştırmalarla birlikte otoimmün hastalıkların yaşa bağlı görülme sıklığında önemli bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir. Ancak iki önemli çocukluk dönemi hastalığı olan juvenil artrit ve Tip 1 DM hastalık başlangıcının yaklaşık 8-10 yaş civarında görüldüğü belirtilmektedir. Ayrıca sistemik skleroz ve Graves gibi hastalıkların sıklıkla 30-50 yaş dönemleri arasında görüldüğü bildirilmektedir. Daha ileri yaş gruplarında (40-70) görülen hastalıklar arasında ise tiroid, Sjögren sendromu ve RA gibi otoimmün hastalıklar bulunmaktadır (32). Otoimmün hastalıklardan olan SLE'nin erkeklere oranla kadınlarda 5-10 yıl daha erken görüldüğü belirtilmesine rağmen bu farklılığın sadece beyaz ırkta görülebileceği düşünülmektedir (33). Bunun tam tersi olarak hipertiroidizm hastalığının kadınlara oranla erkeklerde daha erken yaşlarda görüldüğü bildirilmiştir (34). Otoimmün hastalıklarda risk faktörleri ülkeler arasında hatta aynı bölgede yaşayan etnik gruplar arasında bile farklılıklar gösterebilmektedir. Örneğin Tip 1 diyabet hastalığı Güney Avrupa ve Asya ülkelerine kıyasla Kuzey Avrupa ülkelerinde daha yaygın görülmektedir (35). Yeterli bilgi ve kanıt elde edilmiş olmamasına rağmen otoimmün hastalıklardan biri olan sistemik skleroz da bu duruma bir örnek olarak gösterilebilmektedir (36). ABD'de beyaz ırka oranla siyah ırk SLE için daha yüksek risk taşımaktadır. Ayrıca, Tip 1 DM hastalığının insidansı ise beyaz ırka oranla siyah ırkta daha nadir görülmektedir. ABD'de yaşayan siyah ırk ve Asyalılar, sistemik skleroz hastalığı açısından daha düşük risk taşımaktadır.

2.8. Otoantikörler

Otoimmün hastalıkların tanısında otoantikörler önemli rol taşımaktadır. Anti nükleer antikor (ANA) adı verilen, hücre nükleusuna karşı gelişen otoantikörler, bağ doku hastalıklarında önemli bir tanı kriteridir. Günümüzde, ANA pozitifliğinin saptanması amacıyla geliştirilmiş birçok yöntem bulunmaktadır. ANA tespiti için altın standart yöntem, HEp2 (insan laryngeal epidermoid hücreleri) hücreleri kullanılarak gerçekleştirilen Indirekt Immüno Floresan Antikor (IIF) testidir. Pozitif sonuçlar gözlendiğinde, hedef antijeni tanımlamanın bir yolu olarak, ekstrakte edilebilir nükleer antijen (ENA) testleri takip eder. Spesifik ekstrakte edilebilir nükleer antijenlerin

tanımlanması, otoimmün bağ dokusu hastalıklarının farklı tipleri arasındaki ayrımı sağlayabilir (1). Otoimmün hastalıkların tanı ve izleminde en sık kullanılan otoantikorlar, çift sarmal DNA'ya karşı (anti-dsDNA), anti-Ro/SSA (SS; Sjögren sendromu), anti-La/SSB, anti-Smith (Sm), anti-RNP (ribonükleoprotein), anti histon, anti sentromer, anti-Jo-1 (anti histidil tRNA), anti Scl-70 (sistemik skleroz-70kDa/anti topoizomerez-1) olarak sayılabilir (39). Tablo 2.6'da romatizmal hastalıklarda otoantikor sıklığı gösterilmiştir.

Tablo 2.6. Romatizmal hastalıklarda otoantikor sıklığı (%) (29).

	ANA	Anti-Nativ DNA	RF	Anti-Sm	Anti-SS-A	Anti-SS-B	Anti-Scl-70	Anti-Sentromer	Anti-Jo-1	ANCA
RA	30-60	0-5	70	0	0-5	0-2	0	0	0	0
SLE	95-100	60	20	10-25	15-20	5-20	0	0	0	0 - 1
Sjögren sendromu	95	0	75	0	65	65	0	0	0	0
Diffüz skleroderma	>95	0	30	0	0	0	33	1	0	0
Sınırlı skleroderma (CREST sendromu)	>95	0	30	0	0	0	20	50	0	0
Polimiyozit/ Dermatomiyozi	80	0	33	0	0	0	20	50	0	0
Granümatöz Polianjitis	0-15	0	50	0	0	0	0	0	0	93-96

2.8.1. Romatolojik hastalıkların tanısında otoantikorlar

Otoimmün yanıt ve hastalıkların en önemli tetikleyicisi enfeksiyona neden olan mikrobik antijenlerdir. Konakçı proteinleri ile mikrobik proteinlerin dizi benzerlikleri (moleküler benzerlik) otoimmün yanıt ve hastalıklara neden olabilmektedir. Değişmiş konakçı proteinleri, protein mutasyonları, değişmiş protein oluşumları, proteinlerdeki posttranslasyonel modifikasyonlar, kovalent modifikasyonlar, proteinlerin enzimlerle işlenmesi, denatüre proteinler, apoptozis, proteasomlar, nukleosomlar otoimmün yanıtı tetikleyen diğer etkenlerdir. Otoimmün yanıtın bazı HLA alleli/allelleriyle birlikteliği otoimmüniteye yatkınlık açısından önemlidir. Ayrıca genetik açıdan, CTLA4 (sitotoksik T lenfosit assosiyasyon antijen-4) geni, PTPN22 (protein tirozin fosfat nonreseptör tip 22), PDCD1, FCRL3, SUMO4, CD25, PAD14, SLC22A4, TNF- α ve FOXP3 gibi HLA dışındaki genlerle otoimmün hastalıkların birlikteliği rapor edilmiştir (40). Otoimmün hastalıkların serolojik belirteci ise hücre içi ve dışı molekülere karşı mevcut dolaşan otoantikorlardır. Kendi moleküllerine karşı (öz antijenlere) reaksiyon veren antikorlar sağlıklı insanlarda da bulunabilir ve bunlar doğal antikorlar veya otoantikorlar olarak tanımlanırlar (41).

Doğal antikorlar

Doğal antikorların büyük bölümü değişime uğramamış V(D)J genleriyle kodlanan IgM sınıfında, birbiriyle ilişkisiz antijenleri orta derecede affinite ile bağlayabilen polireaktif özelliktedirler. Doğal mono-reaktif antikorlar da mevcuttur. Doğal IgM antikorları hücrelerin, dokuların, bakteri ve virüslerin yüzeyindeki tekrarlayan antijenlere karşı yüksek bağlanma aviditesi gösterir. Bu antikorlar düşük titrelerde saptanabilirler, kompleman bağlamazlar ve hastalıklarla ilişkileri olmadığı düşünülmektedir. Doğal antikorlar enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattıdır. Bakteriler, virüsler, mantarlar gibi dış kaynaklı antijenlere bağlanarak muhtemelen temizlik işlevi gördükleri gibi kendi antijenlerine karşı (örn. nükleik asitler, fosfolipidler, eritrositler, serum proteinleri, hücresel yapılar, insülin veya tiroglobulin gibi) oluşabilirler (37).

Patojenik otoantikolarlar

Patojenik otoantikolarlar, doğal antikolardan farklı olarak yüksek affiniteli ve somatik olarak mutasyona uğramış IgG sınıfındadırlar. Mutasyona uğramamış doğal otoantikoları kalıp olarak kullanan patojenik otoantikolar somatik hipermutasyon ve sınıf değışimi sonucunda oluşabilirler. Patojenik otoantikoların üretimi öz antijenlere karşı toleransın bozulmasının önemli bir göstergesidir. İnsanlar üzerinde yapılan genetik çalışmalar, otoimmün hastalıkların, çevresel faktörlerin etkisiyle çok sayıdaki genetik değışimler sonucunda ortaya çıktığını göstermektedir (37).

2.9. Anti-nükleer antikolarlar

Hücre içi antijenlere karşı anormal düzeyde otoantikoların mevcudiyeti sistemik bağ dokusu hastalıklarının önemli göstergelerindendir (38). ANA'lar çoğunlukla sistemik otoimmün hastalıkların teşhisinde kullanılır. ANA testlerinde hücre çekirdeğinin yanı sıra hücre sitoplazmasındaki bazı antijenlere karşı oluşan otoantikoları da saptamak mümkün olur. Hedef antijenler genelde; hücre yapısında bulunan çeşitli nükleoproteinler, enzimler, doğal ve denatüre olmuş DNA histonlar, RNA ve ribonükleer proteinler, çözülebilen hücresele reseptörler ve mitoz ile ilişkili proteinler olabilmektedir. Nükleer antijenik yapılara karşı oluşan otoantikolar genellikle immunglobulin G (IgG) sınıfı antikolardır (42). Hücrenin çekirdeğinde veya sitoplazmasında bulunan self antijenlere karşı oluşan otoantikolar, İndirekt İmmünfloresan (IIF) yöntemi ile tayin edilebilir. IIF testi ANA'ların rutin olarak tayininde ilk olarak tanımlandıkları 1954 yılından beri yaygın olarak kullanılmaktadır. Testte hayvan (fare, sıçan, maymun gibi) karaciğer, böbrek, mide doku kesitleri substrat olarak kullanılmış olup günümüzde epitelyal kültür hücreleri (insan larenks karsinoma hücreleri, HEp-2 hücreleri, Amerikan doku koleksiyonu CCL-23) daha yaygın olarak kullanılmaktadır (38). Substrat çok değışken olabilmekle birlikte, genelde insan epitelyum hücreleri-2000 (HEp-2) hücreleri kullanılması bir sebebi SLE ve Sjögren sendromunun tanısında yüksek duyarlılık elde edilmesidir (43). Bu hücreler düz cam yüzeylerde gelişebilir ve fikse edildiklerinde antikoların hücrelerin içine girmeleri mümkün olur. Hücre siklusunun değışik aşamalarında eksprese olan antijenlere karşı antikolar doku substratlarında saptanamazken kültür hücrelerinde tespit edilebilirler. HEp-2 hücrelerinin fiksasyon işlemleri bazı antikoların

saptanmasını güçleştirebilir. SSA/Ro antjeni asetonla daha iyi fikse edilebilirken, etanol veya metanolle fiksasyonunda SSA iyi fikse edilemez ve ANA negatif bulunmasına rağmen EIA veya immüblot yöntemlerinde SSA pozitif bulunabilir (38). ANA'lar genelde, hücre çekirdeğinde bulunan protein ve nükleik asitleri hedef almaktadır. ANA IIF yönteminde nükleus ve sitoplazmik otoantikorlar, sayısı otuza yakın farklı boyanma paterni gösterir (44). Örneğin; homojen boyanma tipi, histon, çift zincirli DNA (dsDNA) ve/veya nükleosomlara karşı otoantikorların varlığını gösterir. IIF çalışmalarında belli boyanma paternleri oluşturan bazı antikorlar, sistemik otoimmunopatilerin karakteristik özelliğidir. Birçok durumda bu otoantikorlar, onlarla ilişkili hastalıklar için ön bir klasifikasyon sağlarlar. ANA'lar genelde, hücre çekirdeğinde bulunan protein ve nükleik asitleri hedef almaktadır (41). ANA için kabul edilen pozitif titre 1/100 ve üzeridir. Sağlıklı bireylerde de pozitif bulunabilir (11). Tablo 2.7'de ve tablo 2.8'de sırasıyla sağlıklı popülasyonda ANA pozitiflik oranı ve ANA pozitifliğinin hastalıkların tanısında yeri gösterilmiştir.

Tablo 2.7. Sağlıklı popülasyonda ANA pozitiflik oranı (11)

Sağlıklı bireyler	
1/40	%20-30
1/80	%10
1/160	%5
1/320	%2

Tablo 2.8. ANA pozitifliğinin hastalıkların tanısında yeri (11)

ANA testinin tanıda çok yararlı olduğu durumlar	ANA pozitiflik oranı (%)
Sistemik Lupus Eritematozus	%95-100
Sistemik skleroz	%60-80
ANA testinin tanıda bazen yararlı olduğu hastalıklar	
Polimiyozit / dermatomiyozit	%30-80

Tablo 2.8.”Devam” ANA pozitifliğinin hastalıkların tanısında yeri (11)

ANA klinik tanı kriterleri arasında	
İlaca bağlı lupus	%80-90
Miks bağ dokusu hastalığı	%90-100
Otoimmün hepatit	%40-80
ANA hastalık izlemi ve prognozda çok Yararlı	
Raynaud fenomeni	%20-40
Juvenil kronik artrit	%50-60
ANA’nın hastalık tanısı, izlemi veya prognozda rolü yok veya henüz kanıtlanmamış	
Romatoid artrit	%15-30
Multipl skleroz	%20-30
Otoimmün tiroid hastalıkları	%10-20
Enfeksiyon hastalıkları	%20-40
İdiyopatik trombositopenik purpura	%10-30
Fibromiyalji	%20-30
Maligniteler	%20-50

2.9.1. ANA saptanmasında IIF, immüno blot testleri ve standardizasyon

Otoantikorlar otoimmün hastalıkların tanısında önemli belirteçlerdendir. Bu amaçla rutin laboratuvarlarda yaygın olarak IIF ve ELISA yöntemleri kullanılır. ANA saptanmasında IIF en sık başvurulmuş yöntemdir. ANA-ELISA tarama yöntemi ancak IIF yöntemi ve klinikle yeterli korelasyon gösteriyorsa uygulanabilir. Yöntem hasta serumunda bulunan antikorun antijene bağlanması esasına dayanır. IIF yönteminde katı faz olarak slayt (lam) kullanılmakta olup, bu slaytlara çeşitli hücre veya dokular fiks edilmiştir. ANA IIF yönteminde altın standart olarak önerilen HEp-2 hücreleri insan larinks epitelyal karsinom hücreleridir. HEp-2 hücreleri her seride benzer özellikte olduğundan ANA saptanmasında diğer dokulara göre daha standart bir substrat sağlamaktadır. HEp-2 hücre serilerinin ANA saptanmasında avantajları: HEp-2 hücre serilerinde çekirdeklerin büyük olması, hücre yapılarının kolay görülebilirliği, homojen ve tek tabaka hücre topluluğu sağlanması, hücre döngüsünün tüm evrelerine ait antijenlerin ifadenmesi (100'den fazla otoantijeni yakalama olanağı) olarak sayılabilir. HEp-2 hücre serilerinin ANA saptanmasında dezavantajları: HEp-2 hücre serisi kullanımına bağlı olarak anti-SSA, anti-tRNA sentetaz (Jo-1) ve anti ribozomal P (anti-Rib-P) antikorlarının saptanmasında sorunlar yaşanabilir. Bu antijenler HEp-2 hücrelerinde çok düşük düzeyde eksprese olduğundan veya dokularda fiksasyon işlemleri sırasında denatüre olabildiğinden 'yalancı negatiflik' görülebilir (11).

2.9.2. ANA IIF mikroskopik değerlendirme

ANA IIF testinin mikroskopik değerlendirmesi sırasında hasta serumunda hücre döngüsünün farklı evrelerinde açığa çıkan antijenlere karşı oluşan antikorları saptamak mümkündür. Detaylı ve doğru bir ANA IIF değerlendirmesi yapabilmek için hücre döngüsü evrelerinin bilinmesi gerekmektedir (11).

Hücre döngüsü evrelerinde gerçekleşen olaylar;

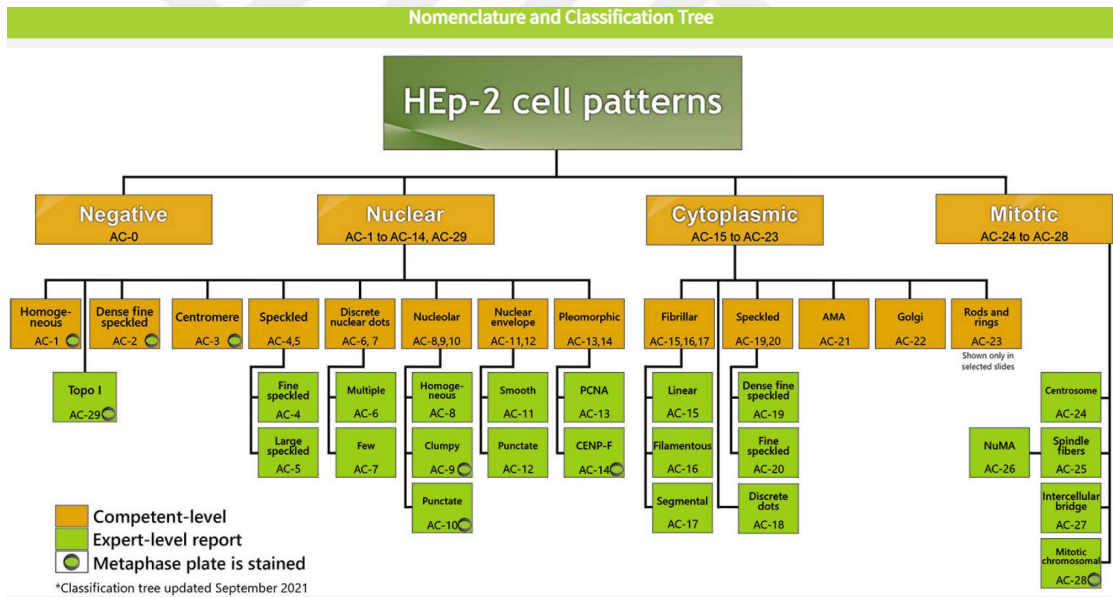
İnterfaz: Bölünmeye hazırlık evresidir. ATP sentezi hızlanır, organel ve protein miktarı artar, DNA kendisini eşler.

Profaz: Kromatit iplikler kromozom halini alır, sentriyoller zıt kutuplara doğru gider, iğ iplikleri oluşmaya başlar.

Metafaz: Kromozomlar hücrenin ekvator düzlemine dizilir.

Anafaz: Her kromozomdaki kardeş kromatitler zıt kutuplara doğru çekilir, iğ iplikleri ortada belirginleşir.

Telofaz: Çekirdek zarı oluşur, çekirdekçik ortaya çıkar, kromozomlar yeniden kromatin ipliğine dönüşür. İğ iplikleri kaybolur, sitoplazma bölünmesi başlar (11). ANA IIF incelemesinde özellikle interfaz ve metafaz aşamasındaki hücre boyanma paternleri dikkatle incelenmelidir. İnterfaz aşaması hücre metabolizmasının en hızlı ve antijen ekspresyonunun en fazla olduğu evre olduğundan çok farklı antijenler açığa çıkabilir. Metafaz aşaması da başta nükleusun homojen ve benekli paternleri olmak üzere pek çok paterni ayırt etmede dikkatle incelenmesi gereken bir diğer evredir (11). ICAP çalıştay katılımcıları tüm "yetkin düzeydeki" laboratuvarlar tarafından "bildirilmesi" gereken 11 boyama modeli (6 nükleer, 5 sitoplazmik) olduğunu öne sürdüler (7). Sınıflandırma ve adlandırma şeması aşağıda gösterilmiştir (Şekil 1).



Şekil 2.1. ANA boyanma paterni. Adlandırma ve sınıflandırma şeması (3)

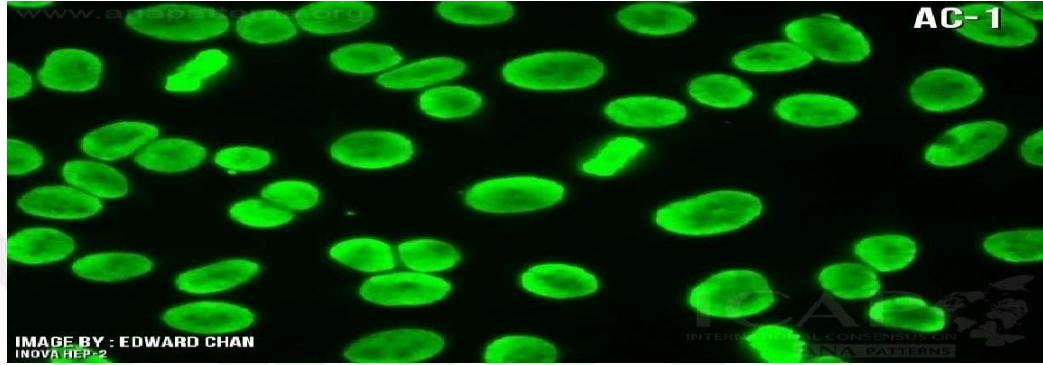
(<https://anapatterns.org/trees-2021.php>'den alınmıştır)

Tablo 2.9. Sık saptanan ANA IIF paternleri ve ilgili antijenler (11).

ANA paternleri	İlgili antijenler
Nükleer paternler	
Homojen	dsDNA,histon, kromatin/nükleozom
Kaba benekli	U1RNP, Sm (U2-nRNP), RNA polimeraz III
İnce benekli	SS-A, SS-B, Mi-2, Ku, RNA helikaz A, topoizomeraz I, TIF1, TIF1 β
Yoğun ince benekli	DFS-70 /LEDGF-P75
Nükleolar	PM/Scl-75, PM/Scl-100, To/Th, Scl-70, nükleofosmin, nükleolin, fibrillarin (U3-nRNP), RNA polimeraz I, NOR-90
Sentromer	Sentromer – A/B (C)
Çok sayıda nükleer noktalar	Sp -100, PML proteinleri, MJ/ NXP-2
Az sayıda nükleer noktalar	P80-coilin, SMN
Nükleer membran/ periferel	Lamin A, B, C, gp210, nükleopporin p62,nükleer por kompleks antijenleri
Sentrozom /sentriol	Enolaz, ninein, perisentrin
Sitoplazmik paternler	
Yoğun ince benekli	Ribozomal P proteinleri, PL-7, PL-12
Retiküler (mitokondri benzeri)	Piruvatdehidrogenaz-E2/M2, BCOADC-E2, OGDC-E2
Benekli	Jo-1/histidil-tRNA sentetaz, Signal recognition protein (SRP)
Golgi kompleksi	Golgi proteinleri
Fibriller	Aktin, sitokeratin, vimentin, tropomiyozin, α -aktinin, vinkülin
Mitotik spindle (MSA)	NuMA/ sentrofilin

Homojen boyanma

Homojen nükleer boyanma modeli, histon, dsDNA ve/veya nükleosomlara (histon-DNA kompleksi) karşı otoantikorların varlığını gösterir. SLE, ilaç ilişkili lupus (procainamide, hydralazine), romatoid artrit, juvenile kronik artrit ve sistemik skleroz gibi hastalıklarda tespit edilebilir (38). Mikroskopik görüntü şekil 2’de gösterilmiştir.

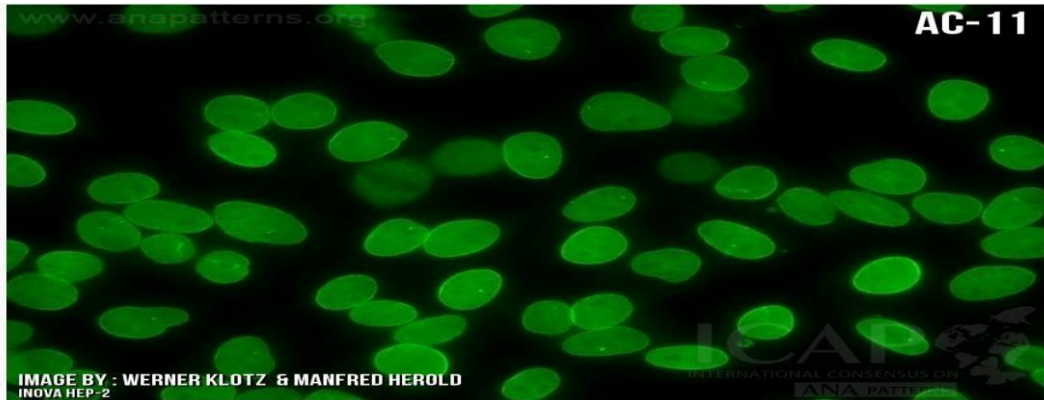


Şekil 2.2 Homojen patern (3)

(https://anapatterns.org/nuclear_patterns.php’ den alınmıştır)

Nükleer membran boyanma

Nükleer membran tipi boyanmada otoantikorlar, nükleer membrandaki laminlere (A, B1, B2, C), gp210 gibi nükleer pore kompleks integral proteinlerine, laminle birlikte bulunan proteinlere (LAP 1A, LAP 2) karşı oluşur. Kronik hepatit, vaskülitler, trombositopeni ve SLE gibi miks tip kronik otoimmün hastalıklarda tespit edilirler(41). Mikroskopik görüntü şekil 3’te gösterilmiştir.



Şekil 2.3 Nükleer membran patern (3)

(https://anapatterns.org/nuclear_patterns.php’ den alınmıştır)

Benekli (Granüler) boyanma

Benekli tarzda boyanma histon haricindeki çok sayıdaki antijenlere karşı otoantikorların varlığını gösterir. Birbirinden farklı benekli boyanma modelleri farklı antijenlere bağlanmayla ortaya çıkar. Beneklerin boyutu büyükten çok küçüğe doğru sıralanırken şekilleri düzgün veya çok düzensiz olabilir (38).

Büyük benekli (nükleer matriks) boyanma

Bu boyanma paterninde, istirahat halindeki hücre nükleusları değişken büyük benekli tarzda boyanma gösterirken, mitotik hücrelerde kromozomlar boyanmamıştır ve otoantikorlar başlıca heterojen nükleer ribonükleoproteinlere (hnRNP) karşı olabilir. Sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit ve mikst bağ doku hastalığı gibi hastalıklarda (hnRNP-A1, A2, B2) ve sklerodermada (hnRNP-C1, C2 ve I) gözlenir (38).

Kaba benekli boyanma

Sm ve U1-snRNP'e karşı otoantikor varsa gözlenen bir boyanma modeli olup, antijenler küçük nükleer ribonükleoproteinleri (snRNP) içerir. SLE, mikst bağ doku hastalığı gibi hastalıklarda tespit edilir (38).

İnce Benekli boyanma

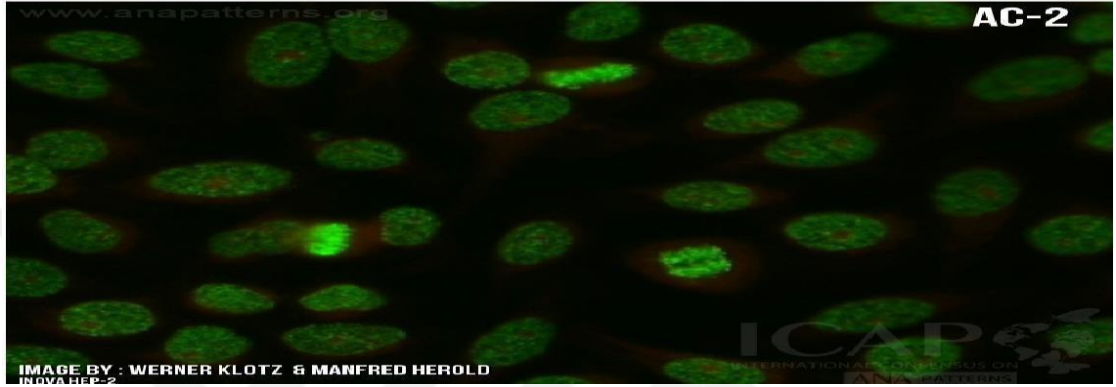
Bu boyanmada antikorlar SSA (Ro), SSB (La), RNA polimeraz II ve III, Ku, Ki ve Mi-2'ye karşı olabilir; SLE, Sjögren sendromu, skleroderma, myozit ve Miks bağ doku hastalığı gibi hastalıklarda gözlenir (38). Mikroskopik görüntü şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Benekli patern (3) (https://anapatterns.org/nuclear_patterns.php'den alınmıştır)

Yoğun İnce Benekli-DFS-70 benzeri boyanma

Bu boyanma paterninde nükleoplazma yoğun ince benekli tarzda boyanırken benzer benekler mitotik hücrelerin kromozomlarında da gözlenir. Antikor, 75-kd'luk lens epitelyum kaynaklı büyüme faktörüne (LEDGF) karşı olup, sağlıklı kişiler, alopesi areatalı ve atopik dermatitli hastalarda görülebilmektedir (44-47). Mikroskopik görüntü şekil 5'te gösterilmiştir



Şekil 2.5.Yoğun İnce Benekli-DFS-70 benzeri patern (3)
(https://anapatterns.org/nuclear_patterns.php' den alınmıştır)

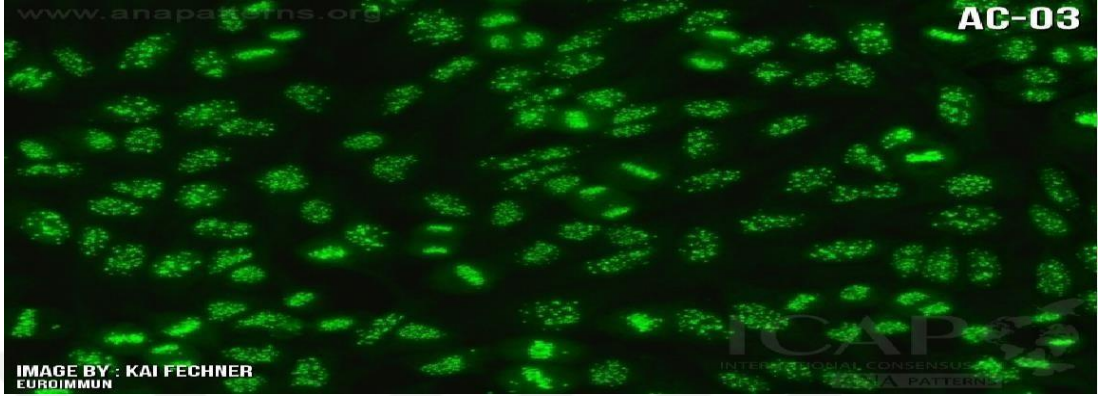
Anti-DFS70 otoantikorunun oluşturduğu boyanma paterni, ANA IIF tarama testi ile saptanabilmektedir. Boyanma şekli, mitotik hücrelerin kromozomunun ve interfazdaki nükleusun yoğun ince benekli boyanma göstermesi ile karakterizedir. Metafaz aşamasındaki yoğun ince benekli kromozom boyanması, bu paterni belirgin bir şekildedir; diğer homojen ve benekli boyanma paternlerden ayırır (48). Anti-DFS-70, LEDGF (Lens Epithelium-derived growth factor) ve transkripsiyon koaktivatör p75 olarak da adlandırılan, önemli biyolojik fonksiyonları olan, rutin ANA IIF taramasında sıkça saptanan ama aynı zamanda kesin olarak otoimmün hastalıklarla ilişkisi bilinmeyen bir otoantikor olarak tanımlanabilir (49). LEDGF/DFS 70 proteininden; transkripsiyonaktivatörü, HIV-1 transporter ve strese karşı hücre direncini artırıcı yani hücrenin hayatını kurtarıcı olarak da bahsedilmektedir (47). Anti-DFS-70 otoantikorunun (LEDGF otoantikoru) hedef antijeni için farklı bir hipotez daha öne sürülmüştür. Yapılan bir araştırmada cevabı aranan soru; normal öz antijenlerin hangi yol ile immünojenik özellik kazanıp, kendilerine otoantikor cevabı oluşmasını

sağladıkları ve bunu takiben otoimmün hastalıklar oluşmasına neden olduklarıdır. Hipoteze göre, hücrelerin ölümü sırasında, hücrenin kendi otoantijenleri modifiye olarak, immünojenik özellik kazanmaktadır. Hücre ölümü sırasında (apoptoz, primer nekroz veya sekonder nekroz) hücre içi öz antijenler fragmanlara ayrılmakta ve bu fragmanlar normal fonksiyonlarını kaybederek, patojenik özellik kazanmaktadır. Hipoteze göre, memeli hücrelerinin büyümesini destekleyen ve hücrenin ‘yaşamını devam ettirmesini’ sağlayan bir otoantijen olan LEDGF/p75 de apoptoz sırasında kaspaz 3 ve kaspaz 7 enzimleri fragmanlarına ayrılmakta (p65 ve p58 fragmanları) ve normalde hücre ölümü sırasında oluşan strese karşı hücreleri korurken, oluşturduğu fragmanlarla tam ters etki yapmaktadır. Diğer bir deyişle, LEDGF/p75, apoptoz sırasında fragmanlarına ayrıldığında, oluşan fragmanlar, apoptozu arttırıcı özellik kazanmakta ya da dendritik hücreler tarafından lenfositlere sunulurken bu fragmanlara ve LEDGF/p75’e karşı otoantikor oluşumuna neden olmaktadır (49). Atopik dermatitli (AD) hastalarda, LEDGF/DFS 70 antijeninin, nükleer bir öz antijen olduğunu ve keratohyalin granüllerinde fonksiyonel bir rolü olduğuna dair çalışmalar yapılmıştır. Anti-DFS-70 otoantikorumun, AD hastalarının, yaklaşık %30’unda bulunması, bu otoantikorum, AD’li hastalarda baskın bir otoantikor olduğunu düşündürmektedir (44). DFS-70/LEDGF/p75 antijeninin, prostat tümör dokularında fazla miktarda eksprese edildiği gösterilmiştir (50). Bu proteinin viral integras ile etkileşim yoluyla insan immün yetmezlik virüsü (HIV) replikasyonu için bir kofaktör olarak hizmet etmek de dahil olmak üzere bir dizi fizyolojik işlevi bilinmektedir (45). DFS-70 antikoru erkekler göre kadınlarda daha sık rastlandığı görülmüştür. Cinsiyet farklılığında, salgılanan hormonların bu duruma etkisinin olduğu düşünülmektedir. Antijenik yapının lokalizasyonundan daha önemli olan nokta ise bu antijene karşı oluşan otoantikorum klinik önem taşıyıp taşımadığıdır. Anti-DFS-70 otoantikorumun doğal bir otoantikor olduğu ve sağlıklı bireylerde hiçbir antijen uyarımı olmaksızın bulunduğu da ileri sürülmüştür. Ayrıca DFS-70 antijeninin timusta, diğer dokulardan fazla eksprese edildiğine dair çalışmalar mevcuttur (46).

Sentromer boyanma

Sentromer boyanma paterninde interfaz evresindeki HEp-2 hücrelerinin nükleuslarında kromozomların sentromerlerinin boyanması nedeniyle yaklaşık olarak kromozom sayısı kadar dağınık noktalar şeklinde, metafaz evresinde ise kromatin

boyunca noktasal paternde boyanma görülür. Bu antikorlar CENP- A, CENP- B, CENP- C ve daha nadir olarak CENP-D ye karşıdır. Sentromer boyama paterni sınırlı kutanöz sistemik skleroz (CREST sendromu), primer biliyer kolanjit, Raynaud fenomeninde saptanabilir (51,52). Mikroskopik görüntü şekil 6’da gösterilmiştir



Şekil 2.6. Sentromer patern (3)

(https://anapatterns.org/nuclear_patterns.php’den alınmıştır)

Nükleolar boyanma

Bu boyanma paterninde metafaz aşamasındaki HEp-2 hücrelerinde kromatinler boyanmamış, boyanmış veya az sayıda benekli tarzda boyanmış iken nükleoluslar boyanmıştır (38).

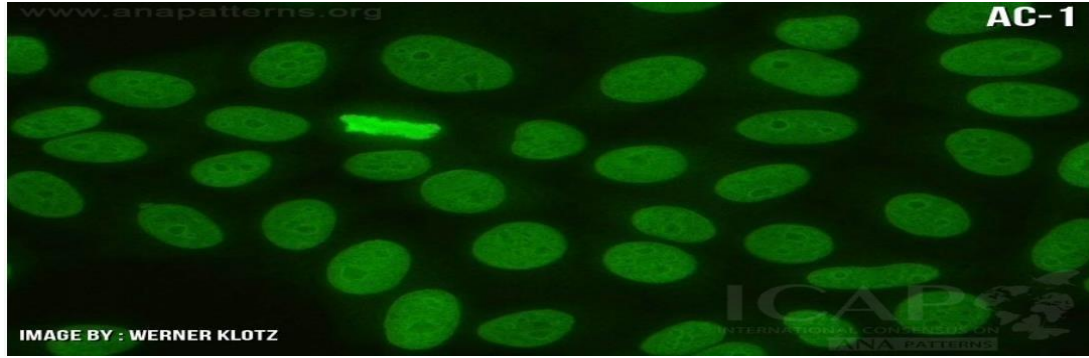
Nükleolar homojen boyanma

Bu boyanma paterninde nükleolusun homojen, nükleoplazmanın zayıf homojen veya benekli boyandığı durumlarda antikor PM-Scl kompleksine karşı olabilir ve başlıca myositis-skleroderma overlap sendromunda ve daha az sistemik skleroz ve myozitide tespit edilirler. Bu boyanma şekli anti-Th/To antikorları olarak bilinir ve 40kDa’luk iki küçük ribonükleoproteine karşı oluştuğunda gözlenebilirler. Th/To antikorları sistemik sklerozda, SLE, polimiyositis ve RA’da saptanabilir (51,53).

Nükleolar benekli boyanma

İstirahat halindeki hücrelerin nükleoluslarında benekli tarzda nükleolar boyanma, nükleoplazmada ince benekli boyanma, sistemik skleroz için yüksek

spesifiklikte olmakla birlikte SLE, RA ve MBDH’de de gözlenen RNA polimeraz I (RNAP I) kompleksine karşı antikorları gösterebilir (51,53). Mikroskopik görüntü şekil 7’de gösterilmiştir.



Şekil 2.7 Nükleolar paterni (3) (https://anapatterns.org/nuclear_patterns.php’den alınmıştır)

Sitoplazmik ince benekli boyanma

Nükleus çevresinden başlayarak hücre periferine doğru yayılır, antikorlar aminoasil-tRNA sentetazlara (Jo-1, PL7, PL12) karşı olup idiopatik (otoimmün) myozitis (polimyozi/dermatomyozit, overlap sendromunda myozitis, yumuşak bağ dokusu hastalıkları) için diyagnostik belirteçtir. Anti-Jo1 (histidil tRNA sentetaz) ve anti-EJ (glisil-tRNA sentetaz) antikorları klinik miyozit gelişmeden 5 ay önceden tespit edilebilmektedirler (43,54).

Sitoplazmik iri benekli boyanma

Sitoplazmaya yayılmış olup lizozomlar ve endosom gibi organellere karşı otoantikorları gösteririr.

Sitoplazmik retiküler (mitokondri) boyanma

Boyanma, çoğunlukla anti-mitokondriyal antikor boyanması nedeniyle gözlenir ve primer biliyer kolanjit (%95’inde antikor M2’ye karşı), diğer kronik karaciğer hastalıkları, SLE ve sistemik sklerozda görülebilirler (47).

Sitoplazmik homojen (ribozomal) boyanma

Bu boyanma paterninde çekirdek çevresinde kuvvetli homojenden ince benekliye diffüz boyanmanın yanı sıra ribozom sentezinin merkezi olan nükleolusta

da boyanma gözlenir. Metafaz evresindeki hücre kromatini negatiftir. Otoantikorlar ribozomal P fosfoproteinlerden P0, P1 ve P2 ye karşı ve diğer antijen hedefleri 28S tRNA, S10, Ja, L12, ve L5/5S'ye karşı oluşurlar. Bazen anti-dsDNA antikorlarının negatif olduğu SLE hastalarının %10-20'sinde tespit edilebilirler (3,53).

Sitoplazmik golgi boyanma

HEp-2 hücre sitoplazmasında nükleusunun sadece bir tarafına yakın, büyüklükleri farklı olabilen benekli tarzda boyanmalar golgi kompleksi; golgin-67, golgin-95, golgin 97, golgin-160, golgin-245 ve macrogolgin/giantin'e karşı otoantikorların varlığını gösterir. SLE, Sjögren sendromu ve diğer kronik romatolojik hastalıklarda saptanabilir (3,53).

Sentriol boyanma

Bu paternde interfaz evresindeki hücrelerin sitoplazmalarında 1 veya 2 nokta, metafaz evresindeki hücrelerin kutuplarında 2 nokta şeklinde boyanma, birçok sentrosomal antijene karşı otoantikorları gösterir. Bu nadir boyanma şekli Raynaud fenomeniyle birlikte skleroderma, CREST ve Sjögren sendromu ve diğer otoimmün hastalıklarda saptanabilir (53).

Anti-Scl-70 (DNA topoizomeraz 1 benzeri) boyanma

HEp-2 hücrelerinin nükleusunda ince benekli ve nükleolar boyanma paterni gösterirler. Otoantikor topoizomeraz 1 (native formu 100 kDA, 70 kDA)'e karşıdır. Sistemik sklerozlu hastalarda görülür ve oldukça spesifiktir (53).

Anti-nükleozom (kromatin) antikorları

LE hücre formasyonuna neden olan otoantikorların başında yer alır. Anti-nükleozom antikorları SLE'de hastalık aktivitesi ve böbrek tutumuyla korelasyon göstermektedir. SLE'de bu antikorun sensitivitesi %84, spesifikliğı %70'tir. Primer Sjögren sendromu ve primer Antifosfolipid Antikor Sendromu (AFAS) gibi diğer otoimmün hastalıklarda düşük oranda tespit edilebilirler (11,55).

2.9.3. Otoantikor Tayininde Kullanılan Yöntemler

Otoimmün hastalıkların tanısında otoantikorlar kullanılmaktadır. Hargraves ve arkadaşlarının 1948 yılında LE hücreleri üzerine yapılan çalışmalar ile başlayan serüven IIF yöntemi ile ANA tespiti, ELİSA ve IIF yöntemi ile anti-dsDNA tespiti ve immüno blot yöntemiyle anti-ENA profili tespiti ile zirveye ulaşmıştır. Günümüzde bu amaçla birçok yöntem kullanılmaktadır (56). (Tablo 2.10)

Tablo 2.10. Otoantikor tayininde kullanılan yöntemler

1-İndirekt İmmüno floresan (IIF)
2- Enzyme-linked İmmunosorbent Assay (ELISA)
3-İmmünoradiometrik assay (IRMA)
4- Radioimmünoassay (RIA)
5- İmmunoblot, Western blot, Dot blot
6- Aglütinasyon (Hemaglütinasyon ve Lateks aglütinasyon)
7-İmmünodifüzyon
8- Counter İmmünoelektroforez

IIF yöntemi

IIF testi, duyarlılık, uygulama kolaylığı ve düşük maliyet gibi avantajları nedeniyle ANA saptanmasında en sık kullanılan yöntemdir. IIF testinde eskiden antijen kaynağı olarak sıçan doku kesitleri kullanılırken günümüzde ise bunun yerini HEp-2 hücreleri almıştır. HEp-2 hücreleri larenks kanserli hastalardan elde edilen insan epitelyal hücre dizisidir. Hücrelerin büyük nükleusları ve hızlı bölünmesi sayesinde hücre siklusu boyunca farklı şekillerde sergilenen antijenler daha kolay tespit edilebilmektedir (52). Değerlendirilmesinin kişinin bilgi ve deneyimine bağlı olması, floresan mikroskobunun kalitesi gibi faktörler sebebiyle IIF testinde laboratuvarlar arası çalışmalar karşılaştırıldığında farklı sonuçlar ortaya çıkabilir (52). Antikor spesifikliğı sağlaması nedeni ile doğrulama testi olarak, immünodifüzyon, counter immünoelektroforez (CIE), immüno blot, radioimmünoassay (RIA) ve ELISA gibi yeni teknikler kullanılmaktadır (26).

ELISA yöntemi

ELISA yöntemi, özellikle dsDNA'ya karşı oluşan antikorların belirlenmesinde ayrıca anti-ENA ve anti-kardiyolipin antikorların belirlenmesinde de kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra ELISA yönteminde total ANA tespiti de yapılmaktadır. Ancak SS-A ve SS-B nükleusta az miktarda bulunduğundan dolayı ELISA yöntemi ile iyi belirlenemese bile, bu durum total ANA tespitinde önemli bir sorun olarak görülmemektedir. Bu teknik, az sürede daha çok hasta üzerinde çalışılabildiği için ve nükleus içinde yaygın halde bulunan ANA'ları daha kolay belirlediği için IIF yönteminden daha kullanışlı bir teknik olarak kabul edilmiştir (52). ELISA tekniğinin duyarlılığı yüksektir fakat özgüllüğünün düşük olması nedeniyle yanlış pozitifliklere sık rastlanmaktadır (57).

İmmüno blot Yöntemi

İmmüno blot tekniği, nükleer antijenlere karşı gelişen antikorların alt gruplarını birbirinden ayırarak belirleyebilme imkanı tanımaktadır. Günümüzde antikor spesifitesini tanımlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu alt gruplar, bazı otoimmün hastalıkların varlığına işaret etmektedir. Örneğin Sm antijenine karşı gelişen antikorlar SLE'yi, anti Scl-70 veya fibrillarine karşı gelişen antikorlar ise sklerodermayı düşündürmektedir. Diğer yöntemlerde, kullanılan kontrollerle hatasız bir sonuca ulaşıldığından emin olunması önemlidir. Bu açıdan immüno blot tekniği bilinen antikor kontrolleri ile değerlendirme imkanı sağlamaktadır. ANA'nın sistemik romatolojik hastalıkların tanısında önemli bir rol alması klinik laboratuvarlarda immüno blot tekniğinin yer almasını sağlamıştır. İmmüno blot tekniği, otoantikorların moleküler düzeyde spesifitesini belirlemekte bir sonraki adım olarak gösterilmektedir (58).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Çalışmamızın etik kurul onayı, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 13/07/2021 tarihli 22 sayılı karar ile alınmıştır.

3.2. Olgu seçimi

Çalışmamıza hastanemiz İç Hastalıkları Anabilim Dalı Genel Dahiliye Polikliniği'ne Ocak 2019 – Şubat 2021 tarihleri arasında romatolojik hastalık düşündüren şikayetlerle başvuran ve bu nedenle ANA testi istenen, ANA IIF yoğun ince benekli boyanma paterninde olan (DFS70 benzeri), immunoblotting testi ile anti-DFS70 antikoru pozitif çıkan ve kontrol grubu olarak ANA IIF negatif olan hastalar dahil edilmiştir. Çalışmamızda hastalar, ANA IIF yoğun ince benekli-DFS70 benzeri boyanma paterninde olan ve immunoblotting testi ile anti-DFS70 antikoru pozitif olan 40 hasta, ANA IIF yoğun ince benekli-DFS70 benzeri boyanma gösteren ancak immunoblottingile doğrulama yapılamamış 71 hasta ve ANA IIF negatif 30 hasta olmak üzere gruplara ayrılmıştır. Hastaların romatolojik sistem sorgulaması yapılarak bu gruplar arasında yoğun ince benekli boyanma paterninin ve anti-DFS70 antikor pozitifliğinin klinikle ilişkisi değerlendirilmiştir. Olgulara ait veriler hastanemiz otomasyon sisteminden retrospektif olarak elde edilmiştir.

3.2.1. Değerlendirilen parametreler

Hasta ve kontrol gruplarında yaş, cinsiyet, romatolojik sistem sorgulaması (Tablo 3.1), ANA ve ANA profil testleri, hemoglobin, lökosit, nötrofil, lenfosit, trombosit, Eritrosit Sedimentasyon Hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP), ferritin, proteinüri değerleri incelendi.

Tablo 3.1 Romatolojik hastalıklara yönelik değerlendirilen sistemik sorgulamada kullanılan semptom ve bulgular

Bel ağrısı	Göz kuruluğu
Topuk ağrısı	Ailede kamburluk
Sabah tutukluğu	Raynaud bulgusu
Oral aft	Üveit öyküsü
Genital ülser	Eritema nodosum
Baş ağrısı	Fotosensitivite
Karın ağrısı	Psöriasis
Artrit	Alopesi
Artralji	Ailede romatizmal hastalık öyküsü
Ağız kuruluğu	

3.2.2. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- Olgunun 18 yaşından büyük olması,
- Hastanemiz İç Hastalıkları polikliniğinden hastanemiz otomasyon sistemine kayıtlı Ocak 2019- Şubat 2021 tarihleri arasında istenen ANA ve ANA profil sonuçlarının bulunması,
- Olgunun incelenmesi planlanan laboratuvar ve klinik özelliklerine ulaşılabilmiş olmasıdır.

3.2.3. Çalışmamızın Dışında Tutulma Kriterleri

- 18 yaş altında olanlar
- Başvurusunda ANA IIF Yoğun ince benekli-DFS70 benzeri boyanma paterni dışında boyanma paternine sahip olan hastalar

3.3 ANA ve ANA profil ölçümlerinde kullanılan yöntemler

ANA IIF ve ANA profil immunoblotting testleri hastanemiz Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarında çalışılmış ve değerlendirilmiştir.

3.3.1. ANA IIF Testi

Hasta serumlarından ANA IIF çalışılmasında HEp-20-10/maymun karaciğeri IIFT (EUROIMMUN; Lübeck, Almanya) kiti kullanılmıştır. Tarama dilüsyonu olarak hasta serumlarının 1/100'lük dilüsyonları hazırlanmıştır. Dilüsyonları yapılmış serum örnekleri reaksiyon tepsilerinde uygun bölgelere aktarılmış, üzerlerine slaytlar kapatılmış ve 30 dakika oda ısısında inkübe edilmiştir. Yıkama aşamasının ardından konjugat aşamasına geçilmiş, yeterli inkübasyon yapıldıktan sonra yıkama yapılan slaytlara kapatıcı medium ile lamel kapatılmıştır. Slaytlar floresan mikroskop altında 20x'lik ve 40x'lik objektiflerle değerlendirilmiştir. Her iki substratta floresan boyanma varlığı incelenmiş, HEp-20-10 hücrelerinden patern belirlenmiş, pozitif kontrol ile floresan şiddeti karşılaştırılarak titre değerlendirilmiştir.

3.3.2 ANA profil immunoblotting testi

EUROLINE ANA profil 3 + DFS70 (IgG) (EUROIMMUN Lübeck, Almanya) immunoblot kiti kullanılarak çalışılmıştır. Bu kit ile hastada mevcut olan, nükleer ve sitoplazmik 16 farklı antijene (nRNP, Sm, SS-A, Ro-52, SS-B, Scl-70, PM-Scl, Jo-1, CENP B, PCNA, dsDNA, nükleozom, histon, ribozomal P- protein, AMA M2 ve DFS70) karşı IgG sınıfından otoantikorlar değerlendirilmiş ve tanımlanmıştır. Kit içerisinde saflaştırılmış antijenleri sıralı olarak içeren test stripleri bulunur. İlk aşamada dilüsyonları yapılmış hasta serum örnekleri immunoblot stripleri ile inkübasyon tepsisindeki kanalların içerisinde inkübe edilmiştir. Pozitif örneklerde spesifik IgG antikorları, ilgili antijenik bölgeye bağlanmıştır. Yıkama yapılarak bağlanmayan yapılar uzaklaştırılmıştır. Bağlanmış olan antikorları saptamada ikinci bir inkübasyon uygulanmıştır. Bu aşamada enzim işaretli anti-insan IgG (enzim konjugat) ile strip üzerinde renkli bir reaksiyon sağlanmıştır. Test stripleri inkübasyon tepsinden çıkarılarak yeşil kağıt üzerindeki uygun bölgeye yapıştırılmış, havada kuruduktan sonra EUROLineScan programında taranarak striplerdeki antijen

bölgelerinde bant varlığı ve boyanma şiddeti değerlendirilmiştir. İnkübasyonun doğru yapıldığının kontrolü olarak kontrol bantlarının varlığı değerlendirilmiştir.

3.4. İstatistiksel Analiz yöntemi

Çalışmamızda normal dağılım gösteren sürekli değişkenler Ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak verilmiştir. Normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenler ise medyan ve (%25-%75) persantil değerleri ile gösterilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğunun araştırılmasında Shapiro Wilk's testinden yararlanılmıştır. Normal dağılıma uygunluk göstermeyen grupların karşılaştırılmasında, grup sayısı iki olan durumlar için Mann-Whitney U testi, grup sayısı ikiden fazla olan durumlar için Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testinde çoklu karşılaştırma testi olarak Dunn testinden yararlanılmıştır. Kategorik değişkenler ise yüzde n ve (%) olarak verilmiştir. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ki kare analizinden yararlanılmıştır. Analizlerin uygulanmasında IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corp. Released- 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0.0 Armonk, NY: IBM Corp) programından yararlanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$ değeri kriter kabul edilmiştir.

3.5. Hasta grubu

Çalışma için İç Hastalıkları polikliniğine Ocak 2019- Şubat 2021 tarihleri arasında romatizmal şikayetlerle başvuran ve ANA IIF testi çalışılan 1500 hasta retrospektif olarak taranmış ve çalışmaya toplam 141 hasta dahil edilmiştir. Bunlardan 111 hasta ANA IIF yoğun ince benekli DFS 70 benzeri boyanma paterninde olup, 40 hastada blotting yöntemi ile anti-DFS70 antikoru saptanmıştır. Kalan 71 hastanın blotting test sonucuna ulaşamamıştır. Tam kontrol grubu olarak ANA IIF negatif olan 30 hasta dahil edilmiştir. Bu hastalar ANA IIF negatif, ANA IIF Yoğun ince benekli DFS70 benzeri boyanma gösteren ve anti-DFS70 antikoru pozitif olmak üzere 3 grupta yaş, cinsiyet, romatolojik sistem sorgulaması, hemoglobin, lökosit, nötrofil, trombosit, ESH, CRP, idrarda protein pozitifliği sonuçları açısından değerlendirilmiştir.

4.BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen ve romatolojik hastalık düşündüren semptomlar nedeniyle ANA testi istenmiş 141 hastanın 121'i (%85,8) kadın, 20'si (%14,2) erkek olarak tespit edildi. ANA IIF yoğun ince benekli-DFS70 benzeri boyanma gösteren 111 hastanın 96'sı kadın (%86,5), 15'i erkekti (%13,5). Yaş ortalaması 44 (21-77) idi. Romatolojik yakınmalarla başvuran ve ANA istenmiş hastalarda semptomlara bakıldığında bel ağrısı 52 hastada (%46,8), sabah tutukluğu 55 hastada (%49,5), topuk ağrısı 23 hastada (%20,7), oral aft 16 hastada (%14,4), genital ülser 1 hastada (%0,9), baş ağrısı 32 hastada (%28,8), karın ağrısı 10 hastada (%9), artrit 5 hastada (%4,5), artralji 85 hastada (%76,6), ağız kuruluğu 49 hastada (%44,1), göz kuruluğu 30 hastada (%27), ailede kamburluk öyküsü 1 hastada (%0,9), Raynaud bulgusu 8 hastada (%7,2), üveit 6 hastada (%5,4), eritema nodosum 4 hastada (%3,6), fotosensitivite 17 hastada (%15,3), alopesi 8 hastada (% 7,2), psöriasis 1 hastada (%0,9), ailede romatizmal hastalık öyküsü 36 hastada (%32,4) mevcut idi. Ortalama hemoglobin değeri 13,00 g/dL (8-17 mg/L), lökosit sayısı 6500/uL (2500-12700), nötrofil sayısı 3890/uL (700-7900), lenfosit sayısı 1950/uL (960-5002), nötrofil/lenfosit oranı 1.89 (0,39-5,5), trombosit sayısı 270.000/uL (100.000-612.000), ESH 19 mm/saat (1-80 mm/saat), CRP 1,5 mg/L (0,2-45 mg/L), ferritin 24 ng/mL (3-160 ng/mL) idi. Trombosit sayısı 3 hastada (%2,7)150 binin altında idi. ESH 57 hastada (%51,4) 20'nin altında, CRP değeri 76 hastada (%68,5) 5'in altında idi. ANA IIF yoğun ince benekli-DFS70 benzeri boyanma gösteren 111 hastanın içinde anti-DFS70 antikoru pozitif olan 40 hasta, sadece ANA IIF yoğun ince benekli-DFS70benzeri boyanma gösteren 71 hasta ve ANA negatif olan 30 hasta üç grup olarak cinsiyet, yaş, romatolojik klinik sorgulama ve laboratuvar göstercileri açısından değerlendirildi. Bu üç grup cinsiyet dağılımı açısından karşılaştırıldı. Anti-DFS70 antikoru doğrulanmış grupta kadınların sayısı 30 (%75,1), ANA IIF yoğun ince benekli -DFS70benzeri boyanma paterni gösteren grupta 66 (%93), ANA IIF negatif olan grupta 25 (%83,3) idi. Anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta erkeklerin sayısı 10 (%25), ANAIIF yoğun ince benekli -DFS70 benzeri boyanma paterni gösteren grupta 5 (%7), ANAIIF negatif olan grupta 5 (%16,7) idi (p= 0,031). Grupların cinsiyet dağılımı tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Anti-DFS70 antikoru pozitif olan hasta grubu, ANA IIF Yoğun ince benekli -DFS70 benzeri boyanma paterninde olan grup ve ANA IIF negatif olan hasta grubu arasında cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	(I) Anti-DFS70 pozitif (n=40)	(II) ANA IIF DFS 70 benzeri boyanma (n=71) DFS70 doğrulanamamış grup	(III) ANA IIF negatif (n=30)	P değeri	Bonferroni düzeltmeli çoklu Karşılaştırma testine göre farklı olan gruplar
Kadın	30 (%75) ^b	66 (%93) ^a	25 (%83,3) ^{a, b}	0,031	I-II
Erkek	10 (%25) ^b	5 (%7) ^a	5 (%16,7) ^{a, b}		I-II

a, b: Aynı harfi içeren sütun yüzdeleri birbirinden farklı değil iken, farklı harf içeren sütun yüzdeleri birbirinden farklıdır.

Anti-DFS70 antikoru pozitif olan grup, ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma paternigösteren (DFS70 benzeri) grup ve ANA IIF negatif olan gruplar yaş açısından karşılaştırıldığında anti-DFS 70 antikoru pozitif olan grupta yaş ortalaması 47,5 (38,5-58), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma paterni gösteren (DFS70 benzeri) grupta 42 (32,5-55), ANA IIF negatif olan grupta 48,5 (42-59) idi ($p=0,081$). Hemogloblin değeri anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta ortalama 13,1 g/dL (12-14), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma paterni gösteren (DFS70 benzeri) grupta 13 g/dL (12,5-14), ANA IIF negatif olan grupta 14 g/dL (13-15,9) idi ($p=0,014$). Lökosit sayısı anti-DFS70 pozitif olan grupta ortalama 6004/mm³ (5380-6690), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma (DFS70 benzeri) olan grupta 6820/mm³ (5690-8225), negatif olan grupta 6515/mm³ (5200-8680) idi ($p=0,161$). Nötrofil sayısı anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 3495/mm³ (2560-4305), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma

gösteren (DFS70 benzeri) grupta $3940/\text{mm}^3$ (3270-4980), ANA IIF negatif olan grupta $3425/\text{mm}^3$ (2770-5670) idi ($p=0,123$). Lenfosit sayısı anti-DFS70 pozitif olan grupta $1890/\text{mm}^3$ (1640-2200), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma gösteren (DFS70 benzeri) grupta $2000/\text{mm}^3$ (1720-2470), ANA IIF negatif olan grupta $2125/\text{mm}^3$ (1550-2600) idi ($p=0,537$). Trombosit sayısı anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta $242.500/\text{uL}$ (208.000-300.000), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma gösteren (DFS70 benzeri) grupta $279.000/\text{uL}$ (228.000-338.000), ANA IIF negatif olan grupta $275.500/\text{uL}$ (228.000-306.000) idi ($p=0,128$). ESH anti-DFS70 pozitif olan grupta 14 mm/saat (8-25), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma gösteren (DFS70 benzeri) grupta 19 mm/saat (10,5-31), ANA IIF negatif olan grupta $14,5 \text{ mm/saat}$ (7-28) idi ($p=0,256$). CRP değeri anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 2 mg/L (0,8-5), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma gösteren (DFS 70 benzeri) grupta $3,0 \text{ mg/L}$ (1,0-7,0), ANA IIF negatif olan grupta $1,9 \text{ mg/L}$ (1,2-5,0) idi ($p=0,474$). Ferritin değeri anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 33 ng/mL (20,5-63,5), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma gösteren (DFS70 benzeri) grupta 22 ng/mL (15-44), ANA IIF negatif olan grupta $47,5 \text{ ng/mL}$ (20-160) ($p=0,007$) bulundu. (Tablo 4.2)

Tablo 4.2. Anti-DFS70 antikoru pozitif olan (n=40), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma paterni (DFS70- benzeri) gösteren (n=71) ve ANA IIF negatif olan (n=30) hastaların yaş, hemogram ve bazı laboratuvar testleri açısından karşılaştırılması

	(I) Anti-DFS70 antikoru pozitif (n=40) Median (%25-75)	(II) ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma gösteren (DFS70 benzeri) (n=71) Median (%25-75)	(III) ANA IIF negatif (n=30) Median (%25-75)	p değeri	Dunn Çoklu Karşılaştırma Testine Göre Farklı Olan Gruplar
Yaş	47,5 (38,5-58)	42 (32,5-55)	48,5 (42-59)	0,081	
Hemoglobin	13,1 (12-14)	13,5 (12,5-14,0)	14 (13-15,9)	0,014	I –III II-III
Lökosit	6004 (5380-6690)	6820 (5690-8285)	6515(5200-8680)	0,161	
Nötrofil	3495 (2560-4305)	3940 (3270-4980)	3425(2770-5670)	0,123	
Lenfosit	1890 (1640-2200)	2000 (1720-2470)	2125(1550-2600)	0,537	
Trombosit	242.500 (208.000-300.000)	279.000 (228.000-330.000)	275.500(228.000-306.000)	0,128	
ESH	14 (8-25)	19 (10,5-31)	14,5 (7-28)	0,256	
C-reaktif protein	2 (0,8-5)	3 (1 -7)	1,9 (1,2-5)	0,574	
Ferritin	33 (20,5-63,5)	22 (15-44,5)	47,5 (20-130)	0,007	II-III

Anti-DFS70 antikoru pozitif olan 40 hasta ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma gösteren (DFS70 benzeri) 71 hasta ve ANA IIF negatif olan 30 hasta aşağıdaki klinikseptomlar açısından karşılaştırıldı. Bel ağrısı anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 24 hastada (%60), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma gösteren (DFS70 benzeri) grupta 28 hastada (%39,4), ANA IIF negatif olan grupta 14 hastada (%46,7) mevcuttu ($p=0,114$). Topuk ağrısı anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 11 hastada (%27,5), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 12 hastada (%16,9), ANA IIF negatif olan grupta 4 hastada (%13,3) mevcuttu ($p=0,261$). Sabah tutukluğu anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 19 hastada (%47,5), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 36 hastada (%50,7), ANA IIF negatif olan grupta 7 hastada (%23,3) mevcuttu ($p=0,035$). Oral aft anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 4 hastada (%10), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 12 hastada (%16,9), ANA IIF negatif olan grupta 7 hastada (%23,3) mevcuttu ($p=0,322$). Genital ülser anti-DFS70 pozitif olan grupta 1 hastada (%2,5), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 0 hastada (%0), ANA IIF negatif olan grupta 3 hastada (%3) mevcuttu ($p=0,017$). Baş ağrısı anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 17 hastada (%42,5), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 15 hastada (%21,1), ANA IIF negatif olan grupta 9 hastada (%30) mevcuttu ($p=0,058$). Karın ağrısı anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 5 hastada (%12,5), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 5 hastada (%7), ANA IIF negatif olan grupta 4 hastada (%13,3) mevcuttu ($p=0,564$). Anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta artrit bulgusu olan hasta tespit edilmedi (%0,0), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta artriti olan hasta sayısı 5 (%7), ANA IIF negatif olan grupta 3 idi ($p=0,156$). Artralji anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 30 hastada (%75), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 55 hastada (%77,5), ANA IIF negatif olan grupta 20 hastada (%66,7) mevcuttu ($p=0,522$). Ağız kuruluğu anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 17 hastada (%42,5), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 32 hastada (45,1), ANA IIF negatif olan grupta 15 hastada (%50) vardı ($p=0,821$). Göz kuruluğu anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 10 hastada (%25), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 20 hastada (%28,2) ANA IIF negatif olan grupta 9 hastada (%30) mevcuttu ($p=0,890$). Ailede kamburluk öyküsü anti-DFS70 antikoru pozitif olan ve DFS70 benzeri boyanma gösteren 2 grupta da tespit edilmedi (%0,0), ANA IIF negatif olan grupta 1 hastada (%1,0) mevcuttu ($p=1,00$). Raynaud bulgusu tarifleyen hasta sayısı pozitif

olan grupta 2 (%5), DFS70 benzeri boyanma paterni gösteren grupta 6 (%8,5) ANA IIF negatif olan grupta 3 (%10) idi ($p=0,772$). Üveit öyküsü anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 1 hastada (%2,5), DFS70 benzeri boyanma paterni gösteren grupta 5 hastada (%7), ANA negatif olan grupta 1 hastada (%3,3) mevcuttu ($p=0,598$). Eritema nodosum şikayeti anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 2 hastada (%5), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 2 hastada (%2,8) mevcuttu, ANA IIF negatif olan grupta ise yoktu (%0) ($p=0,567$). Fotosensitivite, anti-DFS70 pozitif olan grupta 4 hastada (%10), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 13 hastada (%18,3), ANA IIF negatif olan grupta 8 hastada (%26,7) mevcuttu ($p=0,192$). Alopesi anti-DFS70 pozitif olan grupta 3 hastada (%7,5), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 5 hastada (%7) mevcuttu, ANA IIF negatif olan grupta ise tespit edilmedi ($p=0,349$). Psöriazis bulgusu pozitif olan grupta tespit edilmedi 0 hasta (%0), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 1 (%1,4), ANA IIF negatif olan grupta 1 hastada (%3,3) mevcuttu ($p=0,710$). Ailede romatizmal hastalık öyküsü anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 12 hastada (%30), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 24 hastada (%33,8), ANA IIF negatif olan grupta 5 hastada (%16,7) mevcuttu ($p=0,220$). (Tablo 4.3)

Tablo 4.3. Anti-DFS70 antikoru pozitif olan (n=40), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma paterni (DFS70-benzeri) gösteren (n=71) ve ANA IIF negatif olan (n=30) hastaların romatolojik semptomlar açısından karşılaştırılması

	(I) Anti-DFS70 antikoru pozitif (n=40)	(II) ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma paterni gösteren (DFS70 benzeri) (n=71)	(III) ANA IIF negatif (n=30)	p değeri	Bonferroni Düzeltilmeli Çoklu Karşılaştırma Testine Göre Farklı Olan Gruplar
Bel ağrısı	24 (%60)	28 (%39,4)	14 (%46,7)	0,124	
Topuk ağrısı	11 (%27,5)	12 (%16,9)	4 (%13,3)	0,261	
Sabah tutukluğu	19 (%47,5)a, b	36 (%50)b	7 (%23,3)a	0,035	II-III
Oral aft	4 (%10)	12 (%16,9)	7 (%23,3)	0,322	
Genital ülser	1 (%2,5)a, b	0 (%0)b	3 (%10)a	0,017	II-III
Baş ağrısı	17 (%42,5)	15 (%21,1)	9 (%30)	0,058	
Karın ağrısı	5 (%12,5)	5 (%7)	4 (%13,3)	0,510	
Artrit	0 (%0,0)	5 (%7)	3 (%10,3)	0,156	
Artralji	30 (%75)	55 (%77,5)	20 (%66,7)	0,522	
Ağız kuruluğu	17 (%42,5)	32 (%45,1)	15 (%50)	0,821	
Göz kuruluğu	10 (%25)	20 (%28,2)	9 (%30)	0,890	
Ailede kamburluk	0 (%0,0)	1 (%1,4)	0 (%0)	1,00	
Raynaud	2 (%5)	6 (%8,5)	3 (%10)	0,772	
Eritema nodosum	2 (%5)	2 (%2,8)	0 (%0)	0,567	
Üveit	1 (%2,5)	5 (%7,5)	1 (%3,3)	0,598	
Fotosensitivite	4 (%10)	13 (%18,3)	8 (%26,7)	0,192	
Alopesi	3 (%7,5)	5 (%7)	0 (%0)	0,349	
Psöriazis	0 (%0,0)	1 (%1,4)	1 (%3,3)	0,710	
Aile öyküsü	12 (%30)	24 (%33,8)	5 (%16,7)	0,223	

a, b: Aynı harfi içeren sütun yüzdeleri birbirinden farklı değil iken, farklı harf içeren sütun yüzdeleri birbirinden farklıdır.

Anti-DFS70 antikorü pozitif olan grupla ANA IIF negatif olan grup cinsiyet açısından karşılaştırıldı. Pozitif olan grupta 40 hastadan 30'u kadın (%75), 10'u erkek (%25), negatif olan grupta 25'i kadın (%83,3), 5'i (%16,7) erkek olarak tespit edildi (p=0,585). (Tablo 4.4)

Tablo 4.4. Anti-DFS70 antikorü pozitif olan grupla ANA IIF negatif olan grup arasında cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Anti-DFS70 antikorü pozitif (n =40)	ANA IIF Negatif (n=30)	p değeri
Kadın	30 (%75)	25(%83,3)	0,585
Erkek	10(%25)	5 (%16,7)	

Anti-DFS70 antikorü pozitif olan hasta grup ile (n=40) ANA IIF negatif olan grup (n=30) yaş, cinsiyet, hemogram, lökosit, nötrofil, trombosit, sedimentasyon, ferritin, CRP değerleri ve klinik semptomlar açısından karşılaştırıldı. Anti-DFS70 pozitif olan 40 hasta yaş açısından değerlendirildiğinde ortalama yaş 47,5 (38,5-58) idi. ANA IIF negatif olan grupta 30 hasta arasında ortalama yaş 48,5 (42-59) idi (p=0,449). Hemoglobın değeri anti-DFS70 pozitif olan grupta 13,1g/dL (13,0-15,0) ANA IIF negatif olan grupta 14,0 g/dL (13-15,9) (p= 0,006). Lökosit sayısı anti-DFS70 pozitif olan grupta 6004/mm³ (5380-6990) ANA IIF negatif olan grupta ortalama lökosit sayı 6515/mm³ (5200-8680) (p 0,316). Nötrofil sayısı anti-DFS70 pozitif olan grupta 3495/mm³ (2560-4305), ANA IIF negatif olan grupta 3425/mm³ (2770-5670) idi (p=0,416). Lenfosit sayısı anti-DFS70 pozitif olan grupta 1890/mm³ (1640-2200), ANA IIF negatif olan grupta 2125/mm³ (1550-2600) idi (p=0,426). Trombosit sayısı anti-DFS70 pozitif olan grupta 242500/uL (208500-300000) ANA IIF negatif olan grupta 275500/uL (228000-306000) idi (p=0,133). ESH anti-DFS70 pozitif olangupta 14,0 mm/saat (8-25), ANA IIF negatif olan grupta 14,5 mm/saat (7-28) idi (p=0,601). CRP değeri anti-DFS70 pozitif olan grupta 2,0 mg/L (0,85-5,5), ANA IIF negatif olan grupta 1,9mg/L (1,2-5) idi (p=0,905). Ferritin anti-DFS70 pozitif olan grupta 33,0 ng/mL (20,5-63,5) ANA IIF negatif olan grupta 47,5 ng/mL (20-130) idi (p=0,165). (Tablo 4.5)

Tablo 4.5. Anti-DFS70 antikor pozitif olan hasta grup ile ANA IIF negatif olan hasta grubunun laboratuvar parametreleri açısından karşılaştırılması

	Anti-DFS70 antikor pozitif (n=40)	ANA IIF negatif (n=30)	p değeri
Yaş	47,5 (38,5-58)	48,5(42-59)	0,449
Hemoglobin	13,1(12-14)	14 (13-15,9)	0,006
Lökosit sayısı	6004 (5380-6990)	6515 (5200-8680)	0,316
Nötrofil sayısı	3495 (2560-4305)	3425 (2770-5670)	0,416
Trombosit sayısı	242500 (208.500-300.000)	275500 (228000-306000)	0,133
Sedimantasyon	14,0 (8-25)	14,5 (7-28)	0,601
CRP	2,0 (0,85-5,5)	1,9 (1,2-5)	0,905
Ferritin	33,0 (20,5-63,5)	47,5 (20-130)	0,165

Anti-DFS70 pozitif olan grupta (n=40), ANA IIF negatif (n=30) olan grup romatolojik klinik semptomlar açısından karşılaştırıldı. Bel ağrısı anti-DFS70 pozitif olan grupta 24 hastada (%60), ANA IIF negatif olan grupta 14 hastada (%46,7) vardı (p= 0,387). Sabah tutukluğu anti-DFS70 pozitif olan grupta 19 hastada (%47,5), ANA IIF negatif olan grupta 7 hastada (%23,3) p (= 0,069) vardı. Topuk ağrısı anti-DFS70 pozitif olan grupta 11 hastada (%27,5), ANA IIF negatif olan grupta 4 hastada (%13,3) (p=0,256) vardı. Oral aft anti-DFS70 pozitif olan grupta 4 hastada (%10), ANA IIF negatif olan grupta 7 hastada (%23,3) (p=0,186) vardı. Genital ülser anti-DFS70 pozitif olan grupta 1 hastada (%2,5), ANA IIF negatif olan grupta 3 hastada (%10) (p=0,307) vardı. Baş ağrısı anti-DFS70 pozitif olan grupta 17 hastada (%42,5), ANA IIF negatif olan grupta 9 hastada (%30) (p=0,412) vardı. Karın ağrısı anti-DFS70 pozitif olan grupta 5 hastada (%12,5), ANA IIF negatif olan grupta 4 (%13,3) (p=1,00) vardı. Artrit anti-DFS70 pozitif olan hasta grubunda yoktu (%0), ANA IIF negatif olan grupta 3 hastada (%10,3) (p=0,070) mevcuttu. Artralji anti-DFS70 pozitif olan grupta 30 hastada (%75), ANA IIF negatif olan grupta 20 hastada (%66,7) (p=0,620) tespit edildi. Ağız kuruluğu anti-DFS70 pozitif olan grupta 17 hastada (%42,5), ANA IIF negatif olan grupta 15 hastada (%50,0) (p=0,703) vardı. Göz kuruluğu anti-DFS70 pozitif olan

grupta 10 hastada (%25), ANA IIF negatif olan grupta 9 hastada (%30) ($p=0,846$) vardı. Raynaud fenomeni anti-DFS70 pozitif olan grupta 2 hastada (%5), ANA IIF negatif olan grupta 3 hastada (%10) ($p= 0,645$) vardı. Üveit anti-DFS70 pozitif olan grupta 1 hastada (%2,5), ANA IIF negatif olan grupta 1 hastada (%3,3) ($p=1,000$) bulundu. Eritema nodosum anti-DFS70 pozitif olan grupta 2 (%5) hastada görülürken, ANA IIF negatif olan grupta tespit edilmedi ($p= 0,503$). Fotosensitivite anti-DFS70 pozitif olan grupta 4 hastada (%10), ANA IIF negatif olan grupta 8 hastada (%26,7) ($p=0,131$) vardı. Alopesi anti-DFS70 pozitif olan grupta 3 hastada (%7,5) görülürken, ANA IIF negatif olan grupta tespit edilmedi ($p=0,255$). Psöriasis anti-DFS70 pozitif olan grupta görülmedi, kontrol grubunda 1 hastada (%3,3) vardı ($p=0,429$). Ailede romatizmal hastalık öyküsü anti-DFS70 pozitif olan grupta 12 hastada (%30) ANA IIF negatif olan grupta 5 hastada (%16,7) ($p=0,315$) vardı. (Tablo 4.6)

Tablo 4.6. Anti-DFS70 antikoru pozitif olan hasta grup ile ANA IIF negatif ($n=30$) olan grubun romatolojik semptomlar açısından karşılaştırılması

	Anti-DFS70 antikoru pozitif ($n=40$)	ANA IIF negatif ($n=30$)	p değeri
Bel ağrısı	24 (%60)	14 (%46,7)	0,387
Sabah tutukluğu	19 (%47,5)	7 (%23,3)	0,069
Topuk ağrısı	11 (%27,5)	4 (%13,3)	0,256
Oral aft	4 (%10,0)	7 (%23,3)	0,186
Genital ülser	1 (%2,5)	3 (%10,0)	0,307
Baş ağrısı	17 (%47,5)	9 (%30,0)	0,412
Karın ağrısı	5 (%12,5)	4 (%13,3)	1,000
Artralji	30 (%75,0)	20 (%66,7)	0,620
Ağız kuruluğu	17 (%42,5)	15 (%50,0)	0,703
Göz kuruluğu	10 (%25,0)	9 (%30,0)	0,846
Raynaud	2 (%5,0)	3(%10,0)	0,645
Üveit	1 (%2,5)	1 (%3,3)	1,000
Eritema nodosum	2 (%5,0)	0 (%0)	0,503

Tablo 4.6. Anti-DFS70 antikoru pozitif olan hasta grup ile ANA IIF negatif (n=30) olan grubun romatolojik semptomlar açısından karşılaştırılması'nın devamı

Fotosensitivite	4 (%10,0)	8 (%26,7)	0,131
Alopesi	3 (%7,5)	0 (%0,0)	0,255
Psöriasis	0 (%0)	1 (%3,3)	0,429
Ailede romatizmal hastalık öyküsü	12 (%30,0)	5 (%16,7)	0,315

Anti-DFS70 pozitif olan hasta grubu, ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma paterni gösteren (DFS70 benzeri) hasta grubu ve ANA IIF negatif olan hasta grubu ESH ve CRP değerleri açısından karşılaştırıldı. Anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta ESH değeri ≥ 20 mm/saat üzerinde olan 19 hasta (%47,5), DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 35 (%49,3), ANA IIF negatif olan grupta 10 hasta (%33,3) tespit edildi. ESH ≤ 20 mm/saat altında olan hasta sayısı anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 21 (%52,5), ANA IIF DFS70 benzeri boyanma gösteren grupta 36 (%50,7), ANA IIF negatif olan grupta 20 (%66,7) idi ($p=0,322$). CRP değeri >5 mg/L olan hasta sayısı anti-DFS70 antikoru pozitif olan grupta 12 (%30), DFS70 benzeri boyanma olan grupta 23 (%32,4), ANA IIF negatif olan grupta 8 (%26,7) idi. CRP <5 mg/L olan hasta sayısı 28 (%70), DFS70 benzeri boyanma olan grupta 48 (%67,6), ANA IIF negatif olan grupta 22 (%73,3) idi ($p=0,847$). (Tablo 4.7)

Tablo 4.7. Anti-DFS70 antikoru pozitif olan (n=40), ANA IIF Yoğun ince benekli boyanma paterni-DFS70 benzeri (n=71) ve ANA IIF negatif olan (n=30) hastaların inflamasyon belirleyici olarak kullanılan ESH ve CRP'nin üst sınır değerlerine göre karşılaştırılması

	(I) Anti-DFS70 pozitif(n=40)	(II) ANA IIF DFS70 benzeri boyanma (n=71)	(III) ANA IIF negatif (n=30)
ESH 20'nin üzerinde	19 (%47,5)	35 (%49,3)	10 (%33,3)
ESH 20'nin altında	21 (%52,5)	36 (%50,7)	20 (%66,7)
CRP 5'in üzerinde	12 (%30)	23 (%32,4)	8 (%26,7)
CRP 5'in altında	28 (%70)	48 (%67,6)	22 (%73,3)

Çalışmaya dahil olan hastaların tam idrar tectikleri proteinüri açısından değerlendirildiğinde anti-DFS70 pozitifliği olan grupta proteinürisi olan hastaya rastlanmadı. IIF negatif olan grupta 2 hastada (%6,6) +1 olacak şekilde proteinüri vardı ve hastaların özgeçmişinde DM tanısı mevcuttu.

Çalışmamızda anti-DFS70 antikoru pozitif olan 40 hastanın 14'ünde farklı organları ve farklı sistemleri ilgilendiren birçok hastalık saptanmıştır. Çalışma grubumuzdaki tanı alan 14 hastanın 4'üne (%28,6) fibromiyalji, 3'üne olası SLE (%21,5), 2'sine ürtiker (%14,4), 1 hastaya (%7,1) Multiple Skleroz, 1 hastaya (%7,1) Myastenia Gravis, 1 hastaya (%7,1) sarkoidoz, 1 hastaya (%7,1) Graves, 1 hastaya pulmoner tromboemboli (%7,1) tanısı konulmuştur. (Tablo 4.8)

Tablo 4.8. Anti-DFS70 pozitif olan hastaların (n=40) klinik tanıları

Tanı	Sayı	%
Fibromiyalji	4	28,6
Olası SLE	3	21,5
Ürtiker	2	14,4
Multiple skleroz	1	7,1
Myastenia gravis	1	7,1
Sarkoidoz	1	7,1
Graves	1	7,1
Pulmoner trombemboli	1	7,1
Toplam	14	100

5.TARTIŞMA

Çalışmamızda ANA IIF yoğun ince benekli boyama paterninde olan ve immunblot yöntemi ile anti-DFS70 antikoru doğrulanan hastaların klinik yakınma, romatolojik sistem sorgulaması ve laboratuvar parametrelerinden anemi, nötropeni, lenfopeni, lökopeni, trombositopeni, inflamasyon belirteçleri olan CRP, ESH, ferritin değerleri ile anti-DFS70 antikor pozitifliğinin araştırılması ve ANA DFS70 pozitifliğinin klinik sonuçlarla ve romatizmal hastalık tanısıyla ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Yoğun ince benekli (DFS70 benzeri) nükleer patern klinik laboratuvarlarda tarama amaçlı istenen ANA testinde en sık tespit edilen IIF paternlerinden biridir. DFS nükleer boyanma paternine atıfta bulunan ilk çalışma 1994 yılında yayınlanmıştır, burada Ochs ve arkadaşları interstisyel sistitli 96 hastanın serumlarının üçte birinden fazlasında bu boyanma paternini tanımlamıştır (46). Ochs, başka bir çalışmada ise DFS nükleer boyanması için hedef antijenin 70-kD'lık bir protein olduğunu göstermiştir ve sonrasında bu paterne DFS70 isimlendirmesi yapılmıştır. İlk çalışmada, atopik dermatitli hastaların %29,7'sinde ve astımlı hastaların %16'sında anti-DFS70 antikoru tespit edilmiştir (46). DFS70 proteini, lens epitelinden türetilmiş büyüme faktörü (LEDGF) proteini olarak da bilinen transkripsiyonel ko-aktivatör p75 ile aynıdır. Hücresel düzeyde DFS70/LEDGFp75, hücre stresinin neden olduğu apoptoza karşı direnç sağlayan bir pro-survival faktördür (54). DFS70/LEDGFp75 ayrıca HIV replikasyonunda bir kofaktör olarak rol oynar (45). DFS70'in immünolojik rolü tam olarak anlaşılamamıştır, araştırmacılar anti-DFS70'in sistemik inflamasyonun bir epifenomeni olduğunu öne sürmektedir (43). Yakın zamanda DFS70 paterni Uluslararası ANA Paterni Konsensüsü (ICAP) komitesi tarafından AC-2 yetkinlik düzeyinde tanıma paterni olarak sınıflandırılmıştır (43). DFS paternini üreten otoantikorların nükleer hedef antijeni, Western blot (WB) ile 70-kDa'lık bir protein tespit edildikten sonra başlangıçta DFS70 olarak adlandırılmıştır. Birincil otoantijen, protein dizisi veri tabanlarının analizi ile DNA bağlayıcı transkripsiyon koaktivatörü p75 olarak da bilinen lens epitelium türevli büyüme faktörü (LEDGF) olarak tanımlanmıştır (43). Anti-DFS70'in ortaya çıkışının altında yatan mekanizma ve klinik etkisi henüz net değildir. Bununla birlikte, IIF-ANA ve/veya anti-DFS70 üzerindeki

DFS paterninin, görünüşte sağlıklı bireylerde sistemik otoimmün romatizmal hastalığı olanlara kıyasla daha yüksek bir sıklıkta mevcut olduğu iyi bilinmektedir (59). Şimdiye kadar anti-DFS70 antikoru farklı hasta gruplarında çalışılmıştır. Anti-DFS70 antikorunun enyüksek prevalansının Atopik dermatit (AD)'li Japon hastalarda olduğu ortaya konmuştur ve oranı %30 olarak belirtilmiştir. İkinci en yüksek prevalansın ABD'li astım vakalarında %16 olduğu; bunun yanı sıra yine ABD'li interstisyel sistit hastalarında bu oranın %8,7 olduğunu ifade edilmiştir. ABD'li sağlıklı bireylerde yapılan çalışmalarda anti DFS-70 antikorunun oranı %0-2,5 arasında verilmiştir. 650 sağlıklı kan donörü ile yapılan çalışmada ise anti-DFS70 antikorunun prevalansı %5.4 olarak saptanmıştır (53). Çalışmamızda 2 yıllık sürede ANA IIF testi istenen 1500 hasta taranmış, bunlardan 111 hasta IIF yoğun ince benekli -DFS70 benzeri boyanma paterninde olup 40 hastanın serumu immunblot yöntemi ile anti-DFS70 antikoru açısından doğrulanmıştır. Geri kalan 71 hastanın antikor doğrulanmasına yönelik immunoblot çalışamadığı için çalışma grubundaki toplam sıklık verisini verememekteyiz. Tüm çalışma grubumuzda ANA testi istenmiş 141 hastanın 121'i (%85,8) kadın, 20'si (%14,2) erkek olarak tespit edildi. Yaş grubu da dikkate alındığında romatizmal semptomlarla kadın cinsiyetin daha sık sağlık kuruluşlarına başvurduğu görülmektedir. Çalışmamızda, yoğun ince benekli DFS70 benzeri boyanma özelliğinde ANA pozitifliğinin 96 kadın (%86) hastada, 15 erkek (%14) hastaya göre daha sık görüldüğü saptandı. Anti-DFS70 antikor ile doğrulanmış grupta kadınların sayısı 30 (%75,1), ANA IIF Yoğun ince benekli-DFS70 benzeri boyanma paterni gösteren grupta 66 (%93) idi ($p=0,031$). Bu sonuç, otoimmün hastalıkların kadınlarda erkeklere göre daha sık görüldüğünü bildiren daha önceki çalışmalarla uyumlu bulundu (55). Mariz ve ark. (58) sağlıklı popülasyonda ANA pozitifliğini erkeklere göre kadınlarda biraz fazla bulsalar da istatistiksel olarak anlamlı fark bulamadıklarını belirtmişlerdir. Onun dışındaki çalışmalarda ANA pozitifliği kadınlarda daha yüksek oranda bulunmuştur. Östrojen, fetal mikrokimerizm hipotezi ve X kromozomu inaktivasyonu gibi nedenlerden ötürü ANA prevalansının ve otoimmün hastalıkların kadınlarda daha fazla olduğu düşünülmektedir (60). Watanabe ve ark.nın 597 sağlıklı hastane çalışanını kapsayan çalışmasında kadın anti- DFS70 antikoru pozitif bireylerin yüzdesi (%86; $n=64$ çalışma grubunun 55'i), anti-DFS70 antikoru negatif kadın bireylerin yüzdesinden (%75; $n= 533$ çalışma grubunun 398'i)

daha yüksekti ($p<0.05$) (48). Tutkak ve ark. 2. Akdeniz Klinik İmmünoloji Toplantısındaki bildirilerinde, 4 aylık bir süre içinde 7855 adet serum örneğinin ANA IIF sonucunu değerlendirmiştir (8). 7855 örneğin %15,7'si ANA pozitif olarak değerlendirilirken, %84,3'ü ise ANA IIF negatif olarak değerlendirilmiştir. Bu grupta Anti-DFS70 otoantikoru 4. en sık rastlanılan boyanma şekli olup, %5,8 oranında saptanmıştır. Anti-DFS70 pozitif kadın oranı yine bu çalışmada da anti-DFS70 pozitif erkek oranından fazla olarak bulunmuştur ve tez çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçla uyumluluk göstermiştir (8). DFS70 paterni en sık 30-55 yaş aralığında olan hastalarda tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki anti-DFS70 antikoru pozitif olan hastaların yaş ortalaması 47,5 (38-58) idi ($p=0,449$). Otoimmün hastalıkların 20–60 yaş arasında kadınlarda daha fazla görülmesi bulgularımızla da uyumludur (61). Watanabe ve ark. anti-DFS70 antikorlarının 35 yaşın altındaki bireylerde 35 yaşın üzerindeki bireylere göre anlamlı olarak daha sık olduğunu bulmuşlardır (53). Sağlıklı popülasyonda yüksek DFS70 otoantikor pozitiflik prevalansı ve ANA ile ilişkili otoimmün romatizmal hastalıklar arasında negatif ilişki bildiren çalışmalar söz konusudur (62). Sağlıklı bireylerden elde edilen ANA-pozitif serumların %33 ile %50 arasında anti-DFS70 antikorları gösterdiği bildirilmiştir (63). Anti-DFS70'in sağlıklı bireylerle ilişkisini değerlendiren, Conrad ve ark. tarafından yapılan bir derlemede çok sayıda çalışma değerlendirilmiştir (64). Bu ilişkiyi gösteren üç temel çalışma bulunmaktadır. Watanabe ve ark. tarafından yayınlanan ilk çalışma, ANA IIF ile anti-DFS70 prevalansını değerlendirmiş ve pozitif ANA testi prevalansını %20 olarak tespit etmiştir ve ANA-pozitif kohortun %54'ü anti-DFS70 pozitif, bu da anti-DFS70'in hastalıkla ilişkisi olmayan pozitif sonuçların önemli bir kısmından sorumlu olabileceğini düşündürmektedir (48). Dellavance ve ark. bir yıl sonra, 2005 yılında, iki yıllık bir süre içinde genel bir hastane laboratuvarına gönderilen 13.641 hasta örneğinde ANA IIF'de DFS70 nükleer boyanma paterninin yaygınlığını değerlendirirken bu konuyu ele almaya çalışmışlardır. Çalışmada DFS 70 nükleer boyanma paterni olarak bildirilmiştir. Bununla birlikte, bu çalışmanın önemli bir sınırlaması, kohortta klinik korelasyonun olmamasıydı. Klinik bilgileri olan 81 hastanın alt analizi, %61'ine otoimmün olmayan durumların teşhis edildiğini ve geri kalan %39'da en yaygın otoimmün hastalığın otoimmün tiroidit olduğunu göstermiştir. Mariz ve ark. tarafından 2011 yılında yayınlanan üçüncü önemli çalışma, 118 ANA-

pozitif sağlıklı bireyde ve 138 ANA-pozitif sistemik otoimmün romatolojik hastalık tanısı (SARD) olan hastada DFS nükleer boyanma paterninin prevalansını araştırmıştır (62). Bu çalışmada sağlıklı bireylerde %33,1 oranında DFS nükleer boyanma paterni bulunurken, SARD grubunda hiç bulunmamıştır. Ortalama 3,9 yıl boyunca takip edilen 41 ANA-pozitif sağlıklı bireyin hiçbirinde SARD özellikleri gelişmemiştir (58). SARD hastalarına kıyasla sağlıklı bireylerde anti-DFS70 antikorlarının daha yüksek prevalansı, bu otoantikorların koruyucu bir işlev gördüğü hipotezini düşündürmüştür. Mahler ve ark. yaptığı çalışmanın verileri anti-DFS70 antikorlarının sağlıklı bireylerde SARD ve diğer otoimmün hastalıkları olan hastalara kıyasla önemli ölçüde daha yaygın olduğuna dair önceki gözlemleri doğrulamaktadır (9). Bu nedenle, anti-DFS70 antikorları umut verici bir tanısal biyobelirteçtir çünkü tek başına (SARD ile ilişkili başka otoantikorlar olmaksızın) ANA DFS70 pozitifliği diğer paternlere kıyasladaha düşük SARD olasılığı ile ilişkilidir. İmmunoblotting ile doğrulanmış anti-DFS70 antikoru pozitif olan 40 hastanın 4'ünde farklı otoantikor pozitiflikleri saptanmıştır. Bunlardan 2 hastada (%5) anti-DFS 70 pozitifliği ile beraber anti-Sm antikor, 2 hastada (%5) anti-SSB antikor, 1 hastada (%2,5) AMA-M2 antikor pozitifliği tespit edilmiştir. Yapılan birçok çalışmada SLE ve Sistemik Skleroz hastalarında anti-DFS70 varlığı genellikle diğer hastalığa özgü otoantikorlarla birlikte bulunmuştur (65,66).

Çalışmamızdaki hastalar anemi, lökosit, lenfosit, nötrofil, trombosit sayısı açısından değerlendirildiğinde DFS70 otoantikoru pozitif olan hastalarda bu değerler ANA IIF negatif olan grup ile benzer değerlerde bulunmuş olup hastalarda anemi, lökopeni/lökositoz, lenfopeni/lenfositoz, nötropeni, trombositopeni/trombositoz saptanmamıştır ($p=0,006$, $p=0,316$, $p=0,416$, $p=0,133$). İnflamasyon belirteçleri olan CRP, ESH ve ferritin açısından değerlendirildiğinde anti-DFS70 pozitif olan grupta CRP, ESH, ferritin değerleri ANA IIF negatif olan gruba göre daha düşük saptandı. DFS70 pozitif olan grupta 19 hastada (%29,7) ESH değeri 20'nin üzerinde bulunurken ANA IIF negatif olan grupta 10 hastada (%33,3) ESH 20'nin üzerinde idi ($p=0,601$). CRP ve ferritin değerleri karşılaştırıldığında, anti-DFS 70 pozitif grupta 12 hastada (%27,9), ANA IIF negatif olan grupta 8 hastada (%26,7) CRP 5'in üzerine idi ($p=0,905$). Ferritin değeri ANA-IIF negatif olan grupta ortalama 47,5, anti-DFS70 pozitif olan grupta 33,0 olarak tespit edildi ($p=0,165$). Bulgularımızda DFS70 ve

inflamasyon arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Takeichi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, DFS70 varlığı ve inflamasyon arasında bir ilişki olduğunu ve DFS70'in keratinositlerden Tümör Nekrozis faktör (TNF) ve IL-8 sitokinlerinin salınmasını uyardığını göstermişlerdir (67). Proinflamatuvar sitokinlerin üretimini sağlaması DFS70 antikorlarıyla birlikte bir inflamasyonun da gerektiğini düşündürmektedir.

Çalışma grubu hastalarımızda DFS 70 antikor pozitifliği olan grupta en sık yakınmanın eklem ağrısı ve sabah tutukluğu olduğu görülmüştür. Sabah tutukluğu gruplar arasında DFS 70 benzeri boyanma özelliği gösteren grupta diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,035$). Farinotti ve ark. yaptıkları çalışmada, antikorların belirgin doku hasarı veya iltihabı olmayan koşullarda da ağrı nöronlarını etkileyebildiğini göstermişlerdir (66). Ağrı olgusu duysal, bireysel ve çevresel birçok kögeden etkilenen subjektif bir duygudur. Psikososyal faktörler, ruh hali ve yaş da ağrı algısını etkileyebilmektedir. Son araştırmalar, otoantikorların da doğrudan ağrı ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (68). IgG aracılı ağrı bozukluklarının, kramplar, spazmlar, yanma, parestezi, delici ağrı ve kaşıntı gibi örtüşen ağrı semptomlarına sahip olduğu bilinmektedir (69). RA hastalarından veya artritlik farelerden sağlıklı farelere saflaştırılmış antiserüline protein antikorları (ACPA) gibi IgG otoantikorlarının intravenöz enjeksiyonu, iltihaplanmaya neden olmadan ağrıya, artan ısı ve soğuğa duyarlılığa neden olmuştur. Bu durum, otoantikorların ağrıya özgü bir rolü olduğunu düşündürmüştür. Kompleks bölgesel ağrı sendromunda (CRPS) dolaşımdaki antikor düzeylerini önemli ölçüde azaltan plazma değişimi, otoantikorların hastalık semptomlarına neden olmadaki rolünü de desteklemektedir (25). Nöroblastomun disialogangliosid'e karşı antikorlarla tedavisinde, bir yan etki olarak şiddetli ağrı gelişmiştir. Bu durum bazı IgG'lerin ağrıyı indükleyebileceğini göstermektedir (70). Bu sonuçlar, eklem ağrılarının DFS70 otoantikoru kaynaklı olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Yine de DFS70 otoantikorumun ağrı etiolojisindeki rolünün araştırılması ve anlaşılması için daha fazla çalışma yapılmasına gereksinim vardır.

Çalışma grubu hastalarımızda DFS 70 antikor pozitifliği olan grupta en sık yakınmanın eklem ağrısı ve sabah tutukluğu olduğu görülmüştür. Sabah tutukluğu gruplar arasında DFS 70 benzeri boyanma özelliği gösteren grupta diğer gruplara göre

istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,035$). Farinotti ve ark. yaptıkları çalışmada, antikorların belirgin doku hasarı veya iltihabı olmayan koşullarda da ağrı nöronlarını etkileyebildiğini göstermişlerdir (66). Ağrı olgusu duyuşsal, bireysel ve çevresel birçok kögeden etkilenen subjektif bir duygudur. Psikososyal faktörler, ruh hali ve yaş da ağrı algısını etkileyebilmektedir. Son araştırmalar, otoantikorların da doğrudan ağrı ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (68). IgG aracılı ağrı bozukluklarının, kramplar, spazmlar, yanma, parestezi, delici ağrı ve kaşıntı gibi örtüşen ağrı semptomlarına sahip olduğu bilinmektedir (69). RA hastalarından veya artritik farelerden sağlıklı farelere saflaştırılmış antiserüline protein antikorları (ACPA) gibi IgG otoantikorlarının intravenöz enjeksiyonu, iltihaplanmaya neden olmadan ağrıya, artan ısı ve soğuğa duyarlılığa neden olmuştur. Bu durum, otoantikorların ağrıya özgü bir rolü olduğunu düşündürmüştür. Kompleks bölgesel ağrı sendromunda (CRPS) dolaşımdaki antikor düzeylerini önemli ölçüde azaltan plazma değişimi, otoantikorların hastalık semptomlarına neden olmadaki rolünü de desteklemektedir (25). Nöroblastomun disialogangliosid'e karşı antikorlarla tedavisinde, bir yan etki olarak şiddetli ağrı gelişmiştir. Bu durum bazı IgG'lerin ağrıyı indükleyebileceğini göstermektedir (70). Bu sonuçlar, eklem ağrılarının DFS70 otoantikoru kaynaklı olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Yine de DFS70 otoantikorusunun ağrı etiolojisindeki rolünün araştırılması ve anlaşılması için daha fazla çalışma yapılmasına gereksinim vardır.

Çalışmamızda DFS70 pozitifliği immunblot ile doğrulanmış 40 hastadan 14'ünde farklı organları ve farklı sistemleri ilgilendiren birçok hastalık saptanmıştır. Çalışma grubumuzdaki tanı alan 14 hastanın 4'üne (%28,6) fibromiyalji, 3'üne olası SLE (%21,5), 2'sine ürtiker (%14,4), 1 hastaya (%7,1) Multiple Skleroz, 1 hastaya (%7,1) Myastenia Gravis, 1 hastaya (%7,1) sarkoidoz, 1 hastaya (%7,1) Graves, 1 hastaya pulmoner trombemboli (%7,1) tanısı konulmuştur. Jeong ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, DFS70 antikorusunun fibromiyalji (FM) hastalarında diğer SLE hastalarına oranla daha fazla bulunduğunu göstermişlerdir (71). Bilindiği üzere fibromiyalji tanısı koymak için spesifik bir biyobelirteç yoktur. Çalışmamızda, fibromiyalji tanısı almış 14 hastanın 4'ünde (%28,5) mevcuttu. Olası SLE olarak değerlendirilen hastalarda anti-DFS70 pozitifliğiyle beraber diğer otoantikor pozitiflikleri de mevcuttu. Tanı almış 14 hastanın 2'sinde (%14,3) ürtiker saptanmış

olup literatürde bununla ilgili benzer çalışmalar bulunmuştur. Aksoy ve ark.'larının yaptığı çalışmada DFS70 antikoru olan 60 hastada en çok konulan tanı 10 hastada (%16,6) ürtiker olmuştur (68). Kronik spontan ürtiker olgularının yaklaşık yarısında otoimmün bir temelin rol oynadığı düşünülmektedir. İsrail'de kronik ürtiker tanısı konan 12.778 hastaya ilişkin veriler toplanarak yapılan bir çalışmada, ANA pozitifliği ürtikerli kadın ve erkeklerde kontrol grubuna göre daha yaygın bulunmuştur, ancak hangi antikorun pozitif bulunduğu ile ilgili bilgi verilmemiştir. Erişkin kronik ürtikerli hastaların yaklaşık %40-50'sinde kendi dokularına karşı oluşmuş otoantikorların rol oynadığı bilinmektedir (72). Aksoy ve ark.'nın yaptığı çalışmada ürtiker oluşturan nedenin inflamasyondan bağımsız DFS70 otoantikoru ile ilişkili olacağı öne sürülmüştür (68). Bu da bize ürtiker ile DFS70 otoantikorları arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir.

Bizzaro ve ark.'nın yaptığı çalışmada, neoplastik hastalığı olan hasta grubunda 334 kişiden 6'sında (%1.8) anti-DFS70 antikor pozitifliği gösterilmiştir. Çalışmamıza dahil ettiğimiz anti-DFS70 pozitifliği olan hiçbir hastada malignite tanısı bulunmamıştır (73).

Zheng ve ark. tarafından Çin'de yapılan bir çalışmada anti-DFS70 pozitifliğinin yetişkin ve pediatrik popülasyonda prevalansı araştırılmış ve yetişkin popülasyonda anti-DFS70 pozitifliği ANA tarama kohortundan spontan düşük yaşayan hastalar %28,0 ile oldukça yüksek bulunmuştur (74). HEp-2 IIF pozitif popülasyonu arasında en yüksek DFS paterni oranı Çin'in Şanghay kentindeki bir kadın doğum ve jinekoloji hastanesinde gözlenmiştir. İlk kez, bu veriler anti-DFS70 antikorlarının jinekolojik hastalıklar ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, Renji Hastanesinde devam eden bir çalışmada, spontan düşük olan kadınlarda DFS 70 paterni prevalansı (%3,1 ve 94/2990) aynı yaştaki sağlıklı kadınlardan (%1,5 ve 45/2990, $p < 0.0001$) yüksek bulunmuştur, bu da aralarındaki ilişkiyi desteklemektedir (74). İzole çalışmalar ayrıca anti-DFS70'in sempatik oftalmi, Vogt-Koyanagi Harada sendromu ve kataraktli atopik dermatit gibi göz hastalıklarında ve prostat kanseri hastalarında bulunan tümörle ilişkili antikorlar olduğunu bildirmiştir (75–78). Marlet ve ark.'nin anti-DFS70 antikorlarının tromboz ve obstetrik komplikasyonlarla korele olabileceğini bildiren çalışmaları mevcuttur (75). DFS70'in insan papilloma virüsü (HPV) enfeksiyonu ve bununla ilişkili onkogenler E6/E7

tarafından regüle edildiği gösterilmiştir ve otoimmün tiroidit ile ilişkilendirilmiştir (76,78). Her iki hastalık da çeşitli obstetrik patolojileriyle ilişkilidir (78). Bununla birlikte, anti-DFS70'in daha önce genç yaş ve kadın cinsiyeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (9). Bu nedenle, spontan düşüklere ile anti-DFS70 arasındaki ilişkiyi daha iyi araştırmak için, anti-DFS70 prevalansının, hamileliğini tamamlayan hamile kadınlarla spontan düşük yapan kadınlar arasında karşılaştırılması gerekir (74). Yapılan bir başka çalışmada anti-DFS70 antikoru olan iki hastada, çoğunlukla Akdeniz bölgesinde görülen kalıtsal bir otoinflatuar hastalık olan FMF tanısı aldığı görülmüştür (79,80).



6.SONUÇ VE ÖNERİLER

ANA testi, romatolojik hastalıkları düşündüren semptomları olan hastalar değerlendirilirken tanı aşamasında kullanılan en önemli serolojik tarama testidir. Özellikle titre ve boyanma paterni tanıda yol gösterici olup, kimi zaman da romatolojik hastalık tanısından uzaklaştırmaktadır. Çalışmamızda IIF testi ile yoğun ince benekli DFS70 benzeri boyanma paterni gösteren ve immunblot ile doğrulanıp DFS70 otoantikoru saptanmış hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri ANA negatif grupla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamıştır. DFS70 pozitif saptanan 40 hastanın 14'ünde fibromiyalji ve ürtiker başta olmak üzere farklı sistemik inflamatuvar hastalık tanısı konulmuştur. 3 hastada da olası SLE tanısı konulmuş ve takibe alınmıştır. Literatürde de benzer şekilde DFS70 pozitifliğinin çok sayıda sistemik ve inflamatuvar hastalıklarla ilişkili olabileceği ancak romatolojik hastalıklarda tanısal olarak anlamlı olmadığı düşüncesinin ağırlıkta olduğu görülmektedir. Çalışma verilerimiz literatürle uyumlu sonuçlanmıştır. Bu konunun prospektif, geniş ölçekli ve daha uzun takip süreli çalışmalarla değerlendirilmesi uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Gür Vural D, Tanriverdi Çaycı Y, Biyik İ, Bilgin K, Birinci A. Evaluation of immunoblotting test results in patients with positive antinuclear antibodies. *Türk Hij Den Biyol Derg.* 2021;78(4):443-50.
2. Scofield RH. Autoantibodies as predictors of disease. *The Lancet.* 08 Mayıs 2004;363(9420):1544-6.
3. [https:// anapatterns.org/index.php](https://anapatterns.org/index.php). [18/09/2022]
4. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA. Guidelines for Clinical Use of the Antinuclear Antibody Test and Tests for Specific Autoantibodies to Nuclear Antigens. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* 01 Ocak 2000;124(1):71-81.
5. Ismail AA, Snowden N. Autoantibodies and Specific Serum Proteins in the Diagnosis of Rheumatological Disorders. *Ann Clin Biochem.* 01 Eylül 1999;36(5):565-78.
6. Tan EM, Feltkamp TE, Smolen JS, Butcher B, Dawkins R, Fritzler MJ, Range of antinuclear antibodies in “healthy” individuals. *Arthritis Rheum.* Eylül 1997;40(9):1601-11.
7. Pubmed Solomon DH, Kavanaugh AJ, Schur PH, American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines.
8. Tutkak H. Romatolojik hastalıkların tanısında otoantikörler. 2014, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara,s.38-44.
9. Mahler M, Parker T, Peebles CL, Andrade LE, Swart A, Carbone Y, Anti-DFS70/LEDGF Antibodies Are More Prevalent in Healthy Individuals Compared to Patients with Systemic Autoimmune Rheumatic Diseases. *J Rheumatol.* Kasım 2012;39(11):2104-10.
10. Fabris M, Zago S, Tosolini R, Melli P, Bizzaro N and Tonutti E . Anti-DFS-70 Antibodies: A useful biomarker in a pediatric case with suspected autoimmune disease . *Pediatrics* 2014;134:e1706; originally published online November 10, 2014; DOI: 10.1542/peds.2013-3914.

11. Şener B ve ark. Otoantikorların Laboratuvar Tanısı Rehberi, KLİMUDkaynak no:9,Ankara, 2016:s.14-37.
12. Songu M, Kat H. Enfeksiyondan korunma ve immün sistem. Journal of Medical Updates. 2012;2(1):12.
13. Us D. Temel İmmünoloji ve Seroloji, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 2016: s.5-80.
14. Levinson W, Jawetz E. Medical Microbiology and Immunology, 2004,s.404.
15. Düzgün N. Romatoloji, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik İmmünoloji ve Romatoloji Anabilim Dalı, Ankara, 2011, s. 97-98.
16. Terzioğlu E. Self Tolerans ve Otoimmünite. In: Gümüşdis G, Doganavsargil E. Eds. Klinik Romatoloji Kitabı. İstanbul: Deniz Matbaası, 1999: 55-57.
17. Kamradt T, Mitchison NA. Tolerance and autoimmunity. N Engl J Med, 2001; 344: 655- 664.
18. Naik S. The immunological basis for autoimmunity. J Indian Rheumatol Assoc. 2004; 12, 22-28.
19. Çağlayan ES Anti nükleer antikorların farklı yöntemlerle bakılması ve alt gruplarının karşılaştırılması. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Yüksek lisans tezi. 2006.
20. Levinson W, Jawetz E. Medical Microbiology and Immunology,2004;s.487-488.
21. Herrmann M , Schölmerich J, Straub R. H. Stress and Rheumatic Diseases. Rheumatic Diseases Clinic of North America 2000;26(4): 737-63.
22. Dube S. A , Fairweather D , Pearson W. S. Felitti V. J, Anda R. F, CroftJ. B. Cumulative childhood stress and autoimmune diseases in adults. Psychosom Med 2009; 71: 243-50.
23. Doğu F. Sistemik Otoimmün Hastalıklarda Otoantikor Testlerinin Tanısal Önemi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Otoimmünite ve Otoimmün Hastalıklar Sempozyumu, Özet Kitabı. 2005; s:23.

24. Aydınтуğ O.T. Sistemik Otoimmün Hastalıklarda Otoantikör Testlerinin Tanısal Önemi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Otoimmünite ve Otoimmün Hastalıklar Sempozyumu, Özet Kitabı. 2005; s. 83-84.
25. Chan E. K. L , Fritzler M. J, Wıık A , Andrade, Luis E.C , Reeves W. H , Tıncanı A, Meronı P. L. AutoAbSC.Org – Autoantibody standardization Committee in 2006. Autoimmun Reviews, 6(8): 577-80.
26. Stinton L. M , Fritzler M. JA clinical approach to autoantibody testing in systemic autoimmune rheumatic disorders. Autoimmunity Reviews, . 2007; 7: 77- 84.
27. Abbas AK, Lichtman AH, 2007, Basic Immunoloji 2ed. Elsevier Inc., New York. Temel İmmünoloji, İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları, çev. Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz. İstanbul Medikal Yayıncılık, s161-176.
28. Ruacan S. Otoimmünite. In: Ustaçelebi S. Eds. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Kitabı. Ankara: Günes Kitabevi, 1999; 245-249.
29. Lange,2020 Current tanı ve tedavi kitabı .Romatolojik İmmunolojik ve Allerjik hastalıklar bölümü s 857-858.
30. <https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults>. [08/11/2022]
31. Doğanavşargil E, Gümüşdiş G. Klinik Romatoloji El Kitabı, Ege Üniversitesi İç Hastalıkları A.B.D. ,İzmir , 2003; 239-240.
32. Cooper GS. The epidemiology of autoimmune diseases: Contributions of previous studies and opportunities for future research. In: Conrad K, Fritzler M, Sack U, Shienfeld Y Eds. From Proteomics to Molecular Epidemiology: Relevance of Autoantibodies. 6th Ed., Dresden: Dresden Symposium on Autoantibodies; 2002: 582-603.
33. Cooper GS, Parks CG, Treadwell EL. Differences by Race, Sex, and Age in the Clinical and Immunologic Features of Recently-Diagnosed Systemic Lupus Erythematosus Patients in the Southeastern United States. Lupus, 2002; 11: 161-167.

34. Vanderpump MPJ, Tunbridge WMG, French JM. The incidence of thyroid disorders in the community: A twenty- year follow-up of the Whickham survey. *Clin Endocrin*, 1995; 43: 55-68.
35. Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E. Incidanse of childhood type 1 diabetes worldwide. *Diabetes Care*, 2000; 23: 1516-1526.
36. Rosati G. The prevalance of multiple sclerosis in the world: an update. *Neurol Sci*, 2001; 22: 117-139.
37. Elkon K, Casali P. Nature and functions of autoantibodies. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008;4(9):491-498.
38. Muro Y. Antinuclear antibodies. *Autoimmunity* 2005;38(1):3-9.
39. Wiik AS. Anti-nuclear autoantibodies: clinical utility for diagnosis, prognosis, monitoring, and planning of treatment strategy in systemic immunoinflammatory diseases. *Scand J Rheumatol*. 2005; 34: 260-8.
40. Atassi MZ, Casali P. Molecular mechanisms of autoimmunity. *Autoimmunity* 2008; 41(2):123-132.
41. Fritzler MJ. Challenges to the use of autoantibodies as predictors of disease onset, diagnosis and outcomes. *Autoimmun Rev* 2008;7:616-620.
42. Aboyussef M. The value of the anti-nuclear antibodies (ANA). *Asjog*;2004; 12. 68-71.
43. Kang SY, Lee WI, Kim MH, La Jeon Y. Clinical use of anti-DFS70 autoantibodies. *Rheumatol Int*. Ağıustos 2019;39(8):1423-9.
44. Sugiura K, Muro Y, Nishizawa Y, LEDGF/DFS-70, a major autoantigen of atopic dermatitis, is a component of keratohyalin granules. *J Invest Dermatol* 2007;127:75-80.
45. Maertens G, Cherepanov P, Pluymers W, Busschots K, Clercq ED, Debyser Z, LEDGF/p75 Is Essential for Nuclear and Chromosomal Targeting of HIV-1 Integrase in Human Cells *. *Journal of Biological Chemistry*. 29 Ağıustos 2003;278(35):33528-39.

46. Ochs RL , Muro Y , SI, Y., GE, H., Chan, EK., Tan, E.M. Autoantibodies to DFS 70 kd/transcription coactivator p75 in atopic dermatitis and other conditions. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2000;105: 1211-20.
47. Czaja AJ. Autoimmune liver disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2009;25:215-222.
48. Watanabe A, Kodera M, Sugiura K, Usuda T, Tan EM, Takasaki Y, Anti-DFS70 antibodies in 597 healthy hospital workers. *Arthritis Rheum*. Mar 2004;50(3):892-900.
49. Ganapathy V, Casiano C. A. Autoimmunity to the nuclear autoantigenDFS-70 (LEDGF): what exactly are the autoantibodies trying to tell us? *Arthritis & Rheumatism*, 2004; 50(3): 684-688.
50. Muro Y, Sugiura K , Morita Y, Tomita Y. High concomitance of disease marker autoantibodies in anti-DFS-70/LEDGF autoantibody–positive patients with autoimmune rheumatic disease. *Lupus*, 2008; 17(3): 171-176.
51. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124: 71-81.
52. Copple, S. S., Giles, S. R., Jaskowski, T. D., Gardiner, A. E., Wilson, A. M., Hill, H. R. (2012). Screening for IgG antinuclear autoantibodies by HEp-2 indirect fluorescent antibody assays and the need for standardization. *American journal of clinical pathology*, 137(5), 825-830. 104. Emerk K. Romatizmal hastalıklarda laboratuvar bulguları. In: Tuna N. Eds. *Romatizmal Hastalıklar*. İstanbul:Tas Yay.1994: 5.
53. Watanabe A , Kodera M , Sugiura K , Usuda T, Tan E. M , Takasaki Y, Tomita Y, Muro Y. Anti-DFS-70 Antibodies in 597 Healthy Hospital Workers. *Journal of Autoimmunity*, 2004; 26(4): 252-257.
54. Shinohara T, Singh DP, Fatma N. Bir sağkalım faktörü olan LEDGF, stresle ilişkili genleri aktive eder. *Prog Retin Eye Res* 2002; 21:341-58.

55. Owen JA, Punt J, Stranford SA. Kuby Immunology. 7th ed. New York:W.H. Freeman and Co, 2013:517-52.
56. Hasson, S. S., Al-Balushi, M. S., Al-Jabri, A. A. (2012). The role of the autoimmunity laboratory in autoimmune diseases. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(2), 159-162.
57. Emerk K. Romatizmal hastalıklarda laboratuvar bulguları. In: Tuna N. Eds. *Romatizmal Hastalıklar*. İstanbul: Tas Yay.1994: 51-87.
58. Mariz HA, Sato EI, Barbosa SH, Rodrigues SH, Dellavance A, Andrade LEC. 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 & Rheumatism*. 2011;63(1):191-200.
59. Peker BO, Şener AG, Tarhan EF, Kaya S. Investigation of anti-DFS70 antibody in patients with systemic autoimmune rheumatic diseases. *Clin Rheumatol*. Aralık 2019;38(12):3627-33.
60. Lleo A, Battezzati PM, Selmi C, Gershwin ME, Podda M. Is autoimmunity a matter of sex? *Autoimmun Rev*. 2008;7(8):626-30.
61. Amador-Patarroyo MJ, Rodriguez-Rodriguez A, Montoya-Ortiz G. How does age at onset influence the outcome of autoimmune diseases? *Autoimmune Dis*. 2012; 2012: 251730.
62. Aragón C-C, González JD, Posso-Osorio I, AntiDFS70 antibodies: A new useful antibody in the exclusion of auto-immune diseases. *Rev Colomb Reumatol*. 2018;25(2):104-11.
63. Ogawa Y, Sugiura K, Watanabe A, Kunimatsu M, Mishima M, Tomita Y, Autoantigenicity of DFS70 is restricted to the conformational epitope of C-terminal alpha-helical domain. *Journal of Autoimmunity*. 01 Kasım 2004;23(3):221- 31.
64. Conrad K, Röber N, Achtleitner M, Aringer M, Rudolph S, Unger L, THU0674 ANTI-DFS70 antibody – a biomarker that aid in the exclusion of ana associated

- rheumatic diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 01 Haziran 2017;76(Suppl 2):461-461.
65. Maertens G, Cherepanov P, Pluymers W, Busschots K, De Clercq E, Debyser Z, LEDGF/p75, insan hücrelerinde HIV-1 integrazın nükleer ve kromozomal hedeflenmesi için gereklidir. *J Biol Chem* 2003;278:33528-39.
 66. Bersellini Farinotti A, Wigerblad G, Nascimento D, Cartilage- binding antibodies induce pain through immune complex-mediated activation of neurons. *J Exp Med*. 2019;216(8):1904-24.
 67. Takeichi T, Sugiura K, Muro Y, Ogawa Y, Akiyama M. LEDGF/DFS70 activates the MK2/IL6/STAT3 pathway in HaCaT. *J Dermatol Sci*. 2011;63(3):203-5.
 68. Aksoy R, Us E. Bir Üniversite Hastanesinde Anti-DFS70 Antikor Pozitif Olguların İki Yıllık Retrospektif Değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. 2021;51(4):393-9.
 69. Xu M, Bennett DLH, Querol LA, et al. Pain and the immune system: emerging concepts of IgG-mediated autoimmune pain and immunotherapies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2020;91(2):177-88.
 70. Dawes JM, Vincent A. Autoantibodies and pain. *Curr Opin Support Palliat Care*. 2016;10(2):137-42.
 71. Jeong J, Kim DH, Park G, Park S, Kim HS. Clinical significance of anti-dense fine speckled 70 antibody in patients with fibromyalgia. *Korean J Intern Med*. 2019;34(2):426-33.
 72. Magen E, Waitman DA, Dickstein Y, Davidovich V, Kahan NR. Clinical-laboratory characteristics of ANApositive chronic idiopathic urticaria. *Allergy Asthma Proc*. 2015;36(2):138-44.
 73. Bizzaro N, Tonutti E, Visentini D, Alessio MG, Platzgummer S, Morozzi G, vd. Antibodies to the lens and cornea in anti-DFS70-positive subjects. *AnnN Y Acad Sci*. Haziran 2007;1107:174-83.

74. Zheng B, Wang Z, Mora RA, Liu A, Li C, Liu D, Anti-DFS70 Antibodies Among Patient and Healthy Population Cohorts in China: Results From a Multicenter Training Program Showing Spontaneous Abortion and Pediatric Systemic Autoimmune Rheumatic Diseases Are Common in Anti-DFS70 Positive Patients. *Front Immunol.* 02 Ekim 2020;11:562138.
75. Marlet J, Ankri A, Charuel J-L, Ghillani-Dalbin P, Perret A, Martin- Toutain I, Thrombophilia associated with anti-DFS70 autoantibodies. *PLoS One*(2015) 10(9):e0138671. doi: 10.1371/journal.pone.0138671.
76. Leitz J, Reuschenbach M, Lohrey C, Honegger A, Accardi R, Tommasino M, Oncogenic human papillomaviruses activate the tumor- associated lens epithelial-derived growth factor (LEDGF) gene. *PLoS Pathog* (2014) 10: e1003957. doi: 10.1371/journal.ppat.1003957.
77. Mahler M, Meroni PL, Andrade LE, Khamashta M, Bizzaro N, CasianoCA, Towards a better understanding of the clinical association of anti-DFS70 autoantibodies. *Autoimmunity Reviews.* 01 Şubat 2016;15(2):198-201.
78. Jahdi F, Khademi K, Khoei EM, Haghani H, Yarandi F. Reproductive factors associated to human papillomavirus infection in Iranian woman. *J Family Reprod Health* (2013) 7:145–9.
79. Berkun Y, Eisenstein EM. Diagnostic criteria of familial Mediterranean fever. *Autoimmunity Reviews.* 01 April 2014;13(4):388-90.
80. Eisenstein E, Berkun Y, Ben-Chetrit E. Familial Mediterranean fever: a critical digest of the 2012-2013 literature. *Clinical and experimental rheumatology.* 25 September 2013;31:103-7.

