



T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

İNDİREKT İMMÜNOFLORESAN YÖNTEMİ İLE
DEĞERLENDİRİLEN OTOANTİKOR POZİTİFLİKLERİNE
SARS-CoV-2 PANDEMİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

DR. ZEYNEP DİLARA KARAMURAT

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DÜZCE-2023



T.C.

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**İNDİREKT İMMÜNOFLORESAN YÖNTEMİ İLE
DEĞERLENDİRİLEN OTOANTİKOR POZİTİFLİKLERİNE
SARS-CoV-2 PANDEMİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. ZEYNEP DİLARA KARAMURAT

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DOÇ. DR. EMEL ÇALIŞKAN

Tez Danışmanı

DÜZCE-2023

ÖZET

Amaç: Çalışmamızın amacı, SARS-CoV-2 enfeksiyonu ile sistemik ve organ spesifik otoimmün hastalıklar arasındaki olası ilişkinin belirlenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza, Mart 2018-Mart 2022 tarihleri arasında Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na çeşitli kliniklerdeki hastalardan otoimmün hastalık şüphesi ile gönderilen serum örnekleri dahil edildi. İndirekt immunofloresan antikor parametreleri ve aynı hastalardan bu süreçte laboratuvarımızda COVID-19 PCR testi çalışılan örneklerin sonuçları, hastanemizin otomasyon sisteminden elde edilerek retrospektif olarak değerlendirildi.

Bulgular ve sonuç: Çalışmaya, COVID-19 pandemi öncesi iki yıl ve pandemi dönemindeki iki yılda otoimmün hastalık şüphesiyle IIFA testi için mikrobiyoloji laboratuvarına serum örnekleri gönderilen 8325 hastadan herhangi bir otoantikoru pozitif saptanan 2448 hasta dahil edildi. ANA pozitifliği, toplam 2256 hastada saptanmış olup bunlardan 2038'inin tekli (1363'ü benekli patern), 218'inin çoklu patern olduğu görüldü. ANA testi çalışılmış ve COVID-19 PZR pozitifliği saptanmış olan hastaların 41'inde ANA pozitifliği tespit edilmiş olup patern olarak en sık benekli (%74) patern saptandı. Otoantikor pozitifliğinin zamana göre değişimini incelendiğinde ANA, anti-dsDNA, anti-ICA, anti-Gliadin otoantikorlarının pozitiflik oranlarında pandemi dönemini içeren iki yıllık sürede istatistiksel olarak anlamlı artışın olduğu tespit edildi. AMA, ASMA, anti-Endomisyum, ANCA otoantikorlarının pozitiflik oranlarında ise COVID-19 pandemi öncesi ve pandemisini içeren tüm dönemlerde fark olmadığı görüldü. Otoantikor pozitifliğine sahip hastaların, hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çalışılmış COVID-19 PZR sonuçları incelendiğinde 323 hastanın COVID-19 PCR testinin pozitif, 306 hastanın ise negatif olduğu görüldü.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: İndirekt immunofloresan antikor yöntemi, otoantikor, otoimmün hastalıklar, SARS-CoV-2, COVID-19

ABSTRACT

Background: The aim of our study is to determine the possible relationship between SARS-CoV-2 infection and systemic and organ-specific autoimmune diseases.

Material and Method: Serum samples sent to Düzce University Faculty of Medicine, Medical Microbiology Laboratory from patients in various clinics with suspicion of autoimmune disease between March 2018 and March 2022 were included in our study. Indirect immunofluorescence antibody parameters and the results of samples from the same patients, for which COVID-19 PCR tests were performed in our laboratory during this period, were obtained from the automation system of our hospital and evaluated retrospectively.

Results: Of the 8325 patients whose serum samples were sent to the microbiology laboratory for IIFA testing with suspicion of autoimmune disease in the two years before the COVID-19 pandemic and in the two years during the pandemic period, 2448 patients who were detected positive for any autoantibody were included in the study. ANA positivity was detected in a total of 2256 patients, 2038 of whom had a single pattern (1363 had a spotted pattern) and 218 had a multiple pattern. ANA positivity was detected in 41 of the patients whose ANA test was studied and COVID-19 PCR positivity was detected, and the most common pattern was spotted (74%). When the change in autoantibody positivity over time was examined, it was determined that there was a statistically significant increase in the positivity rates of ANA, anti-dsDNA, anti-ICA, and anti-Gliadin autoantibodies in the two-year period, including the pandemic period. It was observed that there was no difference in the positivity rates of AMA, ASMA, anti-Endomysium, ANCA autoantibodies in all periods before and during the COVID-19 pandemic. When the COVID-19 PCR results of patients with autoantibody positivity, studied in the Microbiology Laboratory of our hospital, were examined, it was seen that the COVID-19 PCR test of 323 patients was positive and 306 patients were negative.

KEYWORDS: Indirect immunofluorescent antibody method, autoantibody, autoimmune diseases, SARS-CoV-2, COVID-19

İÇİNDEKİLER

Önsöz.....	i
Türkçe Özet.....	ii
İngilizce Özet (Abstract).....	iii
İçindekiler.....	iv
Tablolar Listesi.....	vii
Şekiller Listesi.....	viii
Kısaltmalar.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İmmün Sistem.....	3
2.2. İmmünolojik Tolerans.....	4
2.3. Otoimmünite.....	6
2.3.1.Otoimmünitenin gelişmesinde etkili olduğu düşünülen mekanizmalar.....	6
2.3.2. Otoimmünite gelişiminde rol oynayan faktörler.....	7
2.4. Otoimmün Hastalıklar.....	10
2.4.1.Organa özgül otoimmün hastalıklar.....	12
2.4.1.1.Otoimmünkaraciğer hastalıkları.....	12
2.4.1.2.Çölyak hastalığı (Glüten sensitifenteropati).....	13
2.4.1.3. Sistemik vaskülitler.....	13
2.4.1.4.Tip 1 Diyabet.....	14
2.4.2.Organaözgül olmayan (sistemik)otoimmün hastalıklar.....	14
2.4.2.1.Sistemik lupus eritematozus (SLE).....	14

2.4.2.2. Romatoid artrit (RA).....	15
2.4.2.3. Sistemik skleroz (Skleroderma).....	16
2.4.2.4. Polimiyozi/dermatomiyozi (Enflamatuvar kas hastalıkları).....	17
2.4.2.5. Sjögren sendromu.....	18
2.4.2.6. Miks Bağ Dokusu Hastalığı (MBDH).....	19
2.5. Otoantikorlar.....	19
2.6. Otoimmün Hastalıkların Tedavisi.....	21
2.7. Otoimmün Hastalıkların Tanısı.....	21
2.8. Otoantikor tanı yöntemleri.....	22
2.8.1. İndirekt immünofloresan antikor testi (IIFA).....	22
2.8.1.1. Antinükleer antikor (ANA).....	24
2.8.1.2. Sitoplazmik paternler.....	28
2.8.1.3. Mitotik paternler.....	28
2.8.1.4. Anti-çift iplikli DNA (Anti ds-DNA) antikor.....	31
2.8.1.5. Anti-mitokondriyal antikor (AMA).....	32
2.8.1.6. Anti-düz kas antikoru (ASMA).....	33
2.8.1.7. Anti-nötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA).....	34
2.8.1.8. Endomisyum ve gliadin antikorları.....	36
2.8.1.9. Adacık hücre (ısletcell) antikoru (Anti-ICA).....	37
2.8.2. Enzimebağlı katı faz yöntemleri (ELISA).....	37
2.8.3. İmmünoblot yöntemi.....	38
2.8.4. Mikroarray.....	39
2.9. Koronavirüsler.....	40

2.9.1.Koronavirus tarihçesi.....	40
2.9.2.Koronavirus taksonomisi, genomu ve virolojik özellikleri.....	30
2.9.3.SARS-CoV-2'nin (COVID-19) klinik patolojisi.....	42
2.9.4.COVID-19 tanı yöntemleri.....	43
2.9.5.COVID-19 Tedavisi ve korunma.....	43
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	44
3.1.IIFA Yönteminin Uygulanması ve Prensibi.....	44
3.1.1.IIFA çalışma prosedürü.....	44
3.2.COVID-19 PZR testi uygulanması ve çalışma prensibi.....	48
3.2.1.COVID-19 gerçek zamanlı kantitatif PZR çalışma prosedürü.....	49
3.3. İstatistiksel Analiz.....	52
4.BULGULAR.....	53
5.TARTIŞMA.....	62
6.SONUÇLAR.....	75
7.KAYNAKLAR.....	78
BOŞ SAYFA	
ARKA DIŞ KAPAK	

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Reaktanların karışımı.

Tablo 2. Gerçek zamanlı kantitatif pcr aşamasında döngü protokolü.

Tablo 3. Reaksiyon sonuçlarının değerlendirilmesi.

Tablo 4. Pozitiflik saptanan testlerin cinsiyete göre değerlendirilmesi.

Tablo 5. Pozitiflik saptanan örneklerin kliniklere göre dağılımı.

Tablo 6. ANA pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

Tablo 7. AMA pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

Tablo 8. ASMA pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

Tablo 9. Anti-dsDNA pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

Tablo 10. Adacık hücre antikoru pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

Tablo 11. Anti-Endomisyum pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

Tablo 12. Anti-Gliadin pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

Tablo 13. ANCA pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.** İmmünolojik toleransın bazı mekanizmaları.
- Şekil 2.** Otoimmünitenin indüklenmesinde bazı mekanizmalar.
- Şekil 3.** İşaretli katı faz yöntemleri mekanizması.
- Şekil 4.** İndirekt floresan antikor yöntemlerinin mekanizması ve görünümü.
- Şekil 5.** HEp-2 hücre paternleri adlandırma ve sınıflandırma şeması.
- Şekil 6.** Homojen boyanma paterni.
- Şekil 7.** Nükleer membran paterni.
- Şekil 8.** İnce benekli boyanma paterni.
- Şekil 9.** Kaba benekli boyanma paterni.
- Şekil 10.** Yoğun ince benekli boyanma paterni.
- Şekil 11.** Sentomer paterni.
- Şekil 12.** Çok sayıda nükleer noktalı patern.
- Şekil 13.** Az sayıda nükleer noktalı patern.
- Şekil 14.** Nükleolar patern.
- Şekil 15.** Sitoplazmik anti-F-aktin benzeri boyanma.
- Şekil 16.** Sitoplazmik anti-tropomiyozin benzeri boyanma.
- Şekil 17.** Sitoplazmik anti-mitokondriyal antikor benzeri boyanma.
- Şekil 18.** Anti-dsDNA antikorlarının değerlendirilmesi.
- Şekil 19.** AMA pozitifliğinde böbrek kesitlerindeki boyanma.
- Şekil 20.** Mide kesitinin histolojik görünümü.
- Şekil 21.** ASMA pozitifliğinde mide dokusunda görülen boyanma.
- Şekil 22.** c-ANCA formalin dirençli.
- Şekil 23.** c-ANCA formalin duyarlı.
- Şekil 24.** p-ANCA formalin dirençli.
- Şekil 25.** p-ANCA formalin duyarlı.
- Şekil 26.** Anti-endomisyum antikorları.

Şekil 27. Adacık hücre antikoru.

Şekil 28. ELISA yöntemi ile antikor tespiti.

Şekil 29. Sırası ile; ENA paneli, ANA paneli, miyozit paneli ve otoimmün karaciğer paneline ait örnekler.

Şekil 30. Koronavirüs taksonomisi.

Şekil 31. SARS-CoV-2'nin moleküler yapısı.

Şekil 32. Euroimmun marka IIF için kit içeriği.

Şekil 33. Hasta örnekleri ve dilüasyon aşaması.

Şekil 34. Trayin üzerindeki kuyucuklara dilüe örneğin pipetlenmesi.

Şekil 35. Konjugatın trayin üzerine damlatılmış hali.

Şekil 36. Slaytların PBS-Tween içeren küvette beklemesi.

Şekil 37. Kapama işlemi; BIOCHIP slaytının lamele yerleşmiş hali.

Şekil 38. Bilgisayar ve monitöre bağlı EUROStar floresan mikroskobu.

Şekil 39. EUROIMMUN, indirekt immunfloresan testi için kullanım talimatı.

Şekil 40. DS CORONEX COVID-19 kiti.

Şekil 41. AnatoliaGeneworksMontania 4896 cihazı ve reaksiyon sonuçlarının yorumlanması.

Şekil 42. ANA pozitifliklerinin tekli ve çoklu patern dağılımı.

Şekil 43. Tekli paternlerin dağılımı.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAV: Anti-nötrofil sitoplazmik antikor ile ilişkili vaskülit

AC: anti-cell

ACA: Anti-kardiyolipin antikor

ACE-2: Anjiyotensin dönüştürücü enzim-2

ANA: Anti-nükleer antikorlar

Anti-CCP: Anti-siklik sitrülünlenmişpeptid antikorlar

Anti-LC-1: Anti-karaciğer sitozolik antijen-1

Anti-LKM-1: Anti-karaciğer böbrek mikrozomal antikorları-1

ANCA: Anti-nötrofil sitoplazmik antikor

ASMA: Anti-düz kas antikor

ASH: Antijen sunan hücreler

CoV: Koronavirüs

COVID-19: Coronavirus disease-2019

dsDNA: Çift iplikli DNA

DM: Dermatomyozit

DSÖ: Dünya sağlık örgütü

DTH: Gecikmiş tip aşırı duyarlılık

ENA: Ekstrakte edilmiş nükleer antijen

FTR: Fizik Tedavi Rehabilitasyon

HCoV: İnsan koronavirüsleri

HLA: Human Leukocyte Antigen

ICA: Adacık hücre antikor

IIF: İndirekt immün floresan

IIFA: İndirekt immün floresan antikor

MBDH: Miks Bağ Dokusu Hastalığı

MHC: MajorHistocompatibilityComplexMolecules

MPO: Miyeloperoksidaz

NK: Doğal öldürücü hücreler

OİH: Otoimmün hastalık

PAH: Pulmonerarteryal hipertansiyon

PBK: Primer biliyer kolanjit

PBS: Fosfat tampon çözeltisi

PM: Polimiyozit

PR3: Serin proteaz proteinaz-3

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

qRT-PCR: Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

RF: Romatoid faktör

RT-PCR: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

SARS-CoV-2: Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü-2

SS: Sjögren sendromu

SSc: Sistemik skleroz

SLICC: Sistemik Lupus Uluslararası Klinikler İş Birliği

SLE: Sistemik lupus eritematozus

Tc: Sitotoksik T hücresi

Th: T helper hücresi

Treg: Süpressör T hücre

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vücudumuzu çevremizde bulunan farklı mikroorganizmalara karşı dirençli kılan sisteme immün sistem denir ve bu sistemin asıl amacı organizmanın işlevlerini yerine getirebilmesini sağlamak, organizmayı zararlı dış etkenlerden korumaktır. İmmün sistemin önemli bir özelliği de bireyin kendi antijenlerine karşı cevap oluşturmamasıdır. Bu olay immünolojik tolerans (self tolerans) olarak adlandırılır. İmmünolojik toleransın çeşitli sebepler bozulması sonucu immün mekanizmalar canlının kendi organ ve dokularına karşı reaksiyon geliştirebilir ve böylece kişide doku zedelenmesine sebebiyet verebilir. Bu durum neticesinde ortaya çıkan olaya otoimmünite ve meydana gelen hastalıklara da otoimmün hastalık (OIH) denir. Tolerans kaybına neden olan mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamakla birlikte genetik özellikler, çevresel faktörler ve enfeksiyonların neden olabileceği düşünülmektedir.

Birçok otoimmün hastalıkta, hastaların serumlarında otoantikor adı verilen doku veya hücre elemanlarına karşı gelişmiş antikorlar saptanmaktadır. Hastalıklara karşı immün yanıtın türü ve antikorların tipi; konağın immün durumuna, immün yanıtın tipine, kişiden kişiye, demografik özelliklere, popülasyondan popülasyona değişmektedir. Her toplumun antikor çeşitlilik yanıtının farklı olabileceği düşünülmelidir. Böylece otoantikor profilleri de her toplumda farklı olabilmektedir. Özellikle de otoimmün hastalıkların tanısını koymada kullanılan otoantikorların tespitinde indirekt immünofloresan (IIF) testi referans yöntemidir.

Aralık 2019'da Çin'in Wuhan kentinde bir grup hastada yeni bir koronavirüs tespit edilmiş ve virüs Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs 2 (SARS-CoV-2) olarak adlandırılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) bu yeni virüsle oluşan hastalığı 11 Şubat 2020'de Coronavirus disease-19 (COVID-19) olarak adlandırmıştır. DSÖ tüm ülkelerde hızla yayılan hastalığı 11 Mart 2020 tarihinde pandemik olarak ilan etmiştir.

SARS CoV-2'nin neden olduğu COVID-19, asemptomatik hastalıktan kritik hastalığa kadar geniş bir spektrum göstermektedir. Başlangıçta bir solunum yolu hastalığı olarak kabul edilen bu hastalık, çoklu organ işlev bozukluğuna yol açan çok çeşitli komplikasyonlarla (gastrointestinal, nörolojik, tromboembolik ve

kardiyovasküler) ortaya çıkabilir. Yapılan çalışmalarda COVID-19'un patofizyolojisinde, genetik olarak duyarlı hastalarda otoimmün hastalıkların ortaya çıkmasına veya alevlenmesine yol açabileceği gösterilmiştir. Bu nedenle, otoimmün hastalık başlangıcı ile SARS-CoV-2 enfeksiyonu arasındaki olası ilişkiyi net bir şekilde tanımlamak için daha fazla araştırma gereklidir. Bu çalışmada, Mart 2018-Mart 2022 tarihleri arasında Düzce Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na çeşitli kliniklerden OİH şüphesi ile gönderilen örneklerin IIF antikor parametreleri ve aynı hastalardan bu süreçte laboratuvarımızda COVID-19 polimeraz zincir reaksiyon (PZR) testi çalışılan örneklerin sonuçları retrospektif olarak değerlendirildi. Bu bağlamda SARS-CoV-2 enfeksiyonu ile sistemik ve organ spesifik otoimmün hastalıklar arasındaki ilişkiyi araştırmak amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İmmün Sistem

Bir canlıdaki hastalıklara karşı koruma yapan, patojenleri ve tümör hücrelerini tanıyıp onları yok eden işleyişlerin toplamına **immün sistem** denir. İmmün sistem; vücuda temas eden ve giren her yabancı maddeyi tarar, bu maddeleri canlının sağlıklı vücut hücrelerinden ve dokularından ayırır. Buna ilaveten vücutta belli zaman aralıklarıyla oluşan anormal hücreleri ve molekülleri saptar, bunlara yanıt vererek kanser ve benzeri hastalıkların oluşmasını da engeller(1-3).

İmmün sistemin fonksiyonel bir şekilde işleyişinde esas olan immün hücrelerin; yabancı bir ajanı tanıması, amplifikasyonu ve yabancı ajanlara yanıt vermesini düzenleme yeteneğidir. Bu sistem yabancı bir patojeni tanımalı ve bir diğerinden ayırmalı, ayrıca vücudun normal hücrelerini ve proteinlerini de bu yabancı patojenlerden ayırt etmelidir (2).

İnsan vücudu bakterilere, virüslara ve diğer yabancı maddelere karşı farklı mekanizmalar ile yanıt vererek koruma sağlamaktadır. Bu koruma; fiziksel bariyerler, kan ve dokulardaki çeşitli savunma hücreleri, kan kaynaklı çeşitli moleküller ile gerçekleşir. Yabancı madde ile karşılaşma sonrasında immün sistemin hücre ve moleküllerinin karşılıklı olarak düzenli etkileşimleriyle ortaya çıkan savunmaya da **immün yanıt** adı verilir.

İmmün yanıtı sağlayan bu mekanizmalar; birbirinden bağımsız olmayan, birbirleriyle bağlantılı başlıca iki savunma sistemine ayrılabilir;

1) Non-spesifik (doğal) veya kalıtsal immün sistem

2) Spesifik ya da edinsel immün sistem

Doğal immünite; spesifik olmayan ilk savunma sistemini temsil eder ve özgül olmayan yanıt özelliği taşır. Deri ve müköz membranların fiziksel bariyerleri, kan ve dokularda bulunan fagositik hücreler [makrofajlar, nötrofiller, eozinofiller, doğal öldürücü hücreler (natural killer, NK)], akut faz proteinleri, sitokinler ve komplement sistemi doğal immün sistemin başlıca elemanlarıdır. Bunlar yabancı ve

zararlı olan ajanları ayırım yapmadan, engelleyerek ya da elimine ederek organizmayı korurlar.

Doğal immün yanıt ilk 0-4 saat içinde gelişir ve uzun süreli bir bağışıklık sağlamaz. Hafızası yoktur ve yabancı ajan ile tekrar karşılaşıldığında aynı şiddette karşılık verir. Yabancı antijenleri edinsel immün sistem elemanlarına tanıtmaya ve uyarı görevlerini gerçekleştirir.

Edinsel immünite; yabancı bir ajan ile karşılaşmada spesifik yanıt veren, aynı ajanla tekrar karşılaşmada hafızası nedeniyle tanıyıp daha kuvvetli yanıt verebilen bir sistemdir. Edinsel immünitenin başlıca elemanları T ve B lenfositler, antikorlar ve sitokinlerdir. Edinsel immünite, antijen spesifik olması ve hafıza oluşturabilmesi ile iki belirgin özelliğe sahiptir. Ayrıca uzun süreli bağışıklık da sağlamaktadır. Edinsel immünite, aktif veya pasif olarak gelişir. Aktif immünite, organizmanın yabancı antijene karşı hücresel ve humoral sistem ile verdiği yanıtıdır (örneğin; enfeksiyon geçirilmesi ile oluşan immünite gibi). Pasif immünite, sespesifik olarak immünize olmuş bireyden serum veya antikorların, immün olmayan bireye nakli ile oluşturulan immünitedir (4,5).

2.2.İmmünolojik Tolerans

Normal bir immün sistemin belirgin özelliklerinden biri, çok sayıda değişik mikroorganizmaya karşı immün yanıt oluştururken konağın öz antijenlerine karşı yanıt oluşturmamasıdır. Esas görevi, organizmaya yabancı mikroorganizmaları, allerjenleri ve diğer yabancı molekülleri tanıyarak bunlara karşı savunma mekanizmaları geliştirip bu yabancı maddeleri ortadan kaldırmaya çalışan immün sistem diğer yandan immün homeostazı korumaya yönelik çalışmaktadır. Bu şekilde organizmada optimum koşullarda immün cevap gelişir. Doğuştan veya kazanılmış immün yanıtın azalarak minimum seviyeye gelmesiyle immün yetmezlik veya tümöral oluşum gibi hastalıklar meydana gelebilirken, immün yanıtın artarak maksimum seviyeye gelmesiyle sitokin fırtınası, süpertantijen hastalığı ve otoimmünite gibi patolojiler oluşabilmektedir (6).

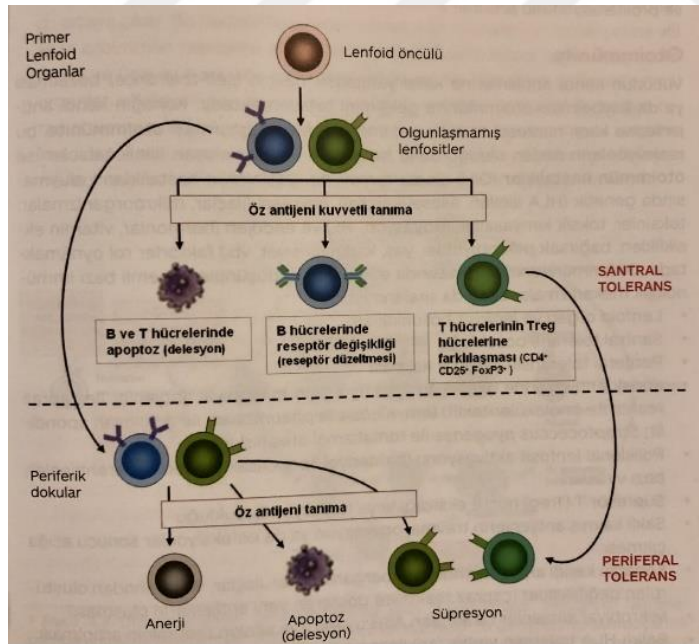
İmmün sistemin, belirli bir antijene karşı yanıt vermemesi durumuna **immünolojik tolerans** denilmektedir. Yanıtsız kalma durumu organizmanın

kendisine ait olan immünojenik determinantlara karşı ise **doğal immünolojik tolerans** (self tolerans), yabancı antijenlere karşı ise **kazanılmış immünolojik tolerans** adı verilir (7).

Doğal immünolojik tolerans, merkezi ve periferik olmak üzere iki şekilde gerçekleşir (Şekil 1).

1) Merkezi tolerans; kemik iliği ve timüs gibi sadece primer lenfoid organlarda bulunan öz antijenlere karşı gelişen tolerans sistemidir. Timusta olgunlaşma döneminde olan T lenfositlerin, öz antijenlerle etkileşime girmesi sonucu olgunlaşmamış lenfositlerin apoptozise uğraması ile santral T lenfosit toleransı gerçekleşir. Olgunlaşmamış B lenfositlerin ise kemik iliğinde apoptozisi ve reseptör düzenleme mekanizmalarıyla merkezi B hücre toleransı gerçekleşir.

2) Periferik tolerans; timustaki apoptozisten kaçmış olan olgun T lenfositlerin ve periferik lenfoid dokularda öz antijenlere karşı aktif olan olgun B lenfositlerin belli mekanizmalarla kontrol altında tutulmasıdır (4).



Şekil 1. İmmünolojik toleransın bazı mekanizmaları (8).

Anerji; T lenfositlerin antijenle karşılaştıklarında tam aktive olabilmesi için gerekli olan eş uyarıların yetersiz olduğu durumda, T lenfositlerin uzun süreli

olarak işlevsel etkisizliğidir. Anergjik olan hücreler yaşamlarını sürdürürler ancak antijene cevap verememektedirler (4).

2.3. Otoimmünite

Normal şartlar altında immün sistem organizmanın kendine ait antijenik yapılarına karşı immün cevap oluşturmaz ayrıca self ve non-self moleküllerini birbirlerinden rahatlıkla ayırt edebilmektedir. Organizmanın self tolerans mekanizmalarının çeşitli patolojik olaylar sonucunda bozulmasıyla kendi doku antijenlerine karşı immün yanıt geliştirmesine **otoimmünite** denilmektedir (6,9,10).

2.3.1. Otoimmünitenin gelişmesinde etkili olduğu düşünülen mekanizmalar

- Lenfoid organ ve lenfosit bozuklukları,
- Santral tolerans bozukluğu,
- Periferel toleransın yetersiz kalması,
- Moleküler taklit [Konak antijenlerine benzeyen veya aynı olan mikrobiyal antijenler ile çapraz reaksiyon (*Streptococcus pyogenes* ile romatizmal ateş ilişkisi)],
- Bakteriyel lipopolisakkaritler, süperantijenler ve bazı viruslar ile poliklonal lenfosit aktivasyonu,
- Süpressör T hücre (Treg) eksikliği veya fonksiyonunun bozuk olması,
- Saklı kalmış antijenlerin travma, cerrahi ya da enfeksiyonlara bağlı olarak açığa çıkması,
- Mikroorganizmalar, ilaçlar gibi nedenlerle konağın kendi antijenlerinde meydana gelen değişiklikler sonucu çapraz reaktivasyon gösteren yeni antijenlerin ortaya çıkması,
- Mikrobiyal antijenlerle antijen sunan hücrelerin aşırı uyarımı ve sitokin salınımının arttırılması,
- Belirli HLA (Human Leukocyte Antigen) tiplerinin varlığı [Sistemik lupus eritematozus (SLE) için HLA-DR3, Ankilozan spondilit için HLA-B27, Romatoid artrit (RA) için HLA-DR4 varlığı bu hastalıklar yönelik risk oluşturmaktadır.] (8).

2.3.2. Otoimmünite gelişiminde rol oynayan faktörler

Canlının normal fizyolojisi için self tolerans gereklidir ancak multifaktöriyel nedenlerle bu self tolerans mekanizması bozulabilmektedir. Otoimmünitenin gelişiminde birçok faktör rol oynasa da bunlardan en önemlileri; genetik faktörler, hormonal faktörler, çevresel faktörler ve enfeksiyon ajanlarıdır (11). Buna otoimmünite mozaïği denilmektedir (12).

- **Genetik ve Epigenetik Faktörler**

Epidemiyolojik birçok çalışma ile otoimmün hastalıkların oluşum basamaklarında genetik faktörlerin çok büyük rol oynadığı gösterilmiştir. Ailesel bir otoimmün hastalığın tek yumurta ikizlerinde görülme oranını çift yumurta ikizlerine oranla daha yüksektir (13). Otoimmün hastalıklara birçok gen aracılığı ile yatkınlık gelişmektedir. Bu genlerden en önemlileri MHC genleridir. Addison hastalığında DR3, RA’te DR4 ve insüline bağımlı diabetes mellitusta DQ8 insidansının yüksek olması örnek olarak verilebilir (5).

T hücrelerinin önemli bir özelliği olarak bir antijeni tanıyıp reaksiyon oluşturabilmesi için antijenin bazı hücreler tarafından işlenerek hücre membranlarında bulunan yüzey molekülleri aracılığıyla bu T hücrelerine sunulmaları yer alır. MHC molekülleri T hücrelerine bu antijen sunumunu sağlamakla görevli yüzey molekülleri. MHC molekülleri T hücre reseptörleri kadar özgün moleküller olmadıkları için yapıcı birbirine benzeyen farklı peptidler aynı MHC molekülüne bağlanarak sunulabilirler. Bununla birlikte MHC molekülleri öz antijenler ile yabancı antijenleri birbirinden ayırt edemediklerinden antijen bağlanma bölgesine yapı olarak uygun olmak şartıyla her antijeni bağlayıp sunabilmektedirler (14).

Otoimmün hastalıklarla HLA genleri arasındaki ilişki çok eskilerden beri bilinmektedir. Belirli HLA allellerini taşıyanlarda bazı otoimmün hastalıklar genel topluma oranla daha yüksek sıklıkla gözlenmektedir. Artmış bu hastalık sıklığı ve HLA genleri arasındaki ilişki göreceli risk olarak tanımlanır. Belirli bir HLA allelini taşımak, ilişkili olduğu otoimmün hastalık gelişme riskini artırır fakat bu allelin kendisinin tek başına hastalık nedeni olmadığı bilinmelidir(4). Çünkü otoimmün hastalık gelişimi oldukça multifaktöriyeldir (15).

Otoimmün hastalıklar sadece HLA sistemindeki genetik bozukluklara bağlı olarak meydana gelmez. HLA genlerinin yanısıra sitokinler, eş uyaranlar gibi molekülleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar da otoimmün hastalıkların oluşmasına neden olabilir (13). HLA ile ilgili olmayan genlerdeki polimorfizm de, self toleransın bozulmasına da lenfositlerin anormal aktivite göstermesine neden olarak çeşitli otoimmün hastalıkların gelişmesine sebep olabilir. Örneğin protein tirozin fosfataz (PTPN22) geni, B ve T lenfositlerin aktivasyonunu düzenler ve bu gendeki polimorfizmler RA, SLE ve tip 1 diyabet gibi otoimmün hastalıklarla ilişkilidir. Bazı otoimmün hastalıklar, tek gen mutasyonu sonucu meydana gelir ve bu geni taşıyan bireylerin çoğunda otoimmünite gelişir. Self tolerans mekanizmasında rol alan yolların kontrolü ve anahtar moleküllerin belirlenmesinde önemli olan bu genler; autoimmuneregülatör (AIRE), FOXP3 ve FAS genleridir (4).

- **Hormonal faktörler**

İmmünolojik hücreler reseptörler aracılığı ile hemen hemen tüm hormonlardan sinyal alabilmektedir. Östrojen hormonu, büyüme hormonu, tiroksin ve insülin hormonu immün yanıtı artırırken, glukokortikoidler ve androjenler immün yanıtı baskılamaktadır (5).

Otoimmün hastalıklarda cinsiyet farklılığı belirgindir. Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar ile de otoimmün hastalıklara kadınlarda daha sık rastlanıldığı görülmüştür. Kadınlar otoimmünite ile üreme çağlarında daha sık karşılaşmaktadırlar. Östrojen ve prolaktin hormonlarının lenfematopoetik hücreler üzerinde çok fazla etkisi bulunmaktadır. Östrojen hormonunun; lenfoid hücrelerin büyüme-farklılaşması, antijen sunumu, sitokin ve antikor üretimi, apoptoz mekanizmasında ve hücrel immünite ilişkili antikor yanıtı üzerine etkileri vardır (16). Otoimmün hastalığa sahip kişilerin yüksek östrojen seviyesine sahip olduğu ileri sürülmüş ve erkeklik hormonlarının SLE’li farelere verildiği takdirde hastalığın şiddetinde azalma olduğu görülmüştür. Özellikle RA olmak üzere otoimmün hastalıkların şiddetinin hamilelik sürecinde azaldığı gösterilmiştir (5). Ayrıca oral kontraseptif kullanan veya postmenopozal dönemde olup östrojen tedavisi alan SLE’li kadın hastalarda alevlenmelerle sık karşılaşmaktadır (16).

- **Enfeksiyon etkenleri**

Kişinin genetik yatkınlığı üzerine çevresel etkenlerin de eklenmesi ile öz antijenlere karşı immün yanıt gelişerek otoimmünite gelişimi tetiklenir (17). Özellikle bakteriler, virüsler ve patojenik mikroorganizmalar gibi enfeksiyon etkenleri otoimmüniteye sebep olan çevresel faktörlerin başında gelir. Enfeksiyonlar birçok mekanizma ile otoimmünite gelişimini tetikler(18).

Dokudaki enfeksiyon, bulunduğu bölgede doğal immün yanıtın gelişmesine neden olur ve bu süreçte salınan sitokinler ve eş uyaranların varlığı ile antijen sunan hücrelerin (ASH) uyarılması sağlanır. ASH'ler uyarıldığında o dokuda bulunan öncesinde öz antijenlerle karşılaşmış ve anejrik hale gelmiş lenfositlerin etkin hale geçmesine sebep olabilirler (4).

Otoreaktif lenfositlerin enfeksiyon etkenleri tarafından uyarılmasında 2 mekanizma çok önemlidir.

1) Bazı mikroorganizmalar, öz antijenlere moleküler benzerlik gösteren peptid yapıda antijenler üretir. Moleküler benzerlik olarak tanımlanan bu mekanizma sonucu mikroorganizmaya karşı gelişen antikorlar ve aktive olmuş T hücreleri hedef dokuda çapraz reaksiyon gelişmesine yolaçar (4,19). Enfeksiyon etkenleri ile doku antijenleri arasındaki çapraz reaksiyonlarla immünolojik toleransın bozulmasına bağlı olarak otoimmün yanıt gelişir (18,20).

Enfeksiyonlar otoimmün hastalık gelişiminde en önemli mekanizmalardandır. Örnek olarak akut romatizmal ateş patogeneğinde A grubu beta hemolitik streptokok farenjitinde; streptokokların M proteini ile ekonağın miyozin ağır zinciri, tropomiyozin, laminin ve keratin gibi proteinleri arasında homolog sekanslar olmasına bağlı gelişen çapraz reaksiyonsorumlu tutulmaktadır (4,19).

2) Mikrobiyal antijenlerin adjuvant etkisi, B lenfositlerde poliklonal aktivasyona sebep olabilir. T lenfositleri ise süper antijen etkisiyle belirgin immün aktiviteye yol açarak otoimmün yanıt geliştirebilir. Kronik enfeksiyonlarda T helper (Th) uyarımına bağlı özellikle IFN γ olmak üzere şiddetli sitokin salınımı olur ve artan IFN γ salgısı MHC II antijeninin ifade edilmesini artırır. Bunların sonucunda hücre yüzeyindeki otoantijenlerin Th hücresine sunulması sağlanır ve otoimmün

yanıt gelişir. Tüberküloz, lepra, sıtma ve trypanasomiyazis gibi kronik enfeksiyonlarda ve birçok virus enfeksiyonunda, otoimmün yanıtın meydana geliş bu şekilde açıklanabilir (18,20).

- **Çevresel Faktörler**

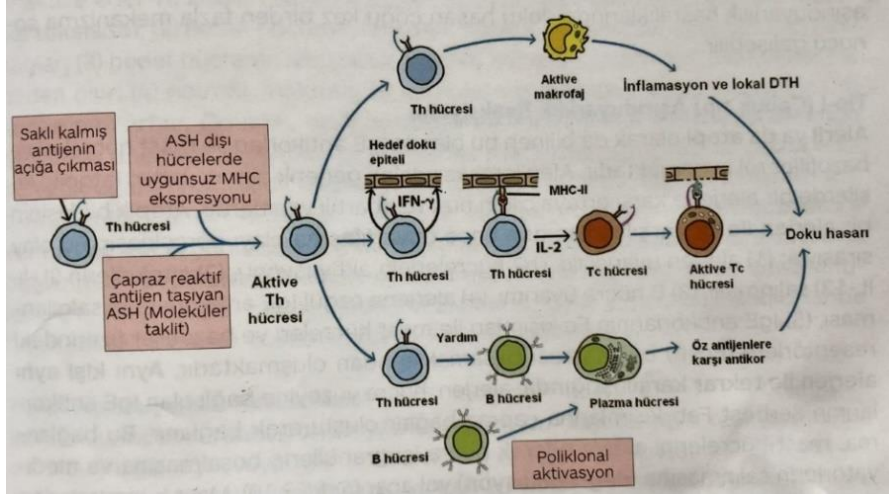
Belirli bazı çevresel faktörler otoimmün hastalık gelişiminde önemli rol oynayabilir. Bu çevresel etkenlere; enfeksiyon ajanları, yaşam tarzı, diyet, sigara, vitamin D alınması, hormonal ve mesleki maruziyetler, güneş ışınlarına maruz kalma, psikolojik stres, saç boyaları, ilaçlar örnek olarak verilebilir (17).

Buğdayın yapısındaki gluten isimli proteinin parçası olan gliadinin otoimmün hastalıklarla ilişkisi uzun yıllardır bilinmektedir. Glutene karşı gelişen hipersensitivite reaksiyonuyla bağırsak villuslarına karşı otoimmün reaksiyonlar gelişebilir (21). Strese ait önemli birçok faktörün otoimmün hastalık gelişimini tetiklediği gösterilmiştir. Akut stres daha çok immün supresif olarak etki gösterirken, kronik strese karşı daha da güçlü immün cevap verilmektedir (22). Balık yağları gibi uzun zincirli yüksek oranda çoklu doymamış omega-3 yağlarının diyetle yer alması RA'lı hastalara iyi gelmektedir. Güneş ışınları ise SLE'li hastaların deri lezyonlarını tetiklemektedir. Bazı ilaçlar tarafından indüklenen; SLE, Myastenia Gravis, otoimmün hemolitik anemi gibi birçok otoimmün hastalık bulunmaktadır (23).

2.4. Otoimmün Hastalıklar

Vücudun kendine ait öz antijenlerine karşı yanıtızsızlık halinin (self-tolerans mekanizması) bozulması ya da kaybolması sonucu otoimmünite gelişimi tetiklenir. Bu reaksiyonlar esnasında gelişen doku harabiyeti sonucu meydana gelen klinik tablolar **otoimmün hastalıklar** olarak tanımlanır (8).

Otoimmün hastalıklarda ortaya çıkan doku harabiyeti hem otoreaktif B hücreleri tarafından oluşan otoantikorlar hem de otoreaktif efektör T hücrelerinin etkisi ile gelişir (Şekil 2).



Şekil 2. Otoimmünitenin indüklenmesinde bazı mekanizmalar.

DTH: Gecikmiş tip aşırı duyarlılık, Tc: Sitotoksik T hücresi.

Konağın hücre ve doku antijenlerine karşı çok çeşitli otoantikorlar oluşur. Bu otoantikorlar kendilerine ait antijenlere bağlanarak, antikora ve komplemana bağlı hücre ölümüne yol açar. Ayrıca dolaşımdan temizlenemeyen immün komplekslerin birikimi sonucu doku hasarına neden olur. Bunlara ek olarak otoreaktif T hücreleri tarafından salgılanan sitokinlerle oluşan inflamasyon ve sitotoksisite gibi Tc hücrelerinin meydana getirdiği hücre immün yanıt mekanizmaları ile doku harabiyeti artar. Bu şekilde ilerleyici tipte olan doku harabiyeti ile gerçek doku hasarı gibi patolojilerle sonuçlanan otoimmün hastalıklar; klinik bulgulara artış (relaps) ve azalmanın (remisyon) olduğu dönemlerle seyreden kronik hastalıklardır (8).

Otoimmün hastalıklar toplum için önemli bir sağlık sorunudur (24). Bu hastalıklarla göreceli olarak nadir karşılaşıldığı düşünülse de morbidite ve mortalite üzerine etkileri çok fazladır. Otoimmün hastalıklar kadınları daha çok etkilemektedir ve genç-orta yaş kadınlarda önemli ölüm nedenleri arasında bulunmaktadır. Otoimmün hastalıkların yaş dağılımı belirgin farklılıklar göstermektedir. Bu hastalıkların çoğu herhangi bir yaşta başlayabilmesine rağmen, açıkça görülen başlama yaşları görülmektedir (25).

Otoimmün hastalıklar belirli bir organ ve dokuyu etkileyebileceği gibi sistemik-çoklu organ tutulumu da yapabilir (8). Gelişen semptomlar tutulan organ ve sisteme göre değişiklik göstermektedir (24).

Sistemik-çoklu organ tutulumu gösteren otoimmün hastalıklara RA, juvenil idiyopatik artrit, SLE, skleroderma, sistemik skleroz, sjögren sendromu, polimiyozit, dermatomiyozit, mikst bağ dokusu hastalığı örnek olarak verilebilir. Sistemik otoimmün hastalıklarda gelişen otoantikorlar çoğunlukla hücre çekirdeğine karşıdır ve bu otoantikora anti-nükleer antikorlar (ANA) adı verilmektedir. Bu grupta yer alan hastalıklar ilişkili olduğu otoantikordan dolayı “**ANA ilişkili romatizmal hastalıklar**” olarak bir başlık altında da incelenebilir.

İmmün sistemin düzenlenmesi esnasında gelişen bu bozukluklar sonucu, immün sistemin uyarılmasıyla otoantijenlere karşı antikor gelişimi veya hücrel bağışıklık yanıtı oluşumu gerçekleşir. Meydana gelen otoantikorlar çoğunlukla IgG izotipindedir nadir olarak IgM veya IgA tipi antikorlar da reaksiyona katılır. T lenfositleri aracılığı ile oluşan doku hasarına tipik olarak RA ve multiple skleroz örnek verilebilirken, antikor aracılı gelişen hasara SLE, Hashimoto tiroiditi ve otoimmün hemolitik anemi örnek olarak verilebilir.

Otoimmün hastalıklar, bir uçta organa özgü diğer uçta sistemik otoimmün hastalıkları içeren geniş bir yelpaze oluşturur ve buna göre 2 grupta sınıflandırılabilir:

1) Organa özgü (lokalize) otoimmün hastalıklar.

2) Organa özgü olmayan (sistemik) otoimmün hastalıklar (26).

2.4.1. Organa özgü otoimmün hastalıklar

Vücuttaki belirli bir hücre, organ, doku veya bezde yer alan antijenlere karşı gelişen antikorların neden olduğu doku hasarı sonucu ortaya çıkar. Bu grup içerisinde kan hücrelerinin harabiyetine yol açan otoimmün hemolitik anemi ve trombositopeni; tiroid bezini tutan hashimoto tiroiditi ve graves hastalığı; kas ve iskelet sistemini etkileyen myastenia gravis; beyin ve omuriliği tutan multiple skleroz; gastrointestinal organları etkileyen pernisiyöz anemi, çölyak hastalığı, crohn hastalığı, primer biliyer siroz; pankreası etkileyen tip-1 diabet; böbrek ve akciğeri tutan goodpasture hastalığı; deriyi tutan pemfigus, vitiligo gibi hastalıklar örnek verilebilir (8,26).

2.4.1.1. Otoimmün karaciğer hastalıkları

Hepatosit hücrelerinde ya da safra kanallarına ait hücrelerde ilerleyen inflamasyon ile karakterize olan hastalık grubudur. **Primer biliyer kolanjit (PBK), otoimmün hepatit ve primer sklerozan kolanjit** bu grupta en sık görülen hastalıklardandır (26).

2.4.1.2. Çölyak hastalığı (Glüten sensitif enteropati)

Çölyak hastalığı, genetik yatkınlığı kanıtlanmış olup buğdayda bulunan glüten adlı bir proteine karşı gelişen immün reaksiyonlar sonucu meydana gelen kronik bir enteropati hastalığıdır. Genetik yatkınlığı kanıtlanan bu hastalığın diğer otoimmün hastalıklarla birlikteliği sıktır ve kadınlarda görülme oranı daha yüksektir. Özellikle HLA-DQ2 ve DQ8 moleküllerini eksprese eden kişilerde glüten bağımlı proteinlere maruz kalma ve çevresel faktörlerinde tetiklenmesiyle immün reaksiyonlar başlamaktadır. Tanı olarak altın standart; ince bağırsak biyopsisi ve pozitif serolojik sonuçlardır. Serolojik testleri pozitif olan hastalarda biyopsi sonucu negatifse ikinci bir biyopsi önerilebilir. Çölyak hastalığında kullanılan özgül serolojik testler tanı dışında tedavi takibinde de güvenle kullanılmaktadır (26).

2.4.1.3. Sistemik vaskülitler

Vaskülitler, kan damarlarının inflamasyonu ile damarın beslediği doku ve organlarda gelişen beslenme bozukluğu sonucu oluşan hastalık grubudur.

Bu hastalıklar nadir görülen **primer vaskülitler** ve ilaç, enfeksiyon, kollojen doku hastalıkları, malignensi gibi nedenlerle oluşup daha sık görülen **sekonder vaskülitler** olmak üzere ikiye ayrılır.

Primer vaskülitlerin nedeni çoğunlukla bilinmese de otoimmün olaylar altında yatan mekanizma olarak sıklıkla gösterilmektedir. Primer vaskülitler tutulum yaptıkları damarların çaplarına göre büyük, orta çaplı ve küçük damar vaskülitleri olmak üzere sınıflandırılırlar.

- **Büyük damar vaskülitleri:** Temporal arterit, takayasu arteriti, izole aortit.
- **Orta çaplı damar vaskülitleri:** Kawasaki hastalığı, poliarteritis nodosa.
- **Küçük damar vaskülitleri:** Anti-nötrofil sitoplazmik antikor (ANCA) ilişkili vaskülitler ve immün kompleks ilişkili küçük damar vaskülitleri olmak üzere

ikiye ayrılır. ANCA ilişkili küçük damar vaskülitleri içinde buluna üç hastalık, eskiden Wegener granülomatozu olarak bilinen **polianjitisli granülomatozis**, **mikroskobik polianjitis** ve eskiden Churg-Strauss olarak bilinen **eoziñofilik polianjitisli granülomatozistir**. ANCA testleri, küçük damar vaskülitlerde hem tanı ve hem de inflamatuvar aktiviteyi gözlemlemek için kullanılır (26).

2.4.1.4. Tip 1 Diyabet

Tip 1 diyabet, pankreasta yer alan ve insülin salgılayan beta adacık hücrelerinin, genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle ile indüklenen immün aracılı yıkımı ile karakterize olan organ spesifik bir otoimmün hastalıktır (27).

2.4.2. Organa özgül olmayan (sistemik) otoimmün hastalıklar

Self toleransın bozulmasıyla bireylerde hücrelerinin farklı yapılarında bulunan çeşitli antijenlere karşı antikorlar gelişebilir. Bu otoantikorlarla bireyin kendisine ait antijenlerin birleşmesi sonucu oluşarak kanda dolaşan immün kompleks yapısının, çeşitli organ ve dokularda birikimiyle başlayan doku hasarının meydana getirdiği hastalıklar bu gruptadır (8,26).

Sistemik otoimmün hastalıklar bağ dokusunu ve kan damarlarını tuttuğu için kollojen doku hastalığı ya da bağ doku hastalığı şeklinde de isimlendirilmektedir (8).

2.4.2.1. Sistemik lupus eritematozus (SLE)

Kronik, birçok organ ve sistemi tutan, immünolojik bozukluklarla birlikte, otoimmün karakterli bir bağ dokusu hastalığıdır (28).

Hastalık genellikle remisyon ve alevlenme periyotlarıyla birlikte seyreder, kronik ve progresiftir (29). Kadınlarda 8-10 kat daha sık karşılaşılr, doğurganlık dönemi hastalığıdır ve hastalığın insidansı 40'lı yaşlarda artar. Ortalama görülme yaşı 20-60 yaş arasındır. Etyolojisi hala bilinmemekle birlikte genetik, hormonal, immünolojik ve çevresel faktörlerle geliştiğı düşünölmektedir (30).

Antijen ve antikor kompleksleri çeşitli organlarda birikir, bu kompleks SLE'de ortaya çıkan doku hasarından sorumlu olan inflamatuvar yanıtın gelişmesini

stimüle eder (29). Patogeneizde sorumlu olan otoantikorlardan ANA, hastaların %95'inden fazlasında gelişir ve hastalığın en karakteristik antikorudur (30).

Anti-dsDNA ve anti-Sm antikorları, SLE hastalığına özgüdür, aynı zamanda bu antikorlar SLE'nin tanı kriterleri arasında bulunur. Anti-dsDNA antikorlarının seviyesi hastalığın şiddeti ile korele olup, IgM yapısındaki bu antikorlarının en belirgin özelliği, glomerulonefritle ilişki içinde bulunmasıdır (26).

Tanı için 2012 yılında Sistemik Lupus Uluslararası Klinikler İş Birliği [Systemic Lupus International Collaborating Clinic (SLICC)] tarafından yayımlanmış sınıflandırma kriterleri kullanılmaktadır.

Klinik kriterler: akut kutanöz lupus, kronik kutanöz lupus, oral veya nazal ülser, skarlaşmayan alopesi, iki veya daha fazla eklemi içeren sinovit, serozit, renal tutulum, santral sinir sistemi bulguları, hemolitik anemi, lökopeni, trombositopeni.

İmmünolojik kriterler: referans sınır değerinde ANA, anti-dsDNA, anti-Sm, anti-fosfolipit antikor pozitifliği, düşük kompleman düzeyi (düşük C3,C4 ve CH50 değerleri), direkt coombs testi pozitifliği (hemolitik anemi varlığında dikkate alınmaz).

Sistemik lupus eritematozus sınıflaması için: en az dört kriter; en az biri klinik ve biri immünolojik kriter olmak üzere yeterlidir veya biyopsi ile kanıtlanmış nefriti yanında ANA veya anti-dsDNA pozitifliği gereklidir (26,31).

2.4.2.2. Romatoid artrit (RA)

Primer olarak sinoviyal dokuyu etkileyerek eklem hasarı ve kemik destrüksiyonu ile karakterize olan bunun dışında kas, deri, kan damarları, kalp, akciğer ve diğer organları da tutabilen sistemik bir hastalıktır (32,33). Tüm dünyada ortalama prevalansı %1-2'dir, kadınlarda daha yüksek oranda görülür.

Otoimmün yanıt hem otoantikor sentezleyen B hücreleri hem de otoreaktif Th1 hücrelerinin aktivasyonu sonucu meydana gelir. Sinoviyal sıvıdaki bu yanıt kıkırdak dokuda hasara yol açar. Hasarda rol oynayan önemli faktörlerden biri IgM-IgG immün kompleksleri olup IgG'nin Fc parçasına karşı sentezlenen IgM tipindeki

romatoid faktör (RF) olarak bilinen anti-IgG antikorları en önemli rol oynar (26). RF, RA'ye özgül değildir; SLE, sarkoidoz, kronik karaciğer hastalıkları, sifiliz, tüberküloz, kronik bakteriyel enfeksiyonlar, viral enfeksiyonlar, ilerleyen yaş ile artan sıklıkta, sağlıklı insanların serumlarında da saptanabilir. Bu sebeple tarama amacıyla kullanılmaz, tanıda yardımcı test olarak kullanılmalıdır. RF düzeyi hastalığın seyrinde yardımcıdır, seviyesi yüksek düzeyde bulunan hastalarda RA daha ağır seyreder ve eklem dışı bulgular daha sık görülür (32). RA'li hastalarda RF dışında başka otoantikorlar da görülebilir. Anti-siklik sitrülünlenmiş peptid antikorlar [Anti Cyclic Citrullinated Peptid (Anti-CCP)] olarak bilinen ve sitrülünize olmuş peptidlere karşı gelişen otoantikorlar, RF'ye göre daha erken dönemde pozitif olabilir ve RA için daha spesifiktir (34,35).

Laboratuvar olarak tanısında; eritrosit sedimentasyon hızı, C-reaktif protein gibi inflamasyon parametrelerinde artış ile RF ve anti-CCP pozitifliği önemlidir (26).

2.4.2.3. Sistemik skleroz (Skleroderma)

Ciltte ve çeşitli iç organlarda kollojen doku birikimiyle bağ dokusunun anormal artışı ve mikrovasküler damarların tıkanıklığı ile karakterize olan, etiyojisi ise tam bilinmeyen multisistemik otoimmün bir hastalıktır (37). Hastalığın tutulum yaptığı bölgelerde inflamatuvar, fibrotik ve vasküler değişiklikler meydana gelir (36).

Sistemik skleroz (SSc), cilt tutulumunun yaygınlığına, bazı klinik ve laboratuvar özelliklerinde bulunan farklılıklara göre **diffüz kutanöz** ve **sınırlı kutanöz** olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Ciltteki tutulum deride sertleşme ve gerilme şeklinde gözlenirken akciğer, gastrointestinal organlar, böbrek, kalp tutulumu ciddi morbiditeye yol açabilir ve mortalite nedenlerindendir (26).

- **Sınırlı cilt tutulumlu skleroderma;** cilt tutulumu el, yüz ve ayaklarda sınırlı kalmaktadır ve tutulumun çok öncesinde Raynaud fenomeni ortaya çıkmaktadır. Pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) ve CREST sendromu (kalsinoz, Raynaud fenomeni, özefageal dismotilite, sklerodaktili, telenjiektazi) görülebilir. Anti-sentromer antikorları çoğunlukla pozitifken, anti-Scl70 antikorları negatiftir (38).

- **Diffüz kutanöz skleroderma;** hızlı ve ilerleyici şekilde gelişen cilt kalınlaşması görülür ayrıca iç organ tutulumu daha erken ve hızlı ilerleyen

şekildedir. (26). El, yüz, ayaklar ve gövde derisi tutulumu vardır. Raynaud fenomeni sıklıkla bulunur. Bu tipte tendonlarda krepitasyon, pulmoner fibrozis, PAH, yaygın gastrointestinal tutulum, kalp yetmezliği ve kardiyak aritmi ile karşılaşılabilir. Anti-Scl70 antikoru genellikle pozitif, anti-sentromer antikoru ise negatiftir (38).

Sistemik sklerozda otoantikor pozitifliği tanı koydurucudur. Anti-sentromer, anti-topoizomeraz 1 (Scl-70) ve anti-RNA polimeraz III, SSc için yüksek özgüllük gösterir ve bu antikorlar 2013 yılında Amerikan Romatoloji Derneği/Avrupa Romatizma Birliği tarafından tekrar düzenlenen SSc sınıflandırma kriterleri arasına alınmıştır. Bu antikora ek olarak SSc olgularında karşılaşılabilen diğer otoantikorlar anti-U3- RNP/fibrillerin, anti-Th/To ve anti-RNA-polimeraz I ve II'dir. ANA indirekt immüno Floresan (IIF) yönteminde, HEp-2 hücrelerinde nükleolar tarzda boyanma bu antikorların varlığını gösterebilir. Anti-Ul-RNP, anti-SS-A/Ro60/Ro52, Anti-PM/Scl, anti-Ku, ve anti-NOR 90 antikorları SSc ve diğer sistemik otoimmün hastalıklarda saptanabilen otoantikorlardır. Otoantikorların türü SSc sınıflamasında rol oynar; Anti-topoizomeraz ve anti-RNA polimeraz III pozitifliği yaygın SSc ile ilişkili bulunurken, anti-sentromer pozitifliği daha çok sınırlı formunda görülür.

2.4.2.4. Polimiyozit/dermatomiyozit (Enflamatuvar kas hastalıkları)

Polimiyozit/dermatomiyozit, kas ve/veya cilt bulgularıyla karakterize idiopatik inflamatuvar kas hastalığı olarak da tanımlanan sistemik otoimmün bir hastalıktır (26). Bu hastalık grubunda inflamasyon birçok kasta ise polimiyozit (PM) denilmektedir beraberinde tipik deri inflamasyonu ile seyrediyorsa dermatomiyozit (DM) adı verilir (39).

Daha çok hücrel immünite rol oynadığı PM'de Kas hücreleri inflamatuvar hücrelerle çevrili olup, infiltrasyon, fasikül içindedir ve kas liflerini kuşatır. Anormal kas liflerinin tüm kas fasiküllerinin içine dağıldığı bir patolojidir.

Asıl rolü humoral immün yanıt oluşturduğu DM ise ağırlıklı olarak kompleman sisteminin görev aldığı bir vaskülopatidir. PM'nin aksine DM'de anormal kas lifleri, fasikülün içinde bir bölgede toplanmışlardır (26).

Pozitif ANA IIF sonucu, tipik inflamatuvar kas hastalığı yakınmaları ve bulguları olan hastalarda PM/DM için sadece zayıf bir kanıt olarak kabul edilmektedir (26). İmmün sistem aracılı miyozitlerde otoantikorlar hücre içi antijenlere karşıdır ve bazıları miyozitlere özgül iken bu otoantikorların çoğu diğer otoimmün hastalıklarla da ilişki içindedir. Geleneksel olarak iki gruba ayrılmıştır; miyozit özgül otoantikorlar ve miyozit ilişkili otoantikorlar. Miyozite özgül antikorlar; anti-Jo-1 (histidil-tRNA sentetaz), anti-SRP (intraseküler sinyal recognition partikül) ve anti-Mi-2 (helikaz)'dır. Uzun yıllar boyunca anti-Jo-1 antikorunun özellikle PM için prognostik bir belirteç olduğu ileri sürülmüştür. Ancak PM/DM hastalarının %30 kadarında görülebilen akut başlangıç, Raynaud fenomeni, elde döküntü, artrit ve interstisyel akciğer hastalığı ile karakterize olan "anti-sentetaz sendromu"nın tanımlanması ile birlikte anti-Jo-1'in PM için prognostik bir faktör olmadığı, anti-sentetaz sendromu için tanısal bir belirteç olduğu tespit edilmiştir. Anti-SRP ise daha çok PM'de görülen agresif seyir ile ilişkili antikordur (26, 40).

2.4.2.5. Sjögren sendromu

Sjögren sendromu (SS) özellikle göz yaşı ve tükürük bezleri olmak üzere bütün ekzokrin bezleri tutabilen kronik inflamatuvar otoimmün bir ekzokrinopatidir.

Primer ve sekonder SS olmak üzere iki türü bulunur. SS tek başına olduğunda primer SS, diğer otoimmün hastalıklarla (SLE, RA, SSc) birlikte görüldüğünde sekonder SS olarak adlandırılır.

Primer SS tanısında Amerikan Romatoloji Derneği tarafından 2012 yılında kabul edilmiş kriterlerden en az ikisinin pozitif olması gerekmektedir:

1. Pozitif anti-SS-A ve/veya anti-SS-B antikorları veya pozitif RF ve pozitif ANA-IIF
2. Pozitif minör tükürük bezi biyopsi skoru
3. Keratokonjonktivitis sicca (oküler boyanma skoru>3.3)

Sekonder SS'nin en sık birlikte görüldüğü otoimmün hastalık RA'tir. Ayrıca SLE, SSc, miks bağ dokusu hastalığı (MBDH), miyozit, vaskülit, tiroidit, primer

biliyer siroz, kronik aktif hepatit ve miks kriyoglobulinemi de birlikte görülebildiği hastalıklardandır. SS'de otoantikörler yoğun bir biçimde bulunmaktadır ve otoantikör pozitifliği tanı kriterleri içinde yer alır. Ribonükleoproteinlere karşı gelişen anti-SS-A (anti-Ro60/anti-Ro52) ve anti-SS-B (anti-La) en sık saptanan otoantikörler olup Anti-SS-B antikoru anti-SS-A'ya göre daha özgül ancak duyarlılığı daha düşüktür. Anti-SS-A antikoru; SLE, SSc, MBDH ve PM/DM'de de görülebilir. SS için izole anti-Ro52/TRIM21 pozitifliği karakteristik olsa da diffüz kutanöz sistemik skleroz, PM/DM'de de pozitif saptanabilir. Anti-SS-A ve anti-SS-B antikörleri sıklıkla erken hastalık başlangıcı ve daha uzun hastalık süresi ile ilişkili olup "sicca" belirtileri ve parotis bezi hasarının da kanıtı olarak kabul edilmektedir. Anti-SS-A ve anti-SS-B antikörleri raynaud fenomeni, artrit, periferik nöropati, subkutan vaskülit, renal tutulum ve interstisyel akciğer hastalığı gibi ekstra glandüler tutulum ile seyreden SS olgularında daha sık görülmektedir (26).

2.4.2.6. Miks bağ dokusu hastalığı (MBDH)

Çeşitli RA, SLE, SSc, PM gibi hastalıklarının kliniklerine ait bulguların kombinasyonu ve yüksek titrede anti U1-RNP antikörlerinin varlığı ile karakterize sistemik bir bağ dokusu hastalığı olup **overlap sendromu** olarak da bilinmektedir (41). Otoantikör aracılı bir hastalık olduğundan genetik ve çevresel faktörlerin hastalığın patogenezinde rolü olduğu düşünülmektedir (42).

Hastalığın erken dönemdeki semptomları spesifik değildir ve genellikle halsizlik, artralji, miyalji ve düşük dereceli bir ateş görülür. Bu dönemde yer alan en önemli bulgu raynaud fenomeni ve yüksek titrede olan ANA pozitifliğidir (43).

Antinükleer antikör pozitifliği MBDH için bir tanı kriteri olarak kabul edilir. MBDH şüpheli olgularda ANA test sonucu pozitif ise mutlaka anti-U1 RNP araştırılmalıdır. MBDH tanısında, U1-RNP otoantikörlerinin varlığı olmazsa olmaz tanı kriteridir ve yüksek pozitif anti-U1 RNP değeri yüksek özgüllüğe sahiptir (26). Overlap kliniği göstermesi ve zaman içerisinde gelişmesi nedeniyle MBDH tanısını koymak zordur (44).

2.5. Otoantikörler

İmmün sistem, normal koşullarda immün tolerans mekanizmalarıyla öz ve öz olmayan antijenleri birbirinden ayırt edebilir ve kendi antijenik yapılarına karşı immün yanıt geliştirmez (45).

İmmün tolerans mekanizmalarının bozulmasına bağlı olarak organizmanın antijenik özellik gösteren yapılarına karşı immün yanıt sonucu gelişen antikorlara **otoantikör** denir (46).

Vücudumuzdaki yapılar bazı patolojik durumlarda antijen olarak özellik gösterebilir. Nükleus, hücre sitoplazmasındaki bazı organeller, DNA, RNA ve IgG gibi moleküller immün yanıt oluşturabilme özelliğine sahip otoantijenler arasında yer alır. Bu otoantijenlere karşı gelişen spesifik antikorlar günümüzde otoimmün hastalıkların teşhisinde, alt gruplarının belirlenmesinde ve tedavilerinin takibinde yol göstericidir (47-49). Bu hedef antijenler hücrenin çekirdeğinde, sitoplazmasında, hücre yüzeyinde veya hücre dışı ortamda yer alabilir. En sık karşılaşılan sistemik otoimmün hastalıklardaki otoantikörler incelediğinde, hedef antijenlerin çoğunun hücre içi antijenler olması dikkat çekicidir (46).

Otoantikörler; farklı mekanizmalarla indüklenerek **(doğal olmayan/patolojikotoantikörler)** veya doğal mekanizmanın bir parçası olarak indüksiyon olmadan **(doğal otoantikörler)** oluşabilirler. Bu şekilde doğal ve patojenik otoantikörler olarak iki gruba ayrılır (50,51).

Doğal otoantikörler, öz antijenlere karşı gelişirler ve sağlıklı kişilerde bu antikorlara sahip olabilir (52). Bu otoantikörlerin düşük konsantrasyonlarda insan serumunda bulunabildiği ve herhangi bir organa spesifik özellikte oluşmadığı öne sürülmektedir (53). Bununla birlikte bazı doğal otoantikörlerin koruyucu etkiye sahip olduğu da düşünülmektedir (54).

Patojenik otoantikörlerin üretimi özantijenlere karşı toleransın bozulmasının önemli bir göstergesidir ve bu otoantikörlerin bazıları hastalığa spesifik iken bazıları ise ileride oluşacak hastalığı işaret edebilen yapıya sahiptir (50,52).

Otoantikörler, sistemik ya da organ spesifik otoimmün hastalıkların göstergesi olabilirler ve bu antikorların bireylerde saptaması, otoimmün hastalıkların

laboratuvar tanısında oldukça önemlidir. Hastalığa özgün antikorlar, klinik bulguları olan olgularda hastalığın tanımlanmasını sağlarken klinik bulguları belirsiz olan olgularda hastalığı dışlanmakta yardımcıdır (55,56).

2.6. Otoimmün Hastalıkların Tedavisi

Tedavide çoğu yaklaşım, doğal olarak oluşan immünolojik cevabı azaltmaya yöneliktir. Bu amaçla tedavide nonsteroidal antiinflatuarlar, steroid, immünosupresifler, anti-TNF'ler kullanılmaktadır (23).

2.7. Otoimmün Hastalıkların Tanısı

Günümüzde otoimmün hastalıkların tanısında kullanılan çeşitli tetkik ve yöntemler bulunmakla birlikte bu hastalıkların tanısında uzun süredir otoantikorlar kullanılmaktadır. Klinik bulgulardan bağımsız olarak sadece laboratuvar testlerine dayalı tanı koymanın yanlışlığı da önemli bir şekilde vurgulanmaktadır (57).

Teşhisin ilk aşamasında kişinin yaşadığı çevre, mesleki geçmişi ve genetik yatkınlığının araştırılması yer alır. Yorgunluk, kas ve eklem ağrıları, ani gelişen kilo kaybı ile ateş gibi semptomlar spesifik olmasa da herhangi bir otoimmün hastalık için başlangıç semptomları olarak kabul edilir. Otoimmün hastalıkların tedavileri için öncelikle tanıyı doğru koymak gereklidir.

Otoimmün hastalıklara tanı koyarken otoantikorların varlığını göstermek amacıyla kullanılan serolojik testlerin zayıf noktası olarak sağlıklı insanlarda ve otoimmün hastalıklar haricindeki diğer hastalıklarda dahi antikorların tespit edilebilmesi bulunur (58).

Otoantikor Tayininde Kullanılan Yöntemler;

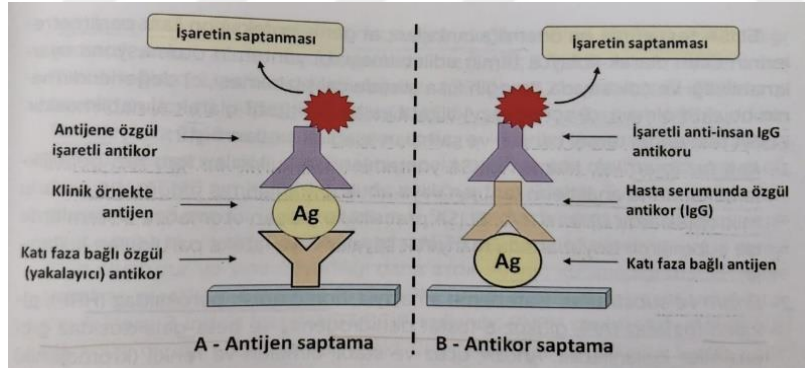
- 1- İndirekt immünofloresan(IIFA)
- 2- İmmünoassays
- 3- Enzimimmünoassay (ELISA)
- 4- İmmünoradiometrikassay (IRMA)
- 5- İmmunoblot, Western blot, Dotblot
- 6- Aglütinasyon (hemaglütinasyon ve latex aglütinasyon)

- 7- İmmünopresipitasyon
- 8- Nefelometri
- 9- İmmünodifüzyon
- 10- İmmünoelektroforez
- 11- Antijen mikroarray

Otoantikorların tayininde kullanılan bu testler işaretli katı faz yöntemleri esasına dayalıdır. Bu yöntemlerin esas ve ortak noktası; özgül antijenlerin antikorlarla birleşmesi sonucu meydana gelen komplekslere bağlanan işaretlerin ölçülebilmesi ve bu komplekslerin işaretli olmayanlardan ayırt edilebilmesidir. Bu yöntemlerde reaksiyon katı bir matriks üzerinde gerçekleşir ve sonrasındaki yıkama işlemiyle bağlanmamış işaretli reaktiflerin ortamdan uzaklaşması sağlanır.

İşaretli katı faz yöntemleri 'Hızlı testler' olarak bilinmektedir ve kullanılan işaret maddesine göre adlandırılır. Bu yöntemlerde işaret vermesi amacıyla enzimler, floresans veya kemilüminesans veren bileşikler, kolloid partiküller ve radyoaktif maddeler kullanılabilir (8,59).

Aşağıdaki şekilde antikor ve antijen tespitinde kullanılan işaretli katı faz yöntemlerinin temel mekanizması gösterilmiştir. (Şekil 3)



Şekil 3. İşaretli katı faz yöntemleri ile;

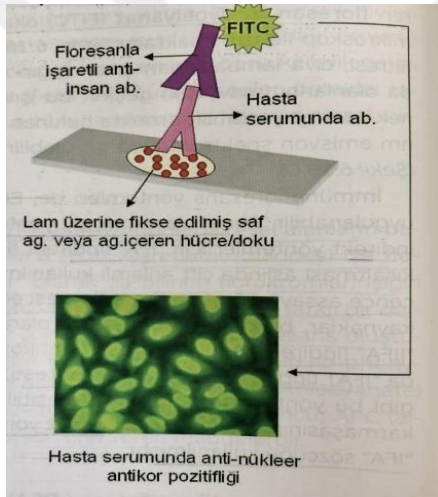
A) Antijen saptama (Direkt yöntem) B) Antikor saptama (İndirekt yöntem) mekanizması (8).

2.8. Otoantikor tanı yöntemleri

2.8.1.İndirekt immünofloresan antikor testi (IIFA)

IIFA yöntemi, katı faz olarak hücre veya doku kesitlerinin kullanılması ile hasta serumlarında antikorların varlığının araştırıldığı invitro bir tanı yöntemidir. Bu

yöntemde katı faz olarak; istenilen antijenlerin etanol, metanol ya da aseton ile fiks edildiği ticari olarak hazırlanan lamalar kullanılır. Lamlarda bulunan fiks edilmiş substratların üzerine dilüe edilmiş hasta serumları eklenir, inkübasyon süresince serum içerisindeki antikorların substrat üzerindeki antijenler ile birleşmesi sağlanır. Fosfat tampon çözeltisi (PBS) ile yıkama işleminden sonra FluoresceinIsoThioCyanate (FITC) ile işaretlenmiş konjugat adı verilen ikinci bir antikor (anti-insan antikor) eklenir. Tekrar inkübasyon ve yıkama işlemleri yapıldıktan sonra konjugat ile gerçekleşen bağlanma floresan mikroskopta görünür hale gelir. Preparatın kuruması beklenilmeden gliserol damlatılarak üzeri lamel ile kapatılır ve floresan mikroskopta incelenir (Şekil.4) (8,26,60).



Şekil 4. İndirekt floresan antikor yöntemlerinin mekanizması ve görünümü (8).
Ab: Antikor, Ag: Antijen.

İndirekt immünofloresan antikor testi hem enfeksiyon hastalıklarının tanısında hem de otoimmün hastalıkların serolojik tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem özellikle otoantikorların tespit edilmesinde referans yöntem olarak kabul edilir (8).

Uygun substratın seçilmesi IIFA tekniğinde büyük önem taşımaktadır. Birçok doku kesiti ve hücre kültürleri substrat olarak bu teknikte kullanılabilir. Çok çeşitli substrat kaynaklarının kullanılması ve bu konjugatlar için belirlenmiş bir standardın bulunmaması teknik ile ilgili önemli olumsuzluklara neden olmaktadır. Ayrıca sonuçların mikroskopik olarak değerlendirilmesi yorumlayan kişinin bilgi ve deneyimine bağlı olduğundan, laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası çalışmalar

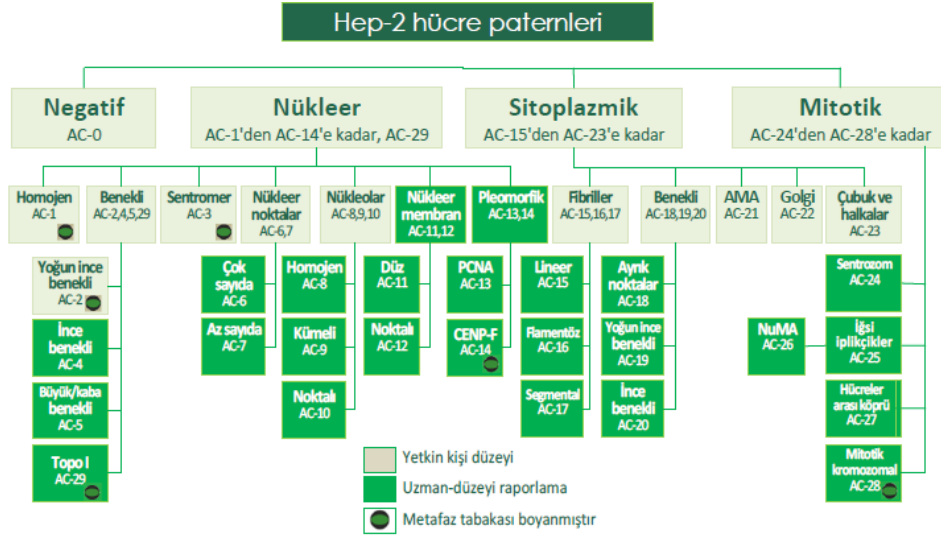
karşılaştırıldığında sonuçlar farklı olabilmektedir. Olumsuz bir diğer sorun ise floresans mikroskopisi ile ilgili problemlerdir (61-63). Mikroskopta kullanılan lambanın türü, ömrü ve ışığın şiddeti floresan şiddetini etkileyen önemli faktörlerdir (64).

2.8.1.1. Antinükleer antikor (ANA)

Antinükleer antikor tayininde başlıca IIFA yöntemi kullanılır ve standart substrat olarak HEp-2 hücreleri kullanılır. Bu hücreler, laringeal skuamöz hücre karsinomasının hücre kültüründen elde edilmiş hücrelerdir ve cam slaytlara fikse edilmiş şekilde ticari olarak temin edilirler. HEp-2 hücrelerinin daha büyük nükleusa sahip olmaları, bölünme sürelerinin daha kısa olması ve bu sistemlerde anti-sentromer antikorlarının da değerlendirilebiliyor olması HEp-2 hücrelerini kullanmanın avantajıdır. Ayrıca HEp-2 hücre uygulaması ile ANA-IIFA testlerinde standardizasyonun sağlanması kolay hale gelmiştir (26,49).

İndirekt immüno floresan antikor testinde ANA tanısını koyarken dikkat edilmesi gereken noktalardan biri floresan boyanma paternidir. IIFA yöntemi ile HEp-2 hücrelerinde görülen boyanma paternleri belirli hastalıklar ile ilişkilidir ve otoimmün hastalıkların tipi hakkında önemli bilgilere sahiptir. İnceleme esnasında klinik olarak öneminin bilindiği klasik paternlere ek olarak öneminin tam olarak bilinmediği çeşitli atipik boyanma paternleri de gözlemlenebilir. ANA'nın boyanma paternlerini tanımlarken mitotik yani bölünebilen HEp-2 hücrelerin görülmesi önem taşır. Paternlerin yorumlanabilmesinde bu mitotik hücrelerin kromatin bölgelerinin boyanıp boyanmaması büyük yardımcıdır (8).

Antinükleer antikorların IIF morfolojik paternlerinin çeşitliliğine dair bir uzlaşmaya varmak amacıyla ortak uzlaşma raporları yayınlayan The International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns (ICAP), I. Uluslararası Antinükleer Antikor HEp-2 Hücre Paternleri Uzlaşma Raporunda (2014-2015) paternleri; nükleer, sitoplazmik ve mitotik şeklinde 3 bölüme ayırmıştır. Rapora göre AC (anti-cell) kodu ile paternler 1-28 arası numaralandırılmıştır. 2018 yılı uzlaşma raporunda yeni eklenen paternler ile AC 0-29 olarak yeniden düzenlenmiştir. Bu uzlaşma raporlarına paralel olarak, **HEp-2 Hücre Paternleri Adlandırma ve Sınıflandırma şeması** güncellenerek paternler raporlama becerisine göre "Yetkin kişi düzeyi" ve "Uzman düzeyi" olarak iki bölüme ayrılmıştır (Şekil 5).



Şekil 5. HEp-2 hücre paternleri adlandırma ve sınıflandırma şeması (26).

Antinükleer antikor IIFA testi ile başlıca görülen ANA boyanma paternleri ve olası hastalıklar ile ilişkileri;

- **Homojen boyanma paterni (AC-1):** Dinlenme halindeki (interfaz aşaması) HEp-2 hücrelerinin çekirdekleri diffüz bir şekilde düzgün olarak tamamen boyanır, mitotik hücrelerin ise kromatin bölgeleri daha yoğun boyanmıştır. Homojen boyanma paterni histon, çift iplikli DNA (dsDNA) ve/veya nükleozomlara (histon ve DNA kompleksi) karşı gelişen otoantikorların varlığını gösterir ve anti-dsDNA antikoruna için karakteristiktir. SLE, ilaçla indüklenmiş lupus, RA, juvenil kronik artrit ve SSc gibi hastalıklarda tespit edilebilir.

Dinlenme halindeki hücrelerin nükleusunda periferdeki daha yoğun boyanma ve mitotik hücrelerin kromatinlerindeki kuvvetli boyanma periferik (rim) boyanma modeli şeklinde adlandırılır; dsDNA'ya karşı gelişen antikorların varlığını gösterir ve SLE'li hastalarda tespit edilebilir (8,65,66).

- **Nükleer membran paterni (AC-11,12):** Dinlenme dönemindeki hücrelerin çekirdek membranlarında düzgün çembersel ya da noktalı, aralıklı, kesintili şekillerde boyanmalar görülürken metafazda bulunan hücrelerin kromatinlerinde boyanma olmaz. Nükleusların kesişim bölgelerinde floresan boyanma şiddetinde artış görülür. Bu boyanma tipindeki antikorlar nükleer por kompleksine (gp210, p62), integral proteinlere ve membranda bulunan lamin proteinlerine karşı meydana

gelir. SLE, otoimmün karaciğer hastalıkları, antifosfolipit sendromu gibi hastalıklarda görülebilir (8,26,66,67).

- **Benekli boyanma paterni (AC-2, 4, 5):** Histon proteinleri dışındaki çok sayıda farklı antijenlere karşı gelişen antikörlerin varlığını gösterir. Farklı antijenlerin bağlanmaları sonucu birbirinden farklı benekli boyanma modelleri görülür (66).

A) Yoğun ince benekli patern (Anti-DFS70/LEDGF benzeri boyanma, AC-2): Bu paternde istirahat halindeki hücrelerin nükleuslarında nükleoplazma yoğun ince benekli tarzda boyanırken benzer benekler mitotik hücrelerin interfaz evresindeki kromatinlerinde de gözlenir. Metafaz evresinde bulunan hücrelerin boyanması ise çoğunlukla interfazdaki boyanmadan daha kuvvetli şekildedir (65).

Anti-DFS70 antikoru, 75-kd'lık lens epitelyum kaynaklı büyüme faktörüne (LEDGF) karşı gelişir. Sağlıklı kişilerde %4,2-33,1 oranlarında görülebilmektedir ve pozitifliği genellikle sistemik romatizmal hastalıkların tanısından uzaklaşmayı sağlar. Alopesi areata, atopik dermatit, astım, pediatrik kronik yorgunluk sendromu, interstisyel sistit gibi sistemik olmayan otoimmün hastalıklarda, çeşitli göz hastalıkları ya da kanserlerde de karşılaşılabılır (26).

B) İnce benekli boyanma paterni (AC-4): İstirahat döneminde bulunan hücrelerin nükleusunda kumlu ve çekirdek içine dağılmış hemen hemen homajen paterne benzeyen ince benekli (ince granüler, finespeckled) boyanmalar gözlenirken nükleolusunda genellikle boyanma olmaz. Ayrıca bölünmekte olan mitotik hücrelerin kromatin bölgelerinde boyanma izlenmez ve metafaz evresindeki hücrelerin orta hatları boş görülür.

SS-A (Ro), SS-B (La), RNA polimeraz II ve III, Ku, Ki ve Mi-2'ye karşı otoantikörler ince benekli boyanma ile ilişkilidir. SLE, SSc, SS ve MBDH gibi hastalıklarda gözlemlenir (26,65,66).

C) Kaba benekli boyanma paterni (AC-5): İstirahat halindeki hücrelerin nükleuslarında değişken iri ya da orta büyüklükte benekler görülürken nükleoluslar boyanmamıştır. Bölünen hücrelerin kromatinlerinde de boyanma izlenmez. Metafaz evresinde bulunan hücrelerin orta hatları boşdur (26). Bu paterndeki otoantikörler esas olarak heterojen nükleer ribonükleoproteine (hnRNP), küçük nükleer

ribonükleoproteinlere (snRNP) ve Sm antijenine karşı gelişebilir. SLE, MBDH, RA ve DM gibi hastalıklarda saptanabilirler (66).

- **Sentromer paterni (AC-3):** İnterfaz dönemindeki HEp-2 hücrelerinin nükleuslarında yaklaşık olarak kromozom sayısı kadar küçük belirgin noktalı boyanma izlenir. Bu paternde bulunan mitotik hücrelerin kromatin bölgelerinin görünümü ise karakteristiktir; kapalı fermuar şeklinde ya da zik zaklı bir boyanma mevcuttur ve bu boyanma tarzına ‘‘metafaz çubuğu’’ denir. Antikorlar kromozomlarda bulunan kinetokorlara karşı gelişirler ve bu boyanma anti-CENP (Sentromer protein) A,B,C için karakteristiktir. CREST sendromu, SSc, primer biliyer siroz, reynaud fenomeni bu boyanma paterninin ilişkili olduğu hastalıklardır (8,26).

- **Nükleer noktalı paternler:**

A) Çok sayıda nükleer noktalı patern (multiple nucleardots; AC-6): İstirahat döneminde bulunan HEp-2 hücrelerinin nükleoplazmalarında, otoantikorlara ait olan en az 6 adet olmak üzere ortalama 6-10 noktalı belirgin boyanma gözlenir. Bölünen hücrelerin ise kromatinlerinde boyanma izlenmez. Otoantikorlar ile ilgili antijenler; Sp100 nükleerantijeni, promyelocytic leukemia proteini (PML) ve NDP53, MJ/NXP-2 antijenidir. Primer biliyer siroz, SS, SLE ve diğer kronik inflamatuvar bağ dokusu hastalıklarında saptanabilirler (26,65,68).

B) Az sayıda nükleer noktalı patern (few nucleardots; AC-7): İstirahat dönemindeki HEp-2 hücrelerinin nükleoplazmalarında yer alan en fazla 6 adet olmak üzere ortalama 2-3 noktanın yer aldığı boyanma şeklidir. Bölünen hücrelerin ise kromatinlerinde boyanma izlenmez. Bu tip boyanmaya neden olan antikorlar Cajal cisimciği Coiled body) olarak bilinen 80 kD’lik nükleer proteine karşı oluşur. Primer biliyer siroz, SS, kronik aktif hepatit, diğer inflamatuvar hastalıklarda izlenir. Sağlıklı bireylerde de görülebilir (26,65,66).

- **Nükleolar paternler (homojen/benekli/kümeli; AC-8,9,10):** Nükleolar boyanma, nükleoluslara karşı oluşan antikorları kapsar, istirahat halindeki hücrelerin nükleoluslarındaki boyanmadır ve üç alt tipi tanımlanmıştır; homojen, benekli veya kümeli. Çekirdekçiklerin boyandığı bu paternde kromatin bölgeleri genellikle negatiftir, ancak bazı paternlerde pozitifliği görülebilir. PM-Scl 100, PM-Scl 75, Th/To, Fibrillerin (U3-nRNP), RNA Polimeraz I ve NOR ilgili antijenlerdir (8).

- **Pleomorfik paternler:** Hücre döngüsünün farklı aşamalarında değişken boyanma özellikleri gösteren, PCNA (AC-13) ve CENP-F (AC-14) boyanma paternleri, pleomorfik nükleer boyanma kategorisinin alt tipleridir (66).

- **DNA Topoizomeraz İbenzeri boyanma (AC-29):** Bu boyanma paternine, DNA topoizomeraz I antijen neden olmaktadır. Bu otoantikor progresif diffüz sistemik skleroz için oldukça spesifiktir ve tanı kriterleri arasındadır (69).

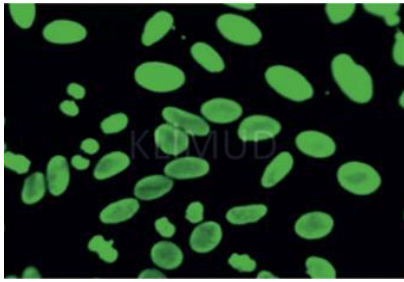
2.8.1.2. Sitoplazmik paternler (AC-15'ten AC-23'e kadar)

Bu boyanma paterninde, istirahat halindeki hücrelerin nükleuslarının ve bölünen hücrelerdeki kromatinlerin pozitif veya negatif olmalarından bağımsız olarak sitoplazmada bulunan yapı ve organellerin boyanma paternleridir. HEp-2 hücrelerinin sitoplazmik olarak boyanmalarında; fibriller (hücre iskeletine ait elemanlar), yaygın/ince granüler (ribozomlar), retiküler/mitokondri-benzeri, polar/golgi-benzeri, karışık granüler(endozomlar, lizozomlar, GW/P cisimcikleri (processingbodies)), çomak ve halka (rodandrings; RR) paternleri görülebilir (8).

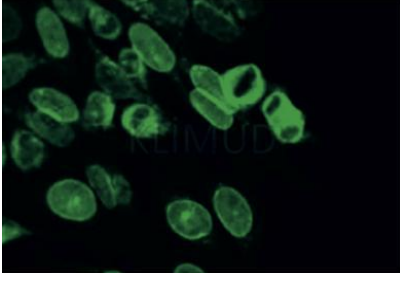
2.8.1.3. Mitotik paternler (AC-24'ten AC-28'e kadar)

Hücre bölünmesi esnasında görülür. Bu boyanma mitozun farklı evrelerinde görülebilse de en belirgin görünüm metafaz evresinde iğ iplikleri ve sentrozom/sentriollerin boyanması şeklindedir. Sentrozom, iğsi iplikçikler, hücreler arası köprü, mitotik kromozomal bu grup içinde yer alan boyanma paternleridir (8,26).

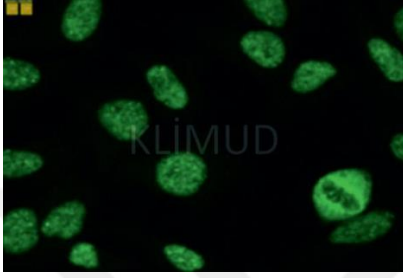
Farklı ANA IIFAHEp-2 (x40) boyanma paternlerine ait örnekler aşağıdaki şekillerde görülmektedir(Şekil 6-17) (26).



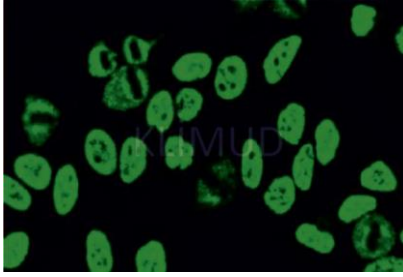
Şekil 6. Homojen boyanma paterni.



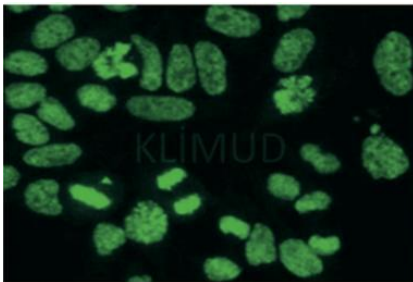
Şekil 7. Nükleer membran paterni



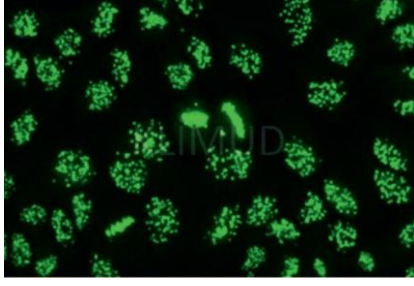
Şekil 8. İnce benekli boyanma paterni.



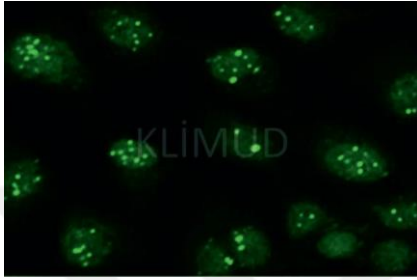
Şekil 9. Kaba benekli boyanma paterni.



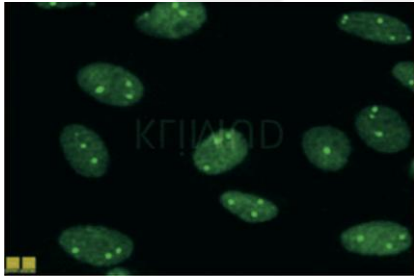
Şekil 10. Yoğun ince benekli boyanma paterni.



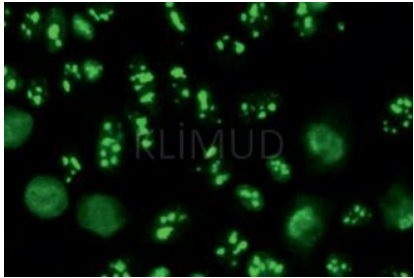
Şekil 11. Sentomer paterni.



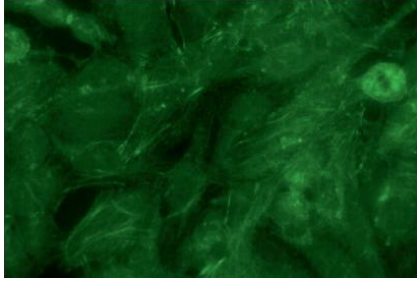
Şekil 12. Çok sayıda nükleer noktalı patern.



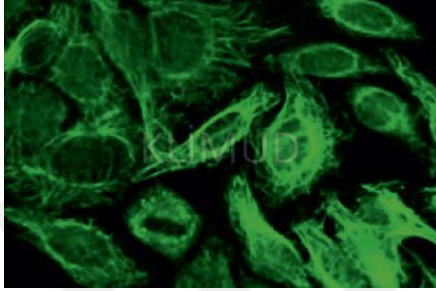
Şekil 13. Az sayıda nükleer noktalı patern.



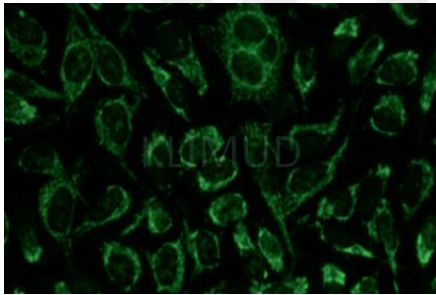
Şekil 14. Nükleolar patern.



Şekil 15. Sitoplazmik anti-F-aktin benzeri boyanma.



Şekil 16. Anti-tropomiyozin benzeri boyanma.

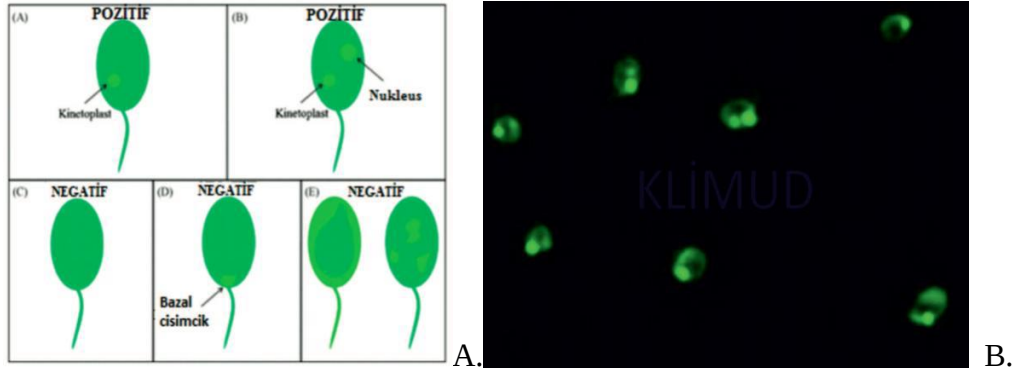


Şekil 17. Anti-mitokondriyal antikor benzeri boyanma.

2.8.1.4. Anti-çift iplikli DNA (Anti ds-DNA) antikorları

Anti-dsDNA, doğal (çift iplikli; doublestranded) DNA'nın deoksiriboz fosfat omurgasında bulunan antijenik yapılara karşı gelişen bir otoantikordur. Bu antikorlar en sık SLE hastalığında tespit edilir ki bu hastalığın hem tanısında hem de aktivitesinin izleminde oldukça önemlidir. *Crithidialuciliae*'nin substrat olarak kullanıldığı IIF testi, anti- dsDNA antikorlarının tespitinde altın standarttır (8).

Bu testte, anti-dsDNA'nın pozitif olduğu örneklerde *Crithidialuciliae*'da bulunan ve lateralde yerleşik olan kinetoplastlarda homojen boyanma görülür. *Crithidialuciliae* IIF yöntemi ile anti-dsDNA antikorlarının değerlendirilmesi Şekil 18'de gösterilmiştir (26).



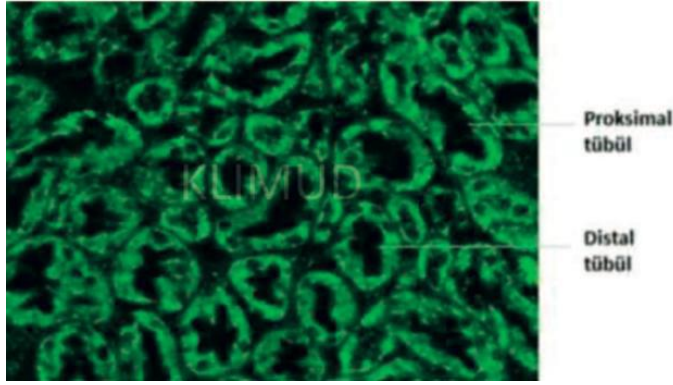
Şekil 18. Anti-dsDNA antikorlarının değerlendirilmesi (26).

A. *Crithidia luciliae* IIF yöntemi ile anti-dsDNA antikorlarının değerlendirilmesi.
B. Anti-dsDNA pozitif örnek.

2.8.1.5. Anti-mitokondriyal antikorlar (AMA)

Anti-mitokondriyal antikorlar, mitokondrinin yapısında yer alan M1-9 proteinlerine karşı gelişir ve primer biliyer kolanjit (PBK) hastalığında tanı koydurucu bir göstergedir. Başta AMA-M2 olmak üzere, AMA-M4, AMA-M8 ve AMA-M9 PBK tanısında değerli markerlardır. AMA-M2'deki hedef antijenler mitokondrinin iç membranında yer alan pirüvat dehidrojenaz E2 (PDC-E2), 2-oksoglutarat dehidrojenaz (OGDC) ve dallı zincirli 2-okso-asit dehidrojenazdır (BCOADC).

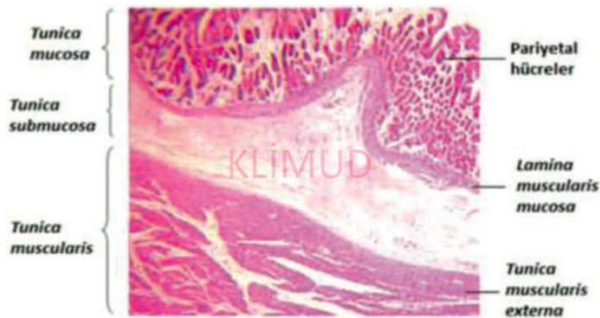
Bu antikorların varlığında HEp-2 hücrelerinin kullanıldığı IIF testinde, sitoplazmik retiküler (benekli)/anti-mitokondriyal antikor benzeri boyanma görülebilir. Fakat böbrek dokusu, AMA'nın var olup olmadığını göstermek için kullanılan esas dokudur. Bu yöntemde böbrek kesitlerinde hem proksimal hem de distal tübüllerde bulunan hücrelerde benekli tarzda boyanmalar izlenir (Şekil 19) (8,26).



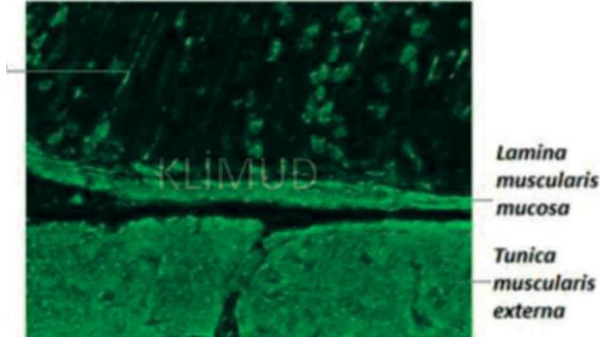
Şekil 19.AMA pozitifliğinde böbrek kesitlerindeki boyanma (26).

2.8.1.6. Anti-düzkas antikorları (ASMA)

Bu antikorların hedef olarak gördüğü en sık antijen yapısı, hücre iskeletinde yer alan mikrofilamanlardan biri olan filamentöz aktindir (F-aktin) ve tip-1 Otoimmün hepatitin önemli bir belirticidir. ASMA'nın tespitinde IIF yöntemi kullanılır. IIF yönteminde HEp-2 hücreleri kullanıldığında, sitoplazmada lineer fibriller boyanma görülür; sitoplazma fibriller (lineer; anti-F-aktin benzeri) boyanma paterni. Fakat HEp-2 hücrelerindeki bu görüntü F-aktin antikor varlığını kanıtlamada duyarlılığı yüksek değildir. Bu sebeple ASMA varlığını göstermek için sıçan ya da fare mide kesitleri kullanılır (Şekil 20). Mide kesitinde; midenin tunica muscularis ve lamina muscularis mukosa tabakalarındaki düz kas hücrelerinde "ağaç kabuğu ya da kurumuş toprak " şeklinde boyanma görülür. Ayrıca tunika mukozada bulunan kontraktıl interglandüler fibrillerin boyanması da bu paterne eşlik eder (Şekil 21) (8,26).



Şekil 20.Mide kesitinin histolojik görünümü (26).



Şekil 21. ASMA pozitifliği (26).

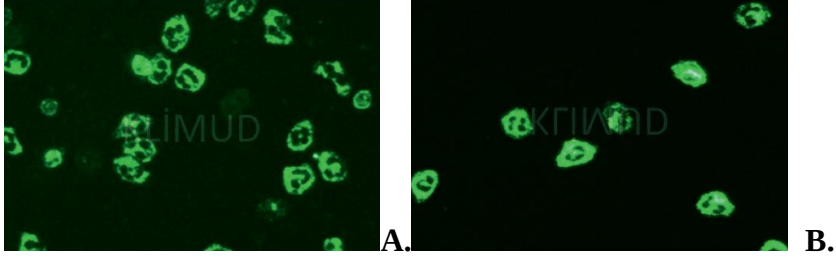
2.8.1.7. Anti-nötrofil sitoplazmik antikorları (ANCA)

Anti-nötrofil sitoplazmik antikorları, monositlerin lizozomları ve nötrofillerin primer granüllerine karşı gelişen ve genellikle IgG tipinde olan otoantikorlardır. ANCA'nın tespit edilmesinde IIF ve ELISA yöntemleri birlikte kullanılmaktadır (70).

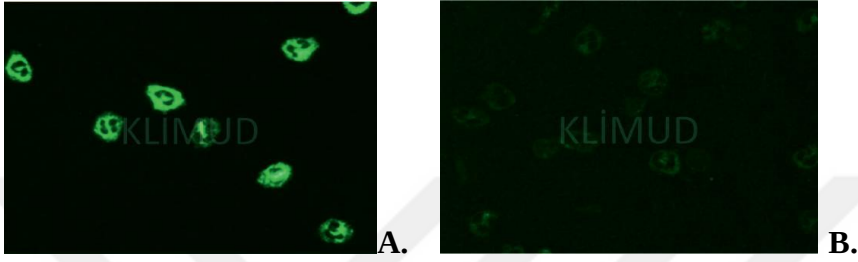
Anti-nötrofil sitoplazmik antikorların IIF yöntemi ile tanısında etanolle fikse edilen nötrofil preparatları kullanılır (71). Substratın etanol ile fikse edildiği preparatlarda perinükleer-sitoplazmik ayrımı yapıldıktan sonra formalin ile fikse edilmiş granülosit substratı değerlendirilir. Formalin, granüllerin göç etmesine izin vermez ve granüller sitoplazmada oldukları yere sabitlediği için floresan boyanma sadece sitoplazmada dağınık şekilde görünüm izlenir. Ancak bazı ANCA tipleri, formaline duyarlı oldukları için formalinle fikse edilmiş granülositlerde granüllerin saptanmadığı (ANCA pozitif-formaline duyarlı) görülür (26).

Anti-nötrofil sitoplazmik antikorlar IIF yöntemindeki görünümüne göre; c-ANCA, p -ANCA, atipik ANCA gibi çeşitli boyanma paternlerine ayrılmıştır (70).

A) c-ANCA: Sitoplazmadaki yaygın boyanma ile karakterizedir, interlobüler belirginleşme ve sitoplazmik granüller şeklinde floresans verir. Bu patern anti-PR3 (serin proteaz proteinaz-3) antikorlarının varlığını gösterir (8,70,72).

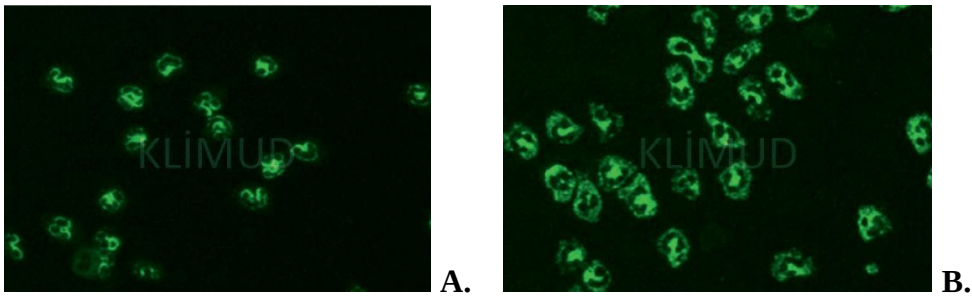


Şekil 22.c-ANCA formalin dirençli (PR3 ANCA);
A.Etanolle fikse granülositler (x40), **B.** Formalinle fikse granülositler(x40) (26).

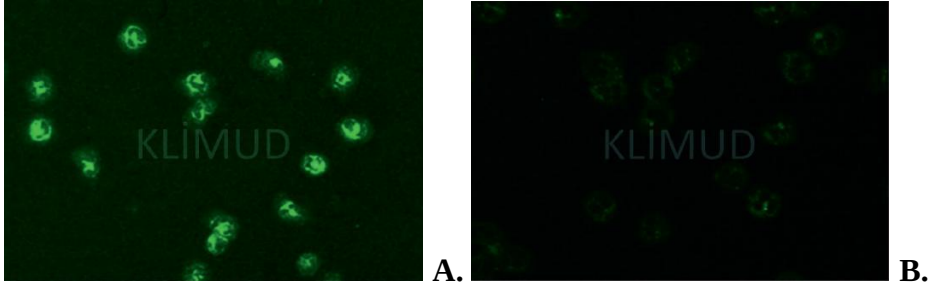


Şekil 23.c-ANCA formalin duyarlı;
A.Etanolle fikse granülositler (x40), **B.** Formalinle fikse granülositler (x40) (26).

B) p-ANCA: Nükleusun çevresinin boyanması ile karakterize olup perinükleer floresans verir. Myeloperoksidaza (MPO) karşı gelişen anti-MPO (mieloperoksidaz) antikorlarının varlığını gösterir. Ayrıca elastaz, katepsin-G, laktoferrin, lizozim ve azurosidin yapıları karşı meydana gelen antikorlar da bu paternde izlenirler (8,70).



Şekil 24.p-ANCA formalin dirençli (MPO ANCA);
A.Etanolle fikse granülositler (x40), **B.** Formalinle fikse granülositler (x40) (26).



Şekil 25.p-ANCA formalin duyarlı;

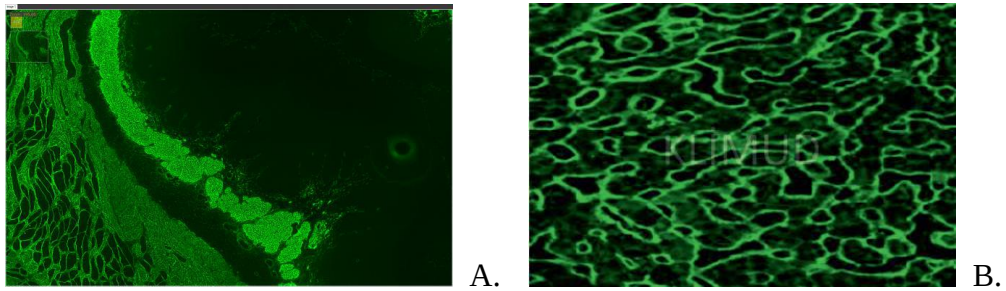
A.Etanolle fikse granülositler (x40), **B.** Formalinle fikse granülositler (x40) (26).

C) Atipik ANCA: Sitoplazmik ve perinükleer floresansın birlikte görüldüğü, daha nadir olarak karşılaşılan paterndir. Atipik-ANCA paternlerine geniş bir hastalık grubunda rastlanılmaktadır. En önemlileri inflamatuvar barsak hastalıkları, sistemik immünite ilişkili hastalıklar ve enfeksiyonlardır. Hedef antijenleri genellikle bakteriyel permeabilite inhibe eden protein (BPI)'idir (26,70,72).

2.8.1.8. Endomisyumve gliadinantikorları

Çölyak hastalığı ya da glutene duyarlı enteropati olarak bilinen hastalığın serolojik tanısında endomisyum ve gliadinantijenlerine karşı gelişen IgG ve özellikler IgA tipi antikorların tespiti önemlidir. Yöntem olarak IIF ve Elisa kullanılır.

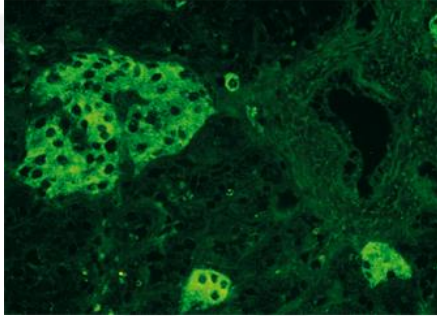
Endomisyum antikorlarının IIF tespitinde substrat olarak primat distal özofagus dokusu veya primat karaciğer kesitleri kullanılmaktadır. Yöntemdeki ilgili olan antijenler; endomisyum ve doku transglutaminaz enzimidir. Maymun özofagusu distal dokusunda düz kas hücrelerinde boyanma, maymun karaciğer dokusunda ise intralobüler sinüzoidlerde filamentöz ayrımlarda ince bir hat şeklinde boyanma izlenir (Şekil 26). Anti-gliadin tespitinde ise gliadin ile kaplanmış eritrositler ya da gluten granülleri kullanılmaktadır (8,26).



Şekil 26. Anti-endomisyum antikorları;
A. Maymun özofagusu (x20), B. Maymun karaciğeri (x40) (26).

2.8.1.9. Adacık hücre (isletcell) antikorları

Adacık hücre antikorları (ICA), farklı adacık antijenlerine karşı gelişmiş genellikle IgG yapısında olan poliklonal antikorlardır. ICA'nın tespiti indirek immun floresan yöntemi kullanılarak yapılır (73). Bu otoantikorlar, tip 1 diyabette pankreas otoimmünesinin ana belirticidir ve tip 1 diyabetli hastaların tanısını koyma da tip 1 diyabetin başlangıcı öncesinde riskli bireylerdeki hastalık tahmini için izlenen otoimmün yanıtın temel parametreleridir (74).



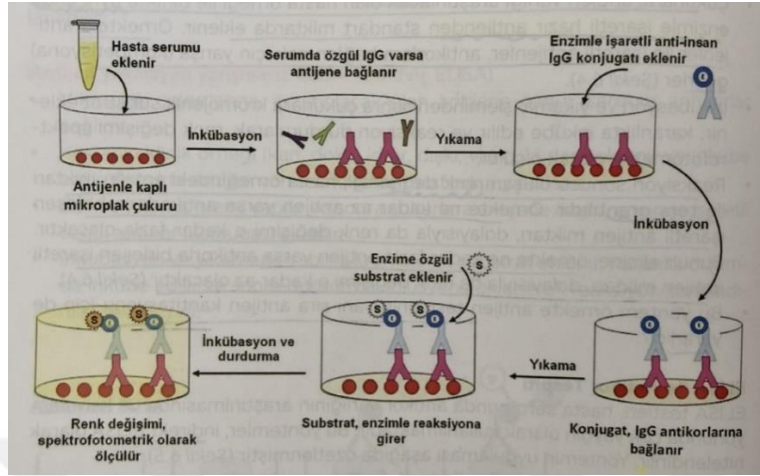
Şekil 27. Adacık hücre antikoru (75).

2.8.2. Enzime bağlı katı faz yöntemleri(ELISA)

Otoimmün hastalıklarda nükleer veya sitoplazmik antijenlere karşımeydana gelen spesifik otoantikorların tanımlanmasında yaygın olarak ELISA yöntemi kullanılmaktadır (59).Bu yöntem, serumdaki antikorlarınvarlığını ve miktarını saptayarak otoimmün hastalıkların tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bazı otoimmün hastalıklarda otoantikorların titre takibinin yapılması sağlayarak hastalığın aktivitesinin belirlenmesine yardımcıdır (76,77).

Yöntemin işleyiş prensibinde antijen ve antikor bağlanması özgül olduğundan elimizde özgül olduğunu bildiğimiz antijen varsa bu antijen ile örneklerdeki antikorun var olup olmadığını, varsa tipini ve miktarını saptayabiliriz. En çok ELİSA (Enzyme–Linked–ImmunosorbendAssay) ya da EİA (Enzyme–Immun–Assay) adı ile bilinen bu yöntem; kompetitif ve non–kompetitif ELİSA, indirekt ELİSA, sandwich ELİSA, makro ve mikro–ELİSA, avidin–biyotin ekli ELİSA yöntemi gibi farklı şekillerde uygulanabilmektedir(47,78).

Spektrofotometrik olarak ölçülen bu yöntem ile hem kalitatif hem de kantitatif sonuçlar elde edilir (Şekil 28) (8).



Şekil 28. ELISA yöntemi ile antikor tespiti (8).

ELISA yöntemi uygulamasının kolay ve pratik olması, tam ve yarı otomatize sistemlerle çalışılabilmesi, çok sayıda serum örneğinin aynı anda kısa sürede çalışılabilmesine olanak sağlaması, ucuz ve tekrar edilebilir olması yöntemin önemli avantajlarındandır. Ayrıca sonuçların spektrofotometrik olarak objektif bir şekilde değerlendirilmesi gibi avantajları ile rutin laboratuvaralarda kullanımı yaygınlaşmıştır (26,64).

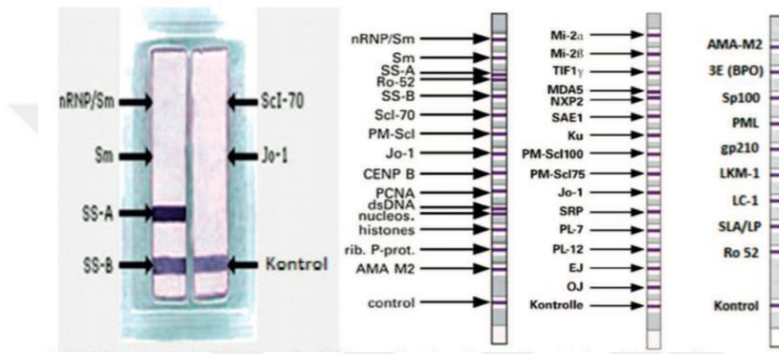
2.8.3. İmmünblot yöntemi

Bu yöntemde antijenler önceden hazırlanarak saflaştırılır sonrasında nitrosellüöz şeridin belirli noktalarına yerleştirilir. Şeritlerin üzerine hasta serumu eklenir ve serumdaki antikorlarla bu antijenlerin birleşmesi hedeflenir. Sonuçları kalitatif ya da semi kantitatif olarak verebilen in vitro bir tanı yöntemidir (8).

İmmünblot tekniği ile nükleer antijenlere karşı gelişen antikorların alt grupları birbirinden ayrılarak bu antikorların saptanabilme olanağı sağlanır. Bu altgruplar bazı otoimmün hastalıkların varlığını gösterir (79).

Sistemik romatolojik hastalıklara tanı koymak için ANA tespitine olan ilginin önemli bir şekilde artması sonucu immünblot yönteminin klinik laboratuvarlarda yer alması sağlanmıştır. Bu yöntem, otoantikorların moleküler olarak spesifitesini belirlemek için bir sonraki aşamadır (57,64).

İmmünoiblot yöntemi; ekstrakte edilebilir nükleer antijenlere (nRNP/Sm, Sm, SS-A, SS-B, Scl-70 ve Jo-1) karşı meydana gelen otoantikorların belirlendiği “**ENA paneli**”, ENA panelindeki antijenlere ilave olarak daha farklı anti-nükleer antijenlere karşı oluşan antikorların da belirlenmesini sağlayan “**ANA paneli**”, otoimmün karaciğer hastalıklarında bulunan antijenlere yönelik gelişen antikorların belirlenebildiği “**otoimmün karaciğer paneli**” ayrıca nöronal antikorların varlığının gösterilebilmesi için kullanılan “**miyozit paneli**” gibi paneller olarak hazırlanabilir (Şekil 29) (26).



Şekil 29. Sırası ile; ENA paneli, ANA paneli, miyozit paneli ve otoimmün karaciğer paneline ait örnekler (26).

İmmünoiblot yöntemi, hedef antijene karşı meydana gelen antikorların özgül ve duyarlı bir şekilde tespit edilmesini sağlar. Kolay uygulanabilirliği, bir test stribinde farklı antikorların saptanabilirliği ve gözle ya da otomatize sistemlerle değerlendirilebilir olması immünoiblot yönteminin avantajları arasındadır. Fakat yüksek maliyeti, teknik hatalar sonucu vesolüsyonların saklanma koşullarındaki aksaklıklara bağlı yalancı pozitiflik verebilmesi ayrıca sonuçların kantitatif olarak verilememesi yöntemin önemli dezavantajlarıdır (26,79).

2.8.4. Mikroarray

Nano teknolojiyi kullanan mikroarray yöntemi halen gelişmekte olan bir teknoloji olup otoantikorların belirlenmesinde ve değerlendirilmesinde umut vaat edicidir. Sentezlenen antijenler polisteren üzerine fiks edilir; önce serum örnekleri olmak üzere sonra da horseradish peroksidaz, konjuge sekonder antikorlar ve kemilüminesans substratlarla inkübasyonu yapılır. Oluşan ışık sinyalleri okuyucu bir çip tarafından emilir ve antikorlar kalibrasyon eğrileri aracılığıyla ölçülür.

Yöntemin avantajları; tam otomatize sistemlere uyumlu performans göstermesi, etkin maliyeti olması ve antikör düzeylerinin doğru olarak ölçülebilmesidir. Ayrıca mikroyarray yöntemi ile elde edilen sonuçlar laboratuvarında mevcut olarak kullanılan diğer yöntemlerden alınan sonuçlar ile de uyumludur (80,81).

2.9. Koronavirüsler

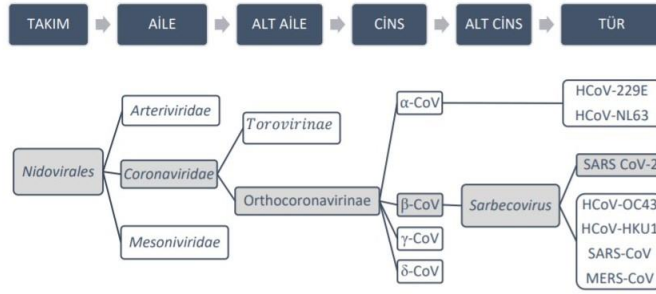
2.9.1. Koronavirüs tarihçesi

Koronavirüsler (CoV); köpek, kedi, yaras, domuz, kanatlılar ve kemirgenler gibi hayvanlarda bulunabilen, bu hayvanlardan insanlara bulaşarak solunum ve gastrointestinal sistem infeksiyonlarına yol açabilen zoonotik viral patojenlerdir. 2019 yılının Aralık ayında Çin'in Hubei eyaleti, Wuhan şehrinde, deniz ürünleri ve canlı hayvan pazarında bulunan kişilerde etkeninin bilinmediği atipik pnömoni vakalarındaki artışın bildirilmesi üzerine etkenine yönelik çalışmalar yapılmıştır. 7 Ocak 2020'de, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) bu etkenin insanlarda infeksiyona neden olan yeni bir koronavirüs olduğunu açıklamıştır. Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi tarafından etken virüs, **şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü-2 (SARS-CoV-2)** şeklinde adlandırılmış ve **Coronavirus disease-2019 (COVID-19)** şeklinde virüsün yol açtığı hastalık tanımlanmıştır (82,83).

2.9.2. Koronavirüs taksonomisi, genomu ve virolojik özellikleri

Koronavirüsler zarflı, büyük, helikal simetrik ve pozitif polariteli, segmentsiz, 65-125nm çapında RNA virüsleridir. Tek sarmallı ve 30 kbp uzunluğunda olan RNA genomu içerir. Genom olarak büyüklüğü ve genetik kompleks yapısı ile şu ana kadar tespit edilmiş en büyük RNA virüsüdür. Elektron mikroskopunda görünen taç benzeri yapısından dolayı Latince taç anlamına gelen **“corona”** adı verilmiştir. *Nidovirales* takımı, *Coronaviridae* ailesi, *Orthocoronavirinae* alt ailesi içerisinde yer alan Koronavirüsler; Alfa, beta, gama ve delta olmak üzere dört cinse sahiptir (Şekil 30). Bunlardan insanlarda enfeksiyon oluşturan insan koronavirüsleri (HCoV); alfa (HCoV-229E ve HCoV-NL63) ve beta (HCoV-HKU1, HCoV-OC43, MERS-CoV, SARS-CoV ve SARS-CoV-2) cinslerine aittirler (84). Bu insanları enfekte eden yedi farklı CoV suşundan; insanların dolaşımında olan HCoV, HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-HKU1 ve HCoV-OC43

suşları, genellikle soğuk algınlığına benzer hafif ve kendini sınırlayan üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olurken SARS-CoV, MERS-CoV ve SARS-CoV-2 şiddetli akut solunum sendromuna neden olarak hayatı tehdit eden hastalıklara neden olmuşlardır (84-87).

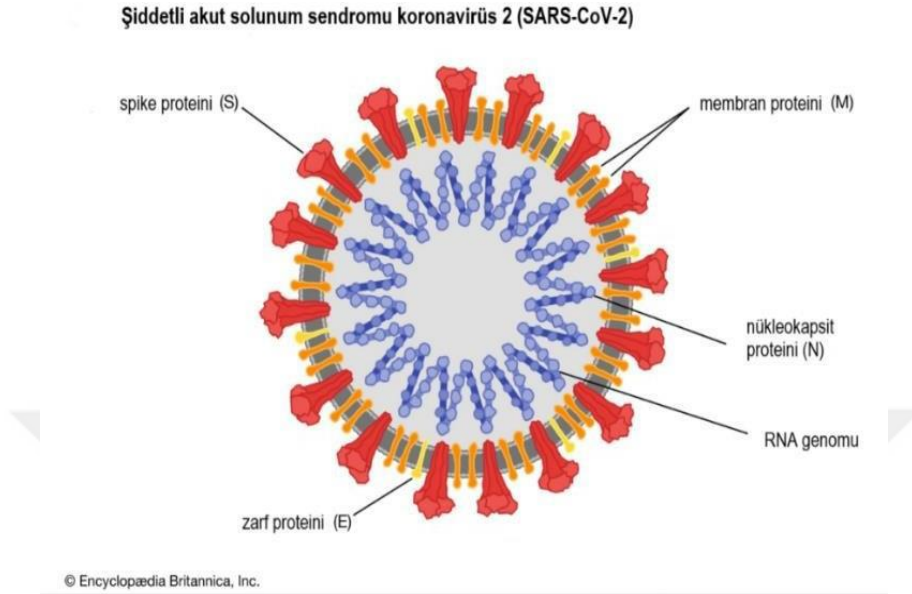


Şekil 30.Koronavirus taksonomisi (88).

Koronavirüsün genomunda yapısal olarak başlıca dört tane protein kodlanır (Şekil 31):

- **Spike (S) proteini;** konak hücreye tropizmi belirleyen önemli bir viral proteindir ve viral genomda S1, S2 subunitlerinden oluşur. S1 alt birimi, konak hücre reseptörüne bağlanmada görevliken, S2 alt birimi membran füzyonunda görev alır.
- **Membran (M) proteini;** virionda en bol bulunan proteindir. M proteinleri golgi aygıtında glikozile edilerek modifikasyona uğrarlar. Proteinin bu şekilde modifikasyonu virionun hücre içine füzyonu ve proteinin antijenik özellik kazanması açısından önemlidir. Ayrıca hücre içindeki virionların yenilenmesinde M proteininin önemli bir rolüdür (85).
- **Nükleokapsid (N) proteini;** çok fonksiyonlu bir proteindir. Viral genom ile karmaşık oluşumda görev almakla birlikte, virüs parçacığının düzenlenmesi esnasında gerek duyulan M protein ile etkileşimi kolay hale getirir ve virüsdeki transkripsiyon etkinliğini artırmayı sağlar (89,90).
- **Zarf (E) proteini;** ana yapısal proteinlerden en küçük olanıdır (91). Viral parçaların bir araya getirilmesinde, virüsün salınımı ve patogeneğinde görev alır. Tomurcuklanma şeklinde virüsün hücreden ayrılmasında rolü olan önemli bir virülans faktörüdür (85,92). Bunlarla birlikte, HCoV-HKU1 ve HCoV-OC43

betakoronavirüsleri hemaglütinin esteraz glikoproteine sahiptir ve bu yapı konakçı membranına bağlanmanın ilk aşamasında görevlidir (93).



Şekil 31.SARS-CoV-2'nin moleküler yapısı (94).

2.9.3. SARS-CoV-2'nin (COVID-19) klinik patolojisi

Virüsün bulaştırıcılığının en çok olduğu dönem, solunum yollarındaki viral yükün en yüksek bulunduğu dönemdir (95).

İnkübasyon süresi ortalama olarak 4-5 gündür ancak 14 güne kadar uzayabilmektedir (96). COVID-19 hastaları ile klinik olarak; asemptomatik enfeksiyondan kritik ve ölümcül hastalığa kadar uzanan çeşitli tablolarda karşılaşılabilir (97). COVID-19'da semptomlar olarak ateş, kuru öksürük, nefes darlığı, miyalji ve yorgunluk iken daha az sıklıkla da burun tıkanıklığı, burun akıntısı, kusma ve ishal görülür (98,99). Aynı zamanda hastalarda baş ağrısı, titreme, boğaz ağrısı, tat ve koku duyu kaybı da izlenebilmektedir. COVID-19 hastalığının seyri, SARS ve MERS'te olduğu gibi 50 yaşın üzerindeki yaş gruplarında daha ciddidir. İleri yaş (≥ 80), hipertansiyon, diyabet, kardiyovasküler hastalık, kanser ve kronik akciğer hastalıkları gibi sistemik hastalığa sahip olmak hastalardaki mortalite oranını yükseltmektedir (100,101).

COVID-19'li hastalarda en sık solunum yetmezliği olmak üzere kardiyovasküler komplikasyonlar, pıhtılaşma bozuklukları, nörolojik ve İnflamatuvar komplikasyonlar ile ikincil enfeksiyonlar başlıca karşılaşılan komplikasyonlardır (99).

2.9.4. COVID-19 tanı yöntemleri

COVID-19 salgınının mücadelesinde halen en etkili ve geçerli yöntem olarak virüsün yayılımı olabildiğince azaltılmalıdır. Bu da virüsü taşıyan semptomatik ve/veya asemptomatik olan tüm kişilerin en kısa sürede, doğru bir şekilde tespit edilmesini sağlayan tanı yöntemleri aracılığı ile gerçekleşir. COVID-19'un laboratuvar tanısını koymak için dünya çapında genel olarak nükleik asit amplifikasyon yöntemleri [gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu(RT-PCR)],serolojik testler ve bilgisayarlı tomografi bulguları sıklıkla kullanılan yöntemlerdir. (102,103)

DSÖ yayınladığı rehberde, virüsün spesifik bir gen dizilimini çoğaltan nükleik asit temelli polimeraz zincir reaksiyonu testini SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tanısında doğrulama için önermektedir(104).

2.9.5. COVID-19 Tedavisi ve korunma

COVID-19 hastalarının tedavisinde kullanılan farmakoterapötikler; antiviral ilaçlar, antibiyotikler, sistemik kortikosteroidler ve anti-inflamatuvar ilaçlar, nöraminidaz inhibitörleri, RNA sentezinhibitörleri ve konvelesan plazma tedavisidir (105).

COVID-19 salgının kontrol altına alınmasında önemli basamaklar; korunma, temaslı takibinin yapılması, karantina, izolasyon, olguların tedavisive aşı uygulamalarıdır. Hastalıktan korunmadaki en önemli basamak virüse maruz kalmamaktır. Sağlıklı, asemptomatik veya hastatüm bireylerin korunma önlemlerine sıkı sıkıya uyması bulaşı önlemede büyük önem taşımaktadır (106).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Mart 2018-Mart 2022 tarihleri arasında Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na çeşitli kliniklerdeki hastalardan otoimmün hastalık şüphesi ile gönderilen serum örnekleri dahil edildi. İndirekt immunofloresan antikor parametreleri ve aynı hastalardan bu süreçte laboratuvarımızda COVID-19 PCR testi çalışılan örneklerin sonuçları, hastanemizin otomasyon sisteminden elde edilerek retrospektif olarak değerlendirildi.

3.1. IIFA Yönteminin Uygulanması ve Prensibi

Otoimmün test parametrelerinden; ANA, anti-dsDNA, AMA, ASMA, anti-endomisyum, anti-gliadin, anti-ICA, p-ANCA, c-ANCA testleri çalışmaya dahil edildi. Bu testler için IIFA yöntemiyle üretici firmanın (Euroimmun AG, Lubeck, Germany) önerilerine göre çalışıldı.



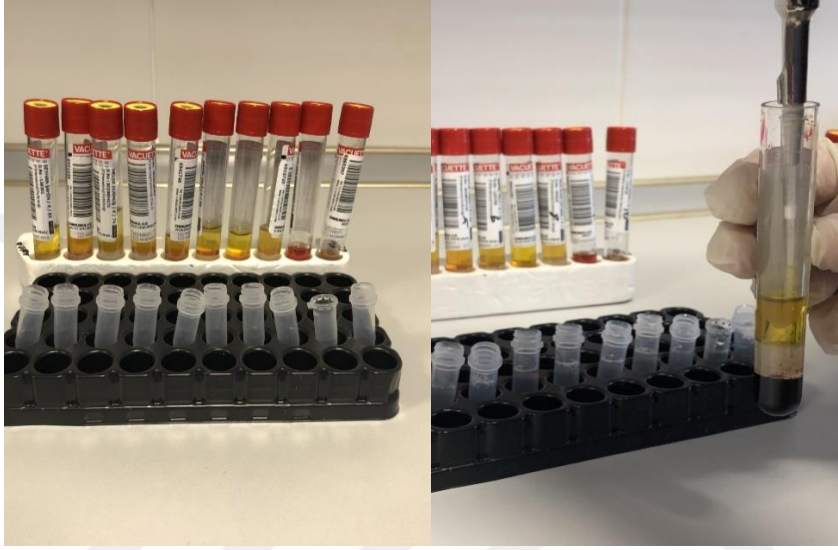
Şekil 32. Euroimmun marka IIF için kit içeriği

3.1.1.IIFA çalışma prosedürü

Üretici firmanın immünolojik analizleri standardize etmek için geliştirdiği TITERPLANE tekniği ile hazırlanmış BIOCHIP slaytları kullanıldı.

Çalışmaya başlamadan önce hastalara ait serum örnekleri ve çalışma kitleri oda sıcaklığına getirildi.

Pipetleme: Pipetleme işlemi öncesindeki seyreltme işleminde çalışılan test türüne göre hasta serumları tampon çözeltisi ile; ANA için 1/100, anti-dsDNA için 1/10, AMA için 1/100, ANCA için 1/10, ASMA için 1/100, anti-Endomisyum için 1/10, anti-Gliadin için 1/10, anti-ICA için 1/10 oranlarında dilüe edildi. 30 μL seyreltilmiş numune, hava kabarcığı oluşumundan kaçınarak reaktif tepsisindeki reaksiyon alanlarına pipetlendi (Şekil 34,35).



Şekil 33. Hasta örnekleri ve dilüsyon aşaması.



Şekil 34. Trayın üzerindeki kuyucuklara dilüe örneğin pipetlenmesi.

İnkübasyon: BIOCHIP slaytlarını reaktif tepsisinin karşılık gelen girintilerine yerleştirerek reaksiyonlar başlatıldı. Her numunenin BIOCHIP ile temas

ettiğinden ve numunelerin birbiriyle temas etmediğinden emin olundu. Oda sıcaklığında (+18 °C ila +25 °C) 30 dakika inkübe edildi.

Yıkama: BIOCHIP slaytlarının üzerlerine bir beher aracılığı ile PBS-Tween dökerek durulandı ve hemen ardından PBS-Tween içeren bir küvete daldırılarak en az 5 dakika bekletildi. Slaytlar yıkandı ve ardından PBS-Tween'i yeni tamponla değiştirildi.

Pipetleme: 25 μL konjugatı, temiz bir reaktif tepsisindeki reaksiyon alanlarına pipetlendi (Şekil 36).



Şekil 35. Konjugatın trayın üzerine damlatılmış hali.

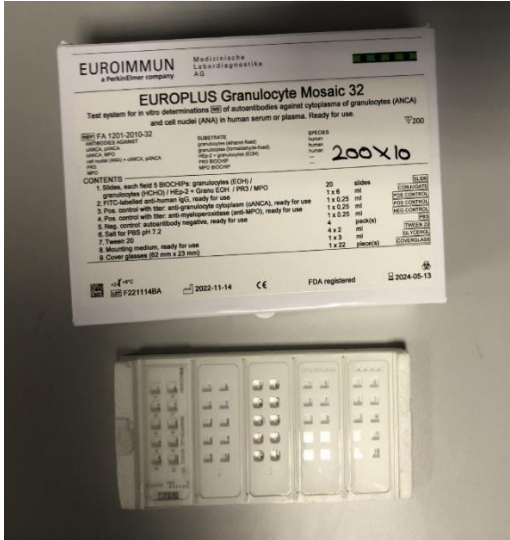
İnkübasyon: Küvetten bir BIOCHIP slaytı çıkartıldıktan sonra beş saniye içerisinde bir kağıt havlu ile yalnızca arka ve uzun kenarları kurulandı ve BIOCHIP slaytı hemen reaktif tepsisinin girintilerine yerleştirildi. Oda sıcaklığında (+18 °C ila +25 °C) 30 dakika inkübe edildi.

Yıkama: Küvet yeni PBS-Tween ile dolduruldu. BIOCHIP slaytları bir beher aracılığı ile üzerlerine PBS-Tween dökülerek durulandı ve yeni PBS-Tween içeren bir küvete koyulup en az 5 dakika bekletildi (Şekil 37).



Şekil 36. Slaytların PBS-Tween içeren küvette beklemesi.

Kapama: Kapama medyumunu lamelle pipetlendi. BIOCHIP slaytı PBS-Tween'den çıkarıldı, arkası ve dört kenarı bir kağıt havlu ile kurulandıktan sonra BIOCHIP slaytı, BIOCHIP'ler aşağıya bakacak şekilde hazırlanmış lamele yerleştirildi (Şekil 38).



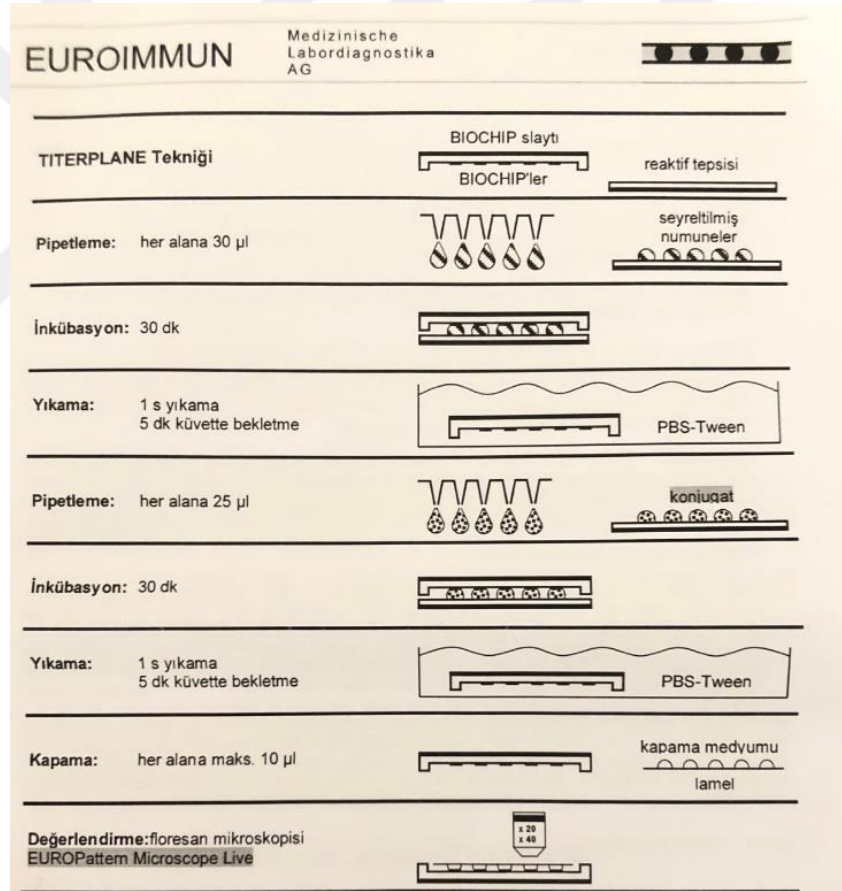
Şekil 37. Kapama işlemi; BIOCHIP slaytının lamele yerleşmiş hali.

Değerlendirme: EuroimmunEurostar (Euroimmun AG, Lubeck, Germany) floresan mikroskopu kullanılarak, x20 ve x40 büyütme ile değerlendirildi (Şekil 39). Bu aşamada çalışılan parametreler için pozitiflik ve negatiflik sonucunun yanısıra ANA testinde hücre nükleusuna ait paternler ve sitoplazmik paternler

belirlendi. Sonuçlar slaytlarda izlenen floresan şiddetine göre kalitatif olarak (+, ++, +++, +++) ve boyanma paternine göre ayrıntılı olarak rapor edildi.



Şekil 38. Bilgisayar ve monitöre bağlı EUROStar floresan mikroskobu.



Şekil 39. EUROIMMUN, indirekt immunofloresan testi için kullanım talimatı (Kit prospektüsünden alınmıştır).

3.2. COVID-19 PZR testi uygulanması ve çalışma prensibi

Laboratuvarımızda SARS-CoV-2'ye ilişkin hastalara ait nazofaringeal sürüntü örnekleri çalışmaya dahil edildi ve tanı koymak amaçlı; kantitatif gerçek zamanlı PZR (RT-qPCR) yöntemi uygulandı. Bu yöntem için, hedef gen bölgelerine özgü tasarlanmış işaretli oligonükleotidler kullanılarak gerçekleştirilen multiplex tabanlı kantitatif PZR kiti olan DS CORONEX COVID-19 (Ver.2.0) kullanıldı (Şekil 41). Bu kitte SARS-CoV-2'ye spesifik 'Orflab' ve 'N' genleri ile internal kontrol amacıyla insan 'RNaseP' (Ribonuclease P) genleri hedef alınmakta olup internal kontrol olarak kullanılan RNaseP geni sayesinde numune kaynaklı reaksiyon inhibisyon kontrolü ve kit reaktif kontrolü sağlandı. Testler laboratuvarımızda bulunan Anatolia GeneworksMontania 4896 cihazı ile çalışıldı.



Şekil 40.DS CORONEX COVID-19 kiti.

3.2.1. COVID-19 gerçek zamanlı kantitatif PZR çalışma prosedürü

Numunelerin hazırlanması: Örnekler üreticinin viral RNA ekstraksiyon kitlerinin ve nükleik asit ekstrakte edici sıvılarının protokolüne göre hazırlandı. Bu şekilde hazırlanan örnekler, reaksiyon için doğrudan kalıp nükleik asit olarak kullanıldı.

Reaktanların hazırlanması: Kullanımdan önce gerekli reaktanların buz üzerinde çözünmesi sağlandı. Ardından pipetleme yapmak suretiyle iyice karıştırıldı. Çalışılacak test sayısına göre PZR bileşenlerinin karışımı hazırlandı ve her çalışma için hem negatif hem de pozitif kontrol kullanıldı. Reaktanların karışımı RNaz içermeyen bir santrifüj tüpünde aşağıda yer alan Tablo 1.'deki gibi hazırlandı.

Tablo 1.Reaktanların karışımı (Kit prospektüsünden alınmıştır).

Bileşen	Kapak Numarası	Miktar (μ l/reaksiyon)
DS CORONEX COVID-19 Mix E (RT-qPCR Master mix)	1	12,5 μ l
DS CORONEX COVID-19 PP1 (Orf1ab, N ve RnaseP genleri ve prob mix)	2	2,5 μ l
Toplam hacim	-	15 μ l

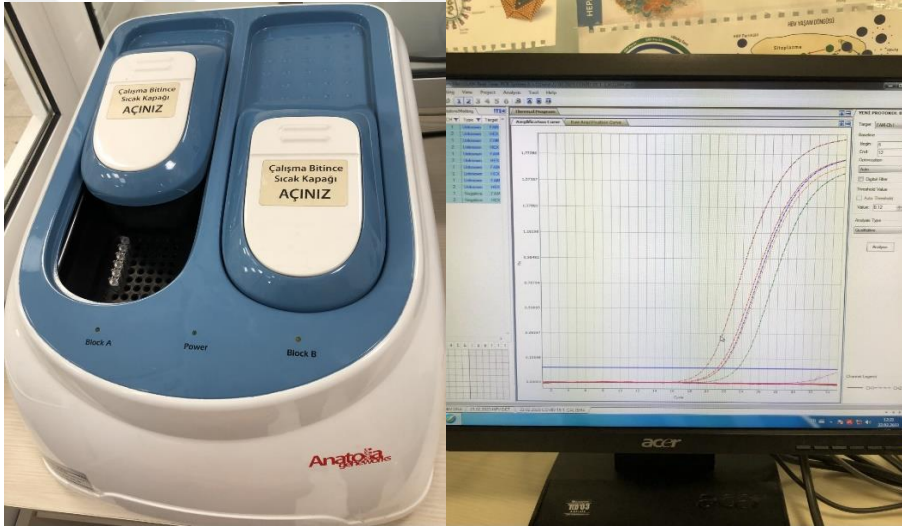
Hazırlanan karışım pipetlenme ile iyice karıştırıldıktan sonra PZR reaksiyon tüplerine 15 μ l’lik alikotlama yapıldı.

Numunelerin eklenmesi: 15 μ l hacimdeki PZR bileşenlerini içeren her bir PZR reaksiyon tüplerine, hazırlanan örnekten 5 μ l eklendi ve reaksiyon tüpleri sıkıca kapatıldı. Her reaksiyon için kontaminasyon kontrolünü sağlamak amacıyla “No-Template Control (NTC)” kullanıldı. Pozitif reaksiyon kontrolü ve reaktif stabilite kontrolü sağlamak için ise “DS CORONEX COVID-19 PTC” kullanıldı.

Gerçek zamanlı kantitatif PZR çalışma aşaması: Reaksiyon tüpleri laboratuvarımızda bulunan AnatoliaGeneworksMontania 4896 cihazına yerleştirildi ve cihaz aşağıda Tablo 2.’te belirtilen döngü protokolüne göre ayarlandı. Ardından cihaz üretici firmanın talimatlarına uygun şekilde çalıştırılarak reaksiyon uzun süre bekletilmeden başlatıldı.

Tablo 2. Gerçek zamanlı kantitatif PZR aşamasında döngü protokolü (Kit prospektüsünden alınmıştır).

Döngü	Sıcaklık	Süre
1	45 °C	5 dk
1	95 °C	1 dk
5	95 °C	5 sn
	55 °C	10 sn
35	95 °C	5 sn
	55 °C (Read)	1 sn



Şekil 41.AnatoliaGeneworksMontania 4896 cihazıve reaksiyon sonuçlarının yorumlanması.

Reaksiyon sonuçlarının yorumlanması: FAM (Hedef) ve HEX (Internal kontrol) kanallarından elde edilen eğrilerin şeklinin sigmoidal olması halinde C_q değerleri aşağıdaki şekilde değerlendirildi:

$C_{q_{HEX}} \leq 35$ ise; RNaseP (Internal kontrol) geçerli olarak değerlendirildi.

$C_{q_{FAM}} \leq 33$ ise; Orf1ab, N genleri (Hedef) geçerli olarak değerlendirildi.

“DS CORONEX COVID-19 PTC” FAM ve HEX kanallarındaki C_q sonuçları yukarıdaki değerlere göre geçerli çıktı ise ve “No-Template Control (NTC)” $C_{q_{HEX}}$ ve $C_{q_{FAM}}$ yok ise, sonuçlar aşağıdaki tabloya göre değerlendirildi.

Tablo 3. Reaksiyon sonuçlarının değerlendirilmesi (Kit prospektüsünden alınmıştır).

Orf1ab, N Genleri (FAM)	RnaseP Geni (HEX)	Sonuç
+	+ veya -	SARS-CoV-2 pozitif.
-	+	SARS-CoV-2 negatif.
-	-	Sonuç belirsiz, test tekrar edilmelidir.

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmadaki verilerin istatistiksel incelenmesinde IBM SPSS 22.0 paket programı kullanıldı. Verilerin türüne göre uygun tanımlayıcı istatistikler (ortalama, standart sapma, medyan, çeyrekler arası genişlik, yüzde) hesaplandı. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki- kare, Fisher FreemanHalton (post-hoc Bonferroni test) ve Fisher Exact testleriyle incelendi. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya, COVID-19 pandemisi öncesi iki yıl ve pandemi dönemindeki iki yılda otoimmün hastalık şüphesiyle IIFA testi için mikrobiyoloji laboratuvarına serum örnekleri gönderilen 8325 hastadan herhangi bir otoantikoru pozitif saptanan 2448 hasta dahil edildi. Pozitiflik saptanan hastaların 1684'ü (%68,80) kadın, 764'ü (%31,20) erkek olup yaş ortalamaları $41\pm19,44$ ' idi. Tüm hastaların genelinde ve ANA, AMA, Anti-ICA, ANCA testlerinin pozitiflik oranının kadınlarda erkeklerden fazla olduğu saptandı. Hastaların pozitiflik saptanan testlerinin cinsiyete göre değerlendirilmesi Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Pozitiflik saptanan testlerin cinsiyete göre değerlendirilmesi.

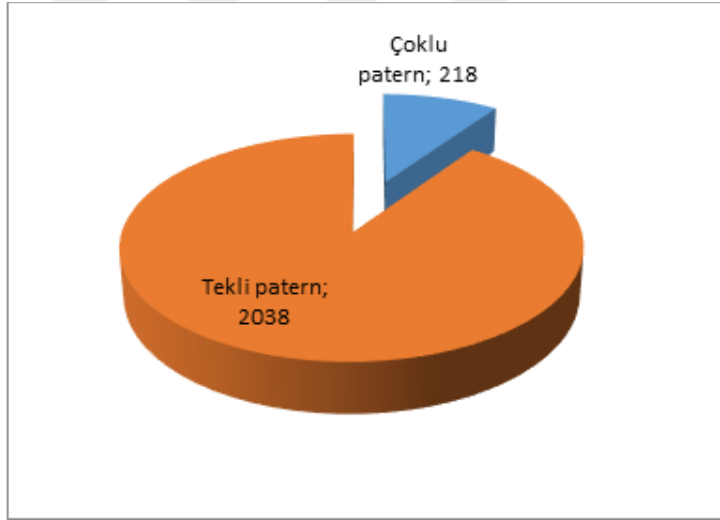
	Kadın		Erkek		p değeri
	n	%	n	%	
ANA	1563/5076	30,80	693/2600	26,66	<0,001
Anti-dsDNA	8/3139	0,25	0/1665	-	0,057
AMA	17/601	2,82	4/482	0,82	0,024
ASMA	12/673	1,78	12/535	2,24	0,569
ANCA	34/988	3,44	19/875	2,17	0,100
Anti-ICA	7/205	3,41	5/482	1,03	0,030
Anti-Endomisyum/Gliadin	43/1042	4,12	31/682	4,54	0,675
Toplam	1684/5505	30,59	764/2825	27,04	0,001

Pozitiflik saptanan 2448 hasta örneğinin, gönderildiği kliniklere göre incelendiğinde İç Hastalıkları ile Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon (FTR) bölümleri arasında fark olmadığı ve diğer bölümlere göre daha yüksek oranda pozitiflik olduğu saptandı. Pozitiflik saptanan örneklerin kliniklere göre dağılımı Tablo 5'te gösterilmiştir.

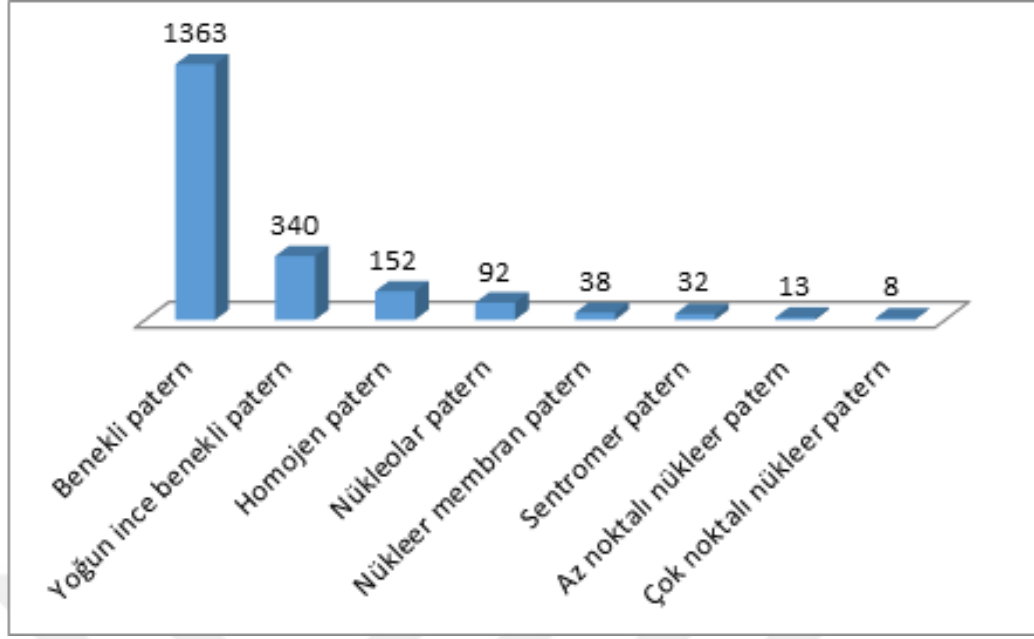
Tablo 5. Pozitiflik saptanan örneklerin kliniklere göre dağılımı.

Klinik Bölümler	n	%	p değeri
İç Hastalıkları	775	32	<0,001
FTR	721	29	
Dermatoloji	304	13	
Çocuk Hastalıkları	288	12	
Nöroloji	127	5	
Göğüs Hastalıkları	113	5	
Cerrahi Bölümler	58	2	
Enfeksiyon Hastalıkları	32	1	
Diğer	30	1	
Toplam	2448	100	

ANA pozitifliği, toplam 2256 hastada saptanmış olup bunlardan 2038'inin tekli, 218'inin çoklu patern olduğu görüldü (Şekil 43, Şekil 44).



Şekil 42. ANA pozitifliklerinin tekli ve çoklu patern dağılımı.



Şekil 43. Tekli paternlerin dağılımı.

ANA testi çalışılmış ve COVID-19 PZR pozitifliği saptanmış olan hastaların 41'inde ANA pozitifliği tespit edilmiş olup 30'u (%74) benekli, 6'sı (%15) yoğun ince benekli, 3'ü (%7) homojen, 1'i (%2) nükleer membran ve 1'i (%2) az noktalı nükleer patern olarak saptandı.

ANA pozitifliğinin zamana göre değişimini incelediğimizde, COVID-19 öncesi üçüncü altı aylık dönemde (Ekim 2018-Mart 2019) diğer COVID-19 öncesi dönemlere göre yüksek olduğu ($p < 0,001$), diğer üç altı aylık dönemlerde ise fark olmadığı ve tüm diğer zamanlardan düşük olduğu saptandı ($p = 0,176$).

ANA pozitifliğinin en yüksek oranda saptandığı dönem, COVID-19 pandemisinde ikinci altı aylık dönem olarak tespit edildi. İkinci en yüksek oranlar ise COVID-19 pandemi döneminde birinci ve üçüncü altı aylarda olup aralarında fark olmadığı görüldü ($p = 0,094$). COVID-19 öncesi üçüncü altı aylık dönemdeki pozitiflik oranı ile COVID-19 pandemisinin dördüncü altı aylık dönemi arasında ise fark saptanmadı ($p = 0,100$) (Tablo 6).

Tablo 6. ANA pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

ANA Pozitiflikleri	Zaman Aralıkları								
	COVID-19 Öncesi*				COVID-19 Sonrası**				
Altışar aylık oranlar	Nisan 2018 - Eylül 2018	Ekim 2018 - Mart 2019	Nisan 2019 - Eylül 2019	Ekim2019 - Mart2020	Nisan2020 - Eylül 2020	Ekim2020 - Mart 2021	Nisan2021 - Eylül2021	Ekim2021 - Mart 2022	p değeri
	248/1159 (21,4)	412/1344 (30,6)	249/1014 (24,5)	259/1181 (21,9)	163/486 (33,5)	281/639 (44,0)	311/815 (38,2)	333/1050 (31,7)	<0,001
Yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2019		Nisan 2019-Mart 2020		Nisan 2020-Mart 2021		Nisan 2021- Mart 2022		
	660/2503 (26,4)		508/2195 (23,1)		444/1125 (39,5)		644/1865 (34,5)		<0,001
İkişer yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2020				Nisan 2020-Mart 2022				
	1168/4698 (24,9)				1088/2990 (36,3)				<0,001

*Birinci altı aylık dönem: Ekim2019-Mart 2020,

İkinci altı aylık dönem: Nisan 2019-Eylül 2019,

Üçüncü altı aylık dönem: Ekim 2018-Mart 2019,

Dördüncü altı aylık dönem: Nisan 2018-Eylül 2018

** Birinci altı aylık dönem: Nisan 2020-Eylül 2020,

İkinci altı aylık dönem: Ekim2020-Mart 2021,

Üçüncü altı aylık dönem: Nisan 2021-Eylül 2021,

Dördüncü altı aylık dönem: Ekim2021-Mart 2022

Pandemi öncesi birinci yıl: Nisan 2019- Mart 2020, ikinci yıl: Nisan 2018-Mart 2019

Pandemi dönemi birinci yıl: Nisan 2020- Mart 2021, ikinci yıl: Nisan 2021- Mart 2022

AMA pozitiflik oranları arasında COVID-19 pandemi öncesi ve pandemisindeki, tüm dönemlerde fark olmadığı görüldü (Tablo 7).

Tablo 7. AMA pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

AMA Pozitiflikleri	Zaman Aralıkları								
	COVID-19 Öncesi*				COVID-19 Sonrası**				
Altışar aylık oranlar	Nisan 2018 - Eylül 2018	Ekim2018 - Mart2019	Nisan2019 - Eylül2019	Ekim2019 - Mart 2020	Nisan 2020 - Eylül 2020	Ekim2020 - Mart 2021	Nisan 2021 - Eylül 2021	Ekim2021 - Mart 2022	p değeri
	2/98 (2,0)	5/218 (2,3)	1/101 (1,0)	2/128 (1,6)	2/78 (2,6)	1/133 (0,8)	4/155 (2,6)	4/172 (2,3)	0,943
Yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2019		Nisan 2019- Mart 2020		Nisan 2020- Mart 2021		Nisan 2021- Mart 2022		
	7/316 (2,2)		3/229 (1,3)		3/211 (1,4)		8/327 (2,4)		0,784
İkişer yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2020				Nisan 2020-Mart 2022				
	10/545 (1,8)				11/538 (2,0)				0,802

ASMA pozitiflik oranları arasında COVID-19 pandemi öncesi ve pandemisindeki, tüm dönemlerde fark olmadığı görüldü (Tablo 8).

Tablo 8. ASMA pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

ASMA Pozitiflikleri	Zaman Aralıkları								
	COVID-19 Öncesi*				COVID-19 Sonrası**				
Altışar aylık oranlar	Nisan 2018 -	Ekim 2018 -	Nisan 2019 -	Ekim2019 -	Nisan 2020 -	Ekim2020 -	Nisan 2021 -	Ekim2021 -	p değeri
	Eylül 2018	Mart 2019	Eylül 2019	Mart 2020	Eylül 2020	Mart 2021	Eylül 2021	Mart 2022	
	3/95 (3,2)	4/210 (1,9)	1/132 (0,8)	2/155 (1,3)	1/106 (0,9)	3/175 (1,7)	5/147 (3,4)	5/238 (2,1)	0,776
Yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart2019		Nisan 2019-Mart 2020		Nisan 2020-Mart 2021		Nisan 2021- Mart 2022		
	7/305 (2,3)		3/287 (1,0)		4/281 (1,4)		10/385 (2,6)		0,458
İkişer yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2020				Nisan 2020-Mart 2022				
	10/592 (1,7)				14/666 (2,1)				0,593

--	--	--	--

Anti-dsDNA pozitiflik oranlarının zamana göre değişiminini incelediğimizde COVID-19 pandemisinin yıllık oranlarında pandemi öncesindeki yıllık oranlara göre istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü ($p=0,038$) (Tablo 9).

Tablo 9. Anti-dsDNA pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

Anti-dsDNA Pozitiflikleri	Zaman Aralıkları								
	COVID-19 öncesi*				COVID-19 sonrası**				
Altışar aylık oranlar	Nisan 2018 - Eylül 2018	Ekim2018 - Mart 2019	Nisan 2019 - Eylül 2019	Ekim2019 - Mart 2020	Nisan2020 - Eylül 2020	Ekim2020 - Mart 2021	Nisan 2021 - Eylül 2021	Ekim2021 - Mart 2022	p değeri
	1/953 (0,1)	0/954 (0,0)	0/446 (0,0)	1/425 (0,2)	1/288 (0,3)	3/374 (0,8)	2/516 (0,4)	0/650 (0,0)	0,022
Yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2019		Nisan 2019-Mart 2020		Nisan 2020-Mart 2021		Nisan 2021-Mart 2022		
	1/1907 (0,1)		1/871 (0,1)		4/662 (0,6)		2/1166 (0,2)		0,038
İkişer yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2020				Nisan 2020-Mart 2022				
	2/1778 (0,1)				6/1828 (0,3)				0,289

Anti-ICA pozitiflik oranlarının zamana göre değişiminini incelediğimizde COVID-19 pandemisinin yıllık oranlarında pandemi öncesindeki yıllık oranlara göre istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü (Tablo 10).

Tablo 10. Anti-ICA pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

Anti-ICA Pozitiflik	Zaman Aralıkları								
	COVID-19 öncesi*				COVID-19 sonrası**				
Altışar aylık oranlar	Nisan 2018 - Eylül 2018	Ekim 2018 - Mart 2019	Nisan 2019 - Eylül 2019	Ekim 2019 - Mart 2020	Nisan 2020 - Eylül 2020	Ekim 2020 - Mart 2021	Nisan 2021 - Eylül 2021	Ekim 2021 - Mart 2022	p değeri
	2/66	1/61	0/63	3/71	3/27	3/55	0/31	0/60	0,051

	(3,0)	(1,6)	(0,0)	(4,2)	(11,1)	(5,5)	(0,0)	(0,0)	
Yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2019		Nisan 2019- Mart 2020		Nisan 2020-Mart 2021		Nisan 2021-Mart 2022		
	3/127 (2,4)		3/134 (2,2)		6/82 (7,3)		0/91 (0,0)		0,034
İkişer yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2020				Nisan 2020-Mart 2022				
	6/261 (2,3)				6/173 (3,5)				0,467

Anti-Endomisyum pozitiflik oranları arasında COVID-19 pandemi öncesi ve pandemisindeki, tüm dönemlerde fark olmadığı görüldü (Tablo 11).

Tablo 11.Anti-Endomisyum pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

Anti-Endomisyum Pozitiflikleri	Zaman aralıkları								
	COVID-19 Öncesi*				COVID-19 Sonrası**				
Altışar aylık oranlar	Nisan 2018 - Eylül 2018	Ekim 2018 - Mart 2019	Nisan 2019 - Eylül 2019	Ekim2019 - Mart 2020	Nisan 2020 - Eylül 2020	Ekim2020 - Mart 2021	Nisan 2021 - Eylül 2021	Ekim2021 - Mart 2022	p değeri
	6/142 (4,2)	12/294 (4,1)	5/182 (2,7)	4/180 (2,2)	2/135 (1,5)	7/257 (2,7)	12/215 (5,6)	10/319 (3,1)	0,503
Yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2019		Nisan 2019- Mart 2020		Nisan 2020- Mart 2021		Nisan 2021- Mart 2022		
	18/436 (4,0)		9/362 (2,4)		9/392 (2,2)		22/534 (4,0)		0,295
İkişer yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2020				Nisan 2020-Mart 2022				
	27/798 (3,3)				31/926 (3,2)				0,968

Anti-Gliadin pozitifliğini COVID-19 pandemi döneminin ikinci yılında diğer yıllara göre anlamlı oranda yüksek olduğu görüldü. Altı aylık oranlara bakıldığında en yüksek pozitifliğin COVID-19 sonrası üçüncü altı aylık dönemde olduğu saptandı. (Tablo 12).

Tablo 12. Anti-Gliadin pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

Anti-gliadin Pozitiflikleri	Zaman aralıkları								
	COVID-19 öncesi*				COVID-19 sonrası**				
Altışar aylık oranlar	Nisan 2018 - Eylül 2018	Ekim2018 - Mart 2019	Nisan 2019 - Eylül 2019	Ekim2019 - Mart 2020	Nisan 2020 - Eylül 2020	Ekim2020 - Mart 2021	Nisan 2021 - Eylül 2021	Ekim2021 - Mart 2022	p değeri
	6/142 (4,2)	12/294 (4,1)	5/182 (2,7)	7/180 (3,9)	2/135 (1,5)	7/257 (2,7)	18/215 (8,4)	17/319 (5,3)	0,038
Yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2019		Nisan 2019- Mart 2020		Nisan 2020- Mart 2021		Nisan 2021- Mart 2022		
	18/436 (4,1)		12/362 (3,3)		9/392 (2,3)		35/534 (6,6)		0,010
İkişer yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2020				Nisan 2020-Mart 2022				
	30/798 (3,8)				44/926 (4,8)				0,311

ANCA pozitifliklerinin COVID-19 öncesi dördüncü altı aylık dönemde (Nisan 2018-Eylül 2018) diğer dönemlere göre düşük oranda görüldüğü saptandı. Diğer dönemler arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 13).

Tablo 1. ANCA pozitifliklerinin zaman aralıklarına göre dağılımı [sayı (%)].

ANCA *** Pozitiflikleri	Zaman aralıkları								
	COVID-19 öncesi*				COVID-19 sonrası**				
Altışar aylık oranlar	Nisan 2018 - Eylül 2018	Ekim2018 - Mart 2019	Nisan 2019 - Eylül 2019	Ekim2019 - Mart 2020	Nisan 2020 - Eylül 2020	Ekim2020 - Mart 2021	Nisan 2021 - Eylül 2021	Ekim2021 - Mart 2022	p değeri
	1/174 (0,6)	6/303 (2,0)	13/239 (5,4)	4/265 (1,5)	6/170 (3,5)	6/195 (3,1)	10/193 (5,2)	7/324 (2,2)	0,023
Yıllık oranlar	Nisan 2018-Mart 2019		Nisan 2019- Mart 2020		Nisan 2020- Mart 2021		Nisan 2021- Mart 2022		
	7/477 (1,5)		17/504 (3,4)		12/365 (3,3)		17/517 (3,3)		0,221
İkişer yıllık	Nisan 2018-Mart 2020				Nisan 2020-Mart 2022				

oranlar			
	24/981 (2,4)	29/882 (3,3)	0,275

***p-ANCA veya c-ANCA

Otoantikör pozitifliği saptanmış hastaların, IIFA testleri çalışılmadan önceki dönemde hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çalışılmış COVID-19 PZR sonuçları incelendiğinde 323 hastanın COVID-19 PCR testinin pozitif, 306 hastanın ise negatif olduğu görüldü. Otoantikör pozitifliği olanların COVID-19 PCR pozitif ve negatiflik oranları arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı ($p=0,498$).



5. TARTIŞMA

Bağıışıklık sisteminin temel bir özelliği vücudun kendine ait yapılarını kendine olmayan yapılardan ayırt etme yeteneğidir. Bağıışıklık sistemi kendi bileşenlerini tanıyamadığı durumda (self-tolerans kaybı); vücudun hücrelerine, dokularına veya organlarına karşı otoantikorlar üreterek inflamasyona neden olur ve bu da OİH gelişimine yol açar (107). Otoimmün hastalıkların görülme sıklığı hem yetişkinlerde hem de çocuklarda dünya genelinde yüksektir. Genel literatürde OİH prevalansı %5 ila %12,9 arasında seyretmekle birlikte bu hastalıkların insidans ve prevalansı coğrafi bölgelere, etnik gruplara göre değişmektedir. OİH'ler hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde bozmakta, yaşam boyu sakatlığa ve hatta ölümlere neden olmaktadır (108,109).

Hastalıkların, kalıcı sekellerin ve ölümlerin engelenmesi açısından OİH'lara erken tanının konulması çok önemlidir. Otoimmün hastalıkların tanısında antijenlere karşı oluşmuş otoantikorların önemi büyüktür. Tanıya yardımcı olan otoantikor testleri klinisyenlere karar sürecinde büyük katkı sağlamaktadır (110).

IIF yöntemi gerek enfeksiyon hastalıklarının gerekse otoimmün hastalıkların oldukça yaygın olarak kullanılan bir serolojik yöntemdir. Özellikle de otoimmün hastalıkların tanısını koymada kullanılan otoantikorların tespitinde referans yöntemdir (8).

Temel olarak hormonal farklılıklardan dolayı kadınlarda otoimmün hastalıklara daha fazla rastlanmaktadır. SLE'li farelere erkeklik hormonlarının verilmesiyle hastalığın şiddetinde azalma olduğu görölmüşür. Hamilelikte prolaktin gibi hormonların etkisiyle özellikle RA'te hastalığın şiddeti azalmaktadır. Bundan dolayı kadınlarda otoantikorların pozitifliğini daha fazla görmekteyiz (23). Gündüz, 2007 yılında RA'li hastalarda yaptığı bir çalışmada kadınların oranını %79,6 erkeklerin oranını ise %20,4 olarak bildirmiştir (111). Erke 2015 yılında ANA pozitifliği olan hastaların serumları ile yapmış olduğu bir çalışmada kadınların oranını %72,1 erkeklerin oranını ise %27,9 olarak bildirmiştir (112). Bizim çalışmamızda otoantikor pozitifliği saptanan hastaların 1684'ü (%68,80) kadın, 764'ü (%31,20) erkek olup tüm hastaların genelinde ve ANA, AMA, anti-ICA

testlerinin pozitiflik oranının kadınlarda erkeklerden fazla olduğu saptanmıştır. Bulduğumuz bu kadın/erkek oranları diğer çalışmalardaki oranlar ile büyük ölçüde uyum göstermektedir.

Otoimmün hastalıklar her yaşta ortaya çıkabilir, ancak farklı hastalıkların kendi karakteristik başlangıç yaşları vardır (113). Barut ve ark. 2002-2011 tarihleri arasında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Hastanesi Nöroloji Polikliniğine başvuran, IIF yöntemi ile ANA testi çalışılıp pozitif saptanan 309 hastayı geriye dönük olarak değerlendirmiş ve hastaların yaş ortalamalarını $42,50 \pm 14,66$ (min:18, max:84) olarak saptamıştır (114). Hollanda'da yapılan ve aile hekimleri (birinci basamak), bölge hastaneleri (ikinci basamak) ve üniversite hastanesini (üçüncü basamak) içeren 3 farklı merkeze ait 2011–2012 yılları arasındaki ANA sonuçlarının değerlendirildiği çalışmada yaş ortalaması ve aralığı; birinci basamak için 57,2 (15-95), ikinci basamak için 57,0 (17-93), üçüncü basamak için 57,3 (3-84) olarak bulunmuştur (115). Çalışmamızda otoantikör pozitifliği olan hastaların yaş ortalaması $41 \pm 19,44$ olarak bulunmuş ve ülkemizdeki çalışmalarla benzer olduğu görülmüştür. Avrupa ülkesindeki çalışmaya göre pozitiflik yaş ortalamasının düşük olması ülkemizde otoimmün hastalıkların daha erken yaşta görülebileceğini düşündürdü. Ayrıca, bizim çalışmamızda ve diğer çalışmalarda otoantikörlerin her yaş grubunda saptanabildiği dikkat çekmektedir.

Eskişehir Osmangazi Üniversitesinde 2014-2016 yılları arasında günlük pratikte ANA istemleri ve pozitifliklerinin kliniklere göre dağılımına bakıldığı bir çalışmada pozitiflik oranı %32,6 ile en fazla Romatoloji bölümünde saptanırken, Nöroloji bölümünde %14,9 oranında, Dermatoloji için %15,4 ve Hematoloji için ise %14,1 oranında bulunmuştur (116). Azeez'in 2016 yılında yapmış olduğu çalışmasında ANA pozitif sonuçlar kliniklere göre gruplandırıldığında; 1334 ANA pozitif hastanın 357'si (%26,7) İç hastalıkları, 173'ü (%13) Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon, 117'si (%8,8) Nöroloji, 117'si (%8,8) Pediatri, 32'si (%2,4) Dermatoloji ve 493'ünün (%37) diğer kliniklerden geldiğini bulmuşlardır (117). Hollanda'da Avery ve ark. çalışmasında üçüncü basamakta en çok ANA isteyen bölümler sırasıyla Romatoloji, Dermatoloji, İç Hastalıkları ve Nöroloji olarak saptanmıştır. Bu bölümler için üçüncü basamakta pozitiflik oranı yaklaşık olarak

Romatoloji bölümünde %20-25, Dermatoloji için %20, İç Hastalıkları için %16 ve Nöroloji için ise %14 civarında saptanmıştır (115). Çalışmamızda otoantikör testlerinde pozitiflik saptanan 2448 hasta örneğinde oran olarak en çok ANA testinin pozitifliği görülmüştür. ANA test isteminin gönderildiği kliniklere göre dağılımına bakılırsa; İç Hastalıkları bölümü (%32) ve Fizik Tedavi Rehabilitasyon bölümü (%29) arasında fark olmadığı ve diğer bölümlere göre daha yüksek oranda pozitiflik olduğu saptanmıştır. Bu bölümleri sırası ile Dermatoloji (%13), Çocuk Hastalıkları (%12), Nöroloji (%5), Göğüs Hastalıkları (%5), Cerrahi Bölümler (%2), Enfeksiyon Hastalıkları (%1) ve diğer (%1) bölümler izlemiştir. Hastanemizde İç Hastalıkları bölümünün yandalı olarak Romatoloji bölümü bulunmadığı için otoantikör testlerinin istemi İç Hastalıkları bölümünden yapılmış olup, pozitiflik oranlarının İç Hastalıkları ve Fizik Tedavi Rehabilitasyon bölümlerinde benzer olduğu görülmüştür. Yapılan diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında Dermatoloji bölümünden gelen pozitif sayıdaki örneklerin (%13), Eskişehir Osmangazi Üniversitesi'nde yapılan çalışma ile benzer orandan olduğu görülmüştür. Azeez'in yapmış olduğu çalışma ile karşılaştırdığımızda Fizik Tedavi Rehabilitasyon bölümü ve Çocuk Hastalıkları bölümünden gelen pozitif örnek sayısı çalışmamızda daha yüksek oranda bulunmuştur. Diğer çalışmalarda çocuk hasta grupları çalışmalara dahil edilmediğinden karşılaştırmamız Azeez'in yapmış olduğu çalışma ile sınırlı kalmıştır. Çalışmamızdaki Nöroloji kliniğinden gelen pozitif örnek sayısı (%5) diğer çalışmalardan farklı olarak düşük oranda bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda hasta örneklerinin gönderildiği bölümler arasında belli bir standart olmadığı için değerlendirmemizde kısıtlılıklar bulunmaktadır.

Anti nükleer antikör testi pozitiflikleri olası antijeni belirleyebilmek için patern değerlendirmesiyle birlikte yapılmaktadır. Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Mayıs 2019-Eylül 2021 tarihleri arasında otoimmün hastalık şüphesi ile çeşitli polikliniklerden başvurmuş ANA istemi olan 8957 hastanın sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiş ve paternler arasında en sık görülen paternin benekli patern (%13,9) olduğu, ikinci sırada yoğun ince benekli patern (%7,5) olup, bu oranı sırası ile homojen (%6,5), ikili patern (%2,6), nükleolar patern %1,4) ve sentromer paternin (%6) izlediği bulunmuştur (118). Mariz ve ark. Brezilya'da 918 sağlıklı ve 153 otoimmün romatizmal hastalığı olan kişilerde ANA

ve paternlerini karşılaştırdıkları çalışmada, sağlıklı kişilerde %45,8 ve hastalarda %42 oranında olmak üzere her iki grupta da en sık görülen ANA paterninin ince benekli patern olduğu gösterilmiştir. Otoimmün romatizmal hastalığa sahip bireylerde ikinci sık görülen patern kaba benekli patern (%26,1) olduğu görülmüştür. Sağlıklı kişilerde ikinci sırada görülen paternin yoğun ince benekli patern (%33,1) olduğunu ve bu paternin yalnızca sağlıklı bireylerde olduğu bulunmuştur (119). Suudi Arabistan'da Ocak 2016 ile Ekim 2018 tarihleri yapılan bir çalışmada, otoimmün hastalığa sahip 55 erkek ve 398 kadın olan toplam 453 hastanın ANA'larına IIFA yöntemi ile bakılmış, 140 hastada benekli patern görülmüş ve en sık görülen paternin benekli patern olduğu bulunmuştur, bunu sırası ile homojen patern, nükleolar patern ve miks paternler takip etmiştir (120). Bizim çalışmamızda, ANA pozitifliği toplam 2256 hastada saptanmıştır ve bunların 2038'i tekli, 218'i çoklu paterndi. Tekli paternlerin dağılımına bakıldığında; en sık görülen patern 1363 ile benekli patern olup bunu sırasıyla 340'ı yoğun ince benekli, 152'si homojen, 92'si nükleolar, 38'si nükleer membran, 32'si sentromer, 13'ü az noktalı nükleer, 8'i çok noktalı nükleer paternler izlemiştir. Yapılan çalışmalar ile karşılaştırdığımızda bölgesel yakınlık, benzer çevresel koşullar ve sosyodemografik özelliklerden dolayı Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılan çalışma ile sonuçlarımızın benzer olduğu görülmüştür. Mariz ve ark. sağlıklı ve otoimmün romatizmal hastalığı olan kişilerde yaptığı çalışmaya baktığımızda her iki grupta da ince benekli paternin en sık görüldüğünü, çalışmamızda ise ince benekli ve kaba benekli paternin ayrımı yapılmadığından iki paternde benekli patern altında toplanmıştır. Ayrıca çalışmamızda sağlıklı ve otoimmün hastalığı olan kişiler ayrılmadan tek grup halinde incelenmiştir. Sistemik otoimmün hastalığı olmayan sağlıklı kişileri işaret eden yoğun ince benekli patern Mariz ve ark. çalışmasındaki sağlıklı gruba benzer şekilde ikinci sırada en sık görülen patern olmuştur. Suudi Arabistan'da otoimmün hastalığa sahip kişiler üzerinde yapılan çalışmada da çalışmamızda olduğu gibi benekli paternin en sık karşılaşılan patern olduğu görülmüş, bu çalışmada yoğun ince benekli paternin görülmemesi otoimmün hastalığa sahip popülasyonda çalışmanın yapılması kaynaklı olabileceği düşünülmüştür.

Birçok OİH hem genetik hem de viral enfeksiyolar gibi çevresel faktörler ile ilişkili olarak multifaktöriyeldir. Virüsler, genetik olarak duyarlı bireylerde otoimmünite gelişimini tetikleyen başlıca çevresel faktörü temsil eder (121). Viral patojenlerin, otoimmüniteyi tetikleyebilen en yaygın eksojen faktörlerden biri olduğu bilinmektedir. Spesifik virüs türleri, yaygın non-spesifik B ve T aktivasyonuna neden olarak otoantikorların ve sitokinlerin üretimini teşvik edebilir. Örneğin, *EpsteinBarr* virüsü ve *Parvovirüs B19*'un varlığı Hashimoto tiroiditi, *İnsan T-lenfotropik virüs-1* Graves hastalığı ve *Herpes simpleks virüsü* ile enfeksiyon sonrası otoimmün ensefaliti ilişkilidir (107).

2019 Aralık ayında başlayan COVID-19 pandemisi, virüsün varyantlarının da etkisi ile halen tüm dünyayı etkilemeye devam etmektedir. Pandemi ile mücadelede; COVID-19 hastalığının erken teşhisi, hastaların toplumdan izole edilmesi ve bulaşı önleyici tedbirleri uygulanması oldukça önemlidir. COVID-19 hastalığı asemptomatik seyredebileceği gibi başta solunum yolları olmak üzere birçok dokuda ciddi patolojilere yol açmakta ve ARDS, solunum yetmezliği, makrofaj aktivasyon sendromu, yaygın tromboemboli, çoklu organ hasarına kadar ilerleyebilen yaygın sistemik komplikasyonlara sebep olabilmektedir. SARS-CoV-2 enfeksiyonunun otoimmünite fenomenlerinin gelişimi ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar artmaktadır. COVID-19 hastalarında otoimmünite ile ilişkili belirtilerin klinik spektrumu, organa özgü otoimmün hastalıklardan sistemik otoimmün ve inflamatuvar hastalıklara kadar değişmektedir. COVID-19'un laboratuvar tanısında ise dünya genelinde kullanılan en yaygın yöntem halen SARS CoV-2 RT-PCR yöntemidir. Semptomatik tedavi ve yoğun bakım desteği ile hastaların büyük çoğunluğu iyileşebilse de spesifik tedavisi henüz bulunamamıştır (122-124).

Nükleer antijenler genellikle otoantikorların hedefidir ve ANA'lar birçok otoimmün hastalıkta ve aynı zamanda birçok viral enfeksiyonda saptanabilir. Genellikle bir otoimmün hastalıkla ilişkili olmayan ANA'ların, enfeksiyona sekonder geçici otoreaktif B ve plazma hücresi reaktivasyonunda meydana geldiği bildirilmiştir. Şiddetli COVID-19 bağlamındaki gözlemlerde, otoreaktif olan klonotipler dahil olmak üzere ekstra foliküler B hücrelerinin aşırı regülasyonunun bir sonucu olarak çok sayıda antikor salgılayan hücre üretilir. İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi

Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde yapılan bir çalışmada, akut COVID-19 hastalarından alınan 50 serum örneği ve kontrol grubu olarak COVID-19 salgınından önce toplanan 50 kan bankası bağışçısından alınan numuneler IIF yöntemiyle ANA'lar açısından değerlendirilmiştir. Hastaların %18'inde, kontrol grubunda ise %2 oranında ANA testi pozitif bulunmuştur. Kontrol grubunda IIF-ANA testinin pozitiflik oranı COVID-19 hastalarına göre daha düşük olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (125). Kuzey İtalya'da Sacchi ve ark. SARS-CoV-2 enfeksiyonunun otoimmün yanıtı tetiklemesi üzerine yaptıkları bir çalışmada 17 Mart-6 Nisan 2020 arasında, SARS-CoV-2 pozitifliği olan 40 yetişkin hastayı ve kontrol grubu olarak herhangi bir otoimmün bozukluğu bulunmayan 40 kan donörünü çalışmaya dahil etmişler ve numuneleri ANA'larda dahil olmak üzere çeşitli otoimmünnite testleri açısından değerlendirmişlerdir. ANA pozitifliği COVID-19 hastalarında (%57,50), sağlıklı kişiler (%12,50) ile karşılaştırıldığında, COVID-19 hastalarında anlamlı bir ANA pozitifliği bulmuşlardır (107). Pascolini ve ark. COVID-19 ilişkili pnömonili hastalarda otoantikorların varlığını ve rolünü analiz ettikleri bir çalışmada, COVID-19 ilişkili pnömoniye sahip 31 hasta ile COVID-19 dışındaki etiyolojileri olan ateş ve/veya pnömonisi olan yaş ve cinsiyet olarak eşleştirilmiş 25 hastanın IIF yöntemi ile ANA varlığına bakmışlardır. COVID-19'lu 11 hastada ANA (%33,3) reaktivitesi olup COVID-19'a sahip olmayan diğer grupta 2 hastada ANA pozitifliği görülmüş ve COVID-19 grubunda otoantikor pozitifliği sıklığı, kontrol grubundakinden önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur (126). Çalışmamızda otoantikorların dağılımı, COVID-19 pandemi öncesi 2 yıllık dönem de dahil olmak üzere COVID-19 pandemi dönemiyle birlikte toplam 4 yıllık sürede değerlendirilmiştir. IIF yöntemi ile değerlendirilen ANA pozitifliği, pandemi sonrası dönemde pandemi öncesine göre daha yüksek oranda tespit edilmiştir. ANA pozitifliğinin istatistiksel olarak anlamlı derecede pandemi sürecinin ikinci altı aylık döneminde en yüksek olduğu görülmüştür. Literatürdeki diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında, yapılmış çalışmalarda ANA pozitifliği COVID-19 enfeksiyonuna sahip bireyler ve kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır. Çalışmamızda ise ANA pozitifliğinin yüksek olduğu dönemde grup ayrımı yapılmaması çalışmamızın kısıtlılığı olsa da COVID-19 pandemisinin immün yanıtı

etkileyebileceğini ve ANA'ların pozitifliği ile daha yüksek oranda karşılaşılabilceğini ön görmekteyiz.

Chang ve ark. Kore'de COVID-19 kaynaklı enfeksiyon ile hastanede yatan 47 hastanın ANA'larına bakmışlardır. Toplam pozitiflik oranı %21,3 (10/47) olan ANA'da en sık karşılaşılan paternler %50 (5/10) nükleolar ve %30 (3/10) benekli patern olarak bulunmuştur (127). Peker ve ark. akut COVID-19 enfeksiyonuna sahip 50 hastanın serum örneklerinde IIF yöntemiyle ANA'ları değerlendirdikleri çalışmada, 9 hastanın ANA testini pozitif bulmuş ve patern olarak da en sık nükleolar paterni görmüşlerdir (125). Pascolini ve ark. yaptığı çalışmada SARS-CoV-2 enfeksiyonu şüphesiyle hastaneye başvuran 33 hastanın ANA'ları IIF yöntemi ile değerlendirilmiştir. ANA sonucu pozitif gelen 11 (%33,3) olgunun 4'ünde (%36,3) nükleolar boyanma paterni, 4'ünde (%36,3) benekli boyanma paterni, 2'sinde (%18,1) belirsiz boyanma ve 1'inde (%9,1) homojen boyanma paterni izlenmiştir (126). Çalışmamızda COVID-19 testi pozitif ve ANA testi pozitif bulunan 41 hastada patern olarak 30 (%74) hastada benekli patern tespit edilerek en sık karşılaşılan patern olmuştur. Sıklık sırası ile yoğun ince benekli (%15), homojen (%7), nükleer membran (%2) ve az noktalı nükleer (%2) paternleri izlemiştir. Çalışmamızda ANA pozitifliklerinde en sık görülen patern benekli olup literatür ile karşılaştırıldığında diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmamıştır. Ayrıca diğer çalışmalarda COVID-19 enfeksiyonuna sahip hastalarda yoğun ince benekli paterne rastlanılmamış olup çalışmamızda ikinci en sık görülen paternidir. Çalışmamızda COVID-19 bağımsız 4 yıllık süreçte en sık karşılaşılan paternler sırası ile benekli ve yoğun ince benekli patern olduğu için COVID-19 hastalarında da benzer faktörlerden dolayı aynı paternler ile sık karşılaşıldığını düşünüyoruz.

Normal şartlarda dsDNA gibi nükleer antijenler, çekirdek ve mitokondri ile sınırlı olmaları ayrıca sitoplazma ve endozomlardaki DNazlar tarafından hızla bozunmaları sebebiyle bağışıklık sistemi tarafından ulaşılabilir değildir. Bununla birlikte, ultraviyole ışığa, enfeksiyona ve ilaçlara maruz kaldıktan sonra apoptotik hücrelerden nükleer materyaller serbest hale gelebilmektedir. DNA'yı tanıyan ve ona bağlanan anti-DNA antikorları, SLE'de serolojik ayırt edici özellikleri, teşhisi ve hastalık aktivitesi için anahtar belirteçlerdir. Bu otoantikorların, SLE'li hastalarda

özellikle lupus nefriti olmak üzere multiple son organ hasarına katkıda bulunduğu öne sürülmektedir. Ayrıca SLE'li hastalarda hastalık aktivitesi ile anti-DNA antikorlarının serum seviyeleri dalgalanmaktadır (128,129). Peker ve ark. akut COVID-19'da otoantikorların varlığını araştırdıkları çalışmada, akut COVID-19 hastaları ve kontrol grubunda IIF yöntemi ile anti-dsDNA antikorlarına bakılmıştır. Çalışmaya alınan hastalar ve kontrol grubunun hiçbirinde anti-dsDNA antikoruna saptanmamıştır (125). Çin'de şiddetli ve kritik COVID-19 vakalarının klinik ve otoimmün özelliklerine bakıldığı bir çalışmada, 21 hastanın anti-dsDNA'larına bakılmış ve hastalarda anti-dsDNA antikoruna saptanmamıştır (130). Çalışmamızda COVID-19 pandemi öncesi dönem ile COVID-19 pandemi dönemi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olarak COVID-19 pandemi döneminde anti-dsDNA antikorlarının pozitiflik oranında artış görülmüştür. Literatür tarama sonuçlarına göre, çalışmamızdaki anti-dsDNA oranındaki artış çalışmamızın özgünlüğünü göstermekte olup COVID-19 pandemisinin anti-dsDNA antikorları üzerine etkisi olabileceği düşünülmektedir.

SARS-CoV-2 virüsü, genetik olarak yatkın kişilerde otoimmün mekanizmaları tetikleyebilir, bağışıklık sistemini aşırı uyarabilir ve moleküler taklit yöntemi ile insan peptitlerine homolog yabancı peptitleri açığa çıkarabilir böylece otoantikorların gelişmesine yol açabilmektedir. Bununla birlikte, COVID-19 enfeksiyonu tarafından tetiklenen otoimmün karaciğer hastalıkları ile ilişkili çok az sayıda rapor vardır ve karaciğer hasarının mekanizmalarına ilişkin çalışmalar sınırlıdır (131). SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında meydana gelen karaciğer hasarının mekanizmaları büyük ölçüde belirsizliğini korumaktadır. Yüksek oranda patojenik insan koronavirüsünün enfeksiyonunun, doğrudan virüs kaynaklı sitopatik etkiler ve/veya inflamatuvar yanıtların neden olduğu immünopatoloji ile karaciğer hasarına neden olabileceği düşünülmektedir. Şiddetli COVID-19 vakalarında gözlenen inflamatuvar sitokin fırtınasının ve SARS hastalarının tedavisinde kullanılan terapötik ilaçlarında karaciğer hasarına yol açabileceğini özellikle belirtmek gerekir (132). Mevcut veriler sınırlıdır ve karaciğer hasarının doğrudan viral enfeksiyona mı, ilaca bağlı mı yoksa iskemik hepatit gibi komplikasyonlara mı bağlı olduğunu belirlemek zordur (133). Singh ve ark. yayınladığı bir olguda COVID-19 teşhisi ile tedavi alan 57 yaşında erkek hastanın ilerleyen dönemde halsizlik ve artralji

gelişimiyle kan tahlilinde hiperferritinemi, karaciğer enzimlerinde yükselme görülmüş ve ileri tetkiklerinde AMA, ASMA, anti-ds DNA antikorlarının pozitifliği üzerine hastaya COVID-19 enfeksiyonunun tetiklediği otoimmün hepatit-primer biliyer kolanjit overlap sendromu tanısı konmuştur (134). Kabaçam ve ark. yayınladığı COVID-19 tarafından tetiklenen 2 otoimmün hepatit vakasının birinde hastada ASMA antikorunun pozitifliği görülmüştür (135). Bartoli ve ark. hashimoto tiroiditi olan 44 yaşındaki bir kadın hastada COVID-19 enfeksiyonu sırasında Guillain-Barré sendromuna eşlik eden primer biliyer kolanjit tablosunun geliştiği bir vakayı yayınlamışlardır. Hastanın ANA ve AMA otoantikorları pozitif olup bu sonuçlara dayanarak, COVID-19 enfeksiyonunun, hali hazırda otoimmün tiroiditi olan genetik olarak yatkın bir bireyde primer biliyer kolanjit ve Guillain-Barré sendromunu tetiklemiş olabileceğini öne sürmüşlerdir (136). Çalışmamızda COVID-19 pandemi öncesi dönem ile COVID-19 pandemi dönemi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da COVID-19 pandemi döneminde otoimmün karaciğer hastalıklarını işaret eden AMA ve ASMA antikorlarının pozitiflik oranlarında artış görülmüştür. Literatür ile uyumlu olarak COVID-19 pandemisinin, mekanizma olarak tam bilinmese de karaciğerde otoimmün yanıtı neden olarak otoimmün karaciğer hastalıklarını geliştirebileceğini düşünmekteyiz.

COVID-19, bağırsak mukozasında "sitokin fırtınasını" teşvik eder ve ortaya çıkan epitel hasarı, gliadinin bağırsak laminasında geçişine izin vererek artan bariyer geçirgenliğine yol açabilmektedir. Bağırsak bariyerindeki bu değişiklik, çölyak hastalığının patogenezinin sorumlusu en önemli etkenlerdendir (137). COVID-19'un çölyak hastalığı insidansı üzerindeki etkisi net değildir (138). Literatürde COVID-19'un çölyak hastalığının insidansındaki değişiklikler üzerine çalışmalar sınırlıdır. Karadeniz Teknik Üniversitesi'nde Çakır ve ark. COVID-19 pandemisinin çölyak hastalığı üzerindeki etkisini analiz etmeyi amaçladıkları bir çalışmada pandemi öncesinde tanı almış ve pandemi döneminde çölyak hastalığı tanısı alan hastalar karşılaştırılmış pandemi döneminde pediatrik yaş grubunda çölyak hastalığı sıklığında artış görülmüştür. Hastalara çölyak hastalığı tanısını koyarken tanı kriterlerinden yer alan doku transglutaminaz antikor ve endomisyum otoantikorlarının pozitifliğine de bakılmıştır. Ayrıca pandemi döneminde teşhis konulan hastaların %36,3'ünde geçmişte SARS-CoV-2 enfeksiyonu için klinik ve

laboratuvar belirteçleri bulunmuştur (139). Çalışmamızda çölyak hastalığının tanısına yönelik anti-endomisyum ve anti-gliadin antikorları değerlendirilmiştir. COVID-19 pandemi öncesi ile COVID-19 pandemi dönemi karşılaştırıldığında anti-endomisyum antikorlarının pozitiflik oranları istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmasa da COVID-19 pandemisinin ikinci yılında anti-gliadin antikor pozitifliğinde önceki dönemlere göre istatistiksel olarak anlamlı artış görülmüştür. COVID-19 pandemisinin anti-endomisyum antikorları üzerine etkisi Çakır ve ark. çalışması ile karşılaştırıldığında literatür ile uyumlu değildir. Ancak literatürde ‘COVID-19 pandemisi ve anti-gliadin antikoru’ ile ilgili yayın bulunmadığından çalışmamızda COVID-19 pandemisinin ikinci yılında anti-gliadin antikorlarının pozitifliğindeki artış çalışmamızın özgünlüğünü göstermektedir. COVID-19 enfeksiyonunun bağırsak bariyerine etkisi sonucu gliadin antikorlarında artış ile gluten sensitif enteropatilere yatkınlığı arttıracaklarını düşünmekle birlikte daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir.

Anjiyotensin dönüştürücü enzim-2 (ACE-2) reseptörü, SARS-CoV-1 ve SARS-CoV-2 için bağlanma bölgesidir ve pankreas endokrin hücrelerinde güçlü bir şekilde eksprese edilir. Önceki veriler, SARS-CoV-1 virüsünün ACE-2 reseptörü yoluyla pankreas adacık hücrelerine girmiş olabileceği ve β hücre hasarı ile yeni başlangıçlı özellikle de geçici diyabete yol açabileceğini düşündürmektedir (140). SARS-CoV-2'nin pankreasta hiperglisemiye kötüleştirebilecek ve hatta daha önce diyabetik olmayan deneklerde diyabetin başlamasına neden olabilecek doğrudan hasar gelişimine neden olabildiği son çalışmalarda gösterildi (141). Daha önce diğer viral enfeksiyonlar ve akut hastalıklarda hastaneye yatışı takiben yeni başlayan diyabet olguları gözlemlenmiştir. COVID-19'lu kişilerde yeni başlayan diyabet için kesin mekanizmalar bilinmemekle birlikte daha önce teşhis edilmemiş diyabet, stres hiperglisemi, steroid kaynaklı hiperglisemi ve SARS CoV-2'nin β -hücresi üzerindeki doğrudan veya dolaylı etkileri dahil olmak üzere birbiriyle ilişkili bir dizi karmaşık sürecin söz konusu olması muhtemeldir. Şu anda COVID-19 ile ilişkili yeni başlayan diyabetin tip 1 mi, tip 2 mi yoksa farklı bir alt tipe mi ait olduğu net değildir. Tip 1 diyabette insülin eksikliği genellikle bir otoimmün sürecin sonucu olsa da SARS-CoV-2 enfeksiyonunda β -hücrelerinin yıkımından kaynaklanabilmektedir. Ne yazık ki, yeni başlayan diyabetli kişilerde adacık hücresi antikorları ile ilgili çalışmalar

birkaç vaka raporuyla sınırlıdır (142). Hollstein ve ark. yayınladığı bir vakada diyabetik ketoasidoz kliniği ile başvuran 19 yaşındaki kadın hastanın öyküsünde başvurunun 5-7 hafta öncesinde geçirilmiş COVID-19 enfeksiyonu mevcut olup hastanın serum örneğinde adacık hücreleri, glutamik asit dekarboksilaz, tirozin fosfataz, insülin ve çinko-taşıyıcı 8'e karşı otoantikörler gözlenmemiştir. Bu hastada COVID-19 ile diyabet gelişimi arasında nedensellik tam olarak ortaya koyulmasa da ACE-2 de dahil olmak üzere SARS-CoV-2 giriş reseptörlerinin pankreas β -hücrelerinde ifade edildiğini, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun belki de virüsün β -hücreleri üzerindeki doğrudan sitolitik etkileri yoluyla pankreas işlevini olumsuz etkileyebileceği düşünülmüştür (143). Londra'da yapılan bir çalışmada COVID-19 pandemisi sırasında 16 yaşına kadar olan çocuklarda yeni başlayan tip 1 diyabet ve diyabetik ketoasidoz ile ilgili çok merkezli bölgesel veriler sunulmuştur. Veriler beş merkezden toplanmış olup iki birimin her birinde 10 vaka ile belirgin bir vaka artışı gözlemlenmiştir. Diğer üç birimdeki oranlar önceki yıllara benzer bulunmuştur (140). Almanya'da Alman pediatrik diyabet merkezlerinden alınan her yıl 13 Mart ve 13 Mayıs tarihleri arası olmak üzere 2011'den 2020 yılına kadar teşhis edilen, başlangıç yaşı 6 ay ile <18 yaş arasındaki pediatrik tip 1 diyabet vakalarına bakıldığında COVID-19 pandemi döneminin denk geldiği 2020 yılında gözlemlenen ve tahmin edilen insidans arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (144). Çalışmamızda anti-ICA pozitiflik oranlarının zamana göre değişiminini incelediğimizde COVID-19 pandemisinin yıllık oranlarında pandemi öncesindeki yıllık oranlara göre istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmuştur. Çalışmamızdaki bulgular COVID-19 pandemisi ile otoantikör aracılı tip 1 diyabet insidansı arasındaki ilişkileri gösterebilmesiyle literatüre katkı sağlamaktadır. Yapılmış diğer çalışmalarla birlikte çalışmamızdaki bulgular SARS-CoV-2 ile yeni başlangıçlı diyabet arasındaki olası bir bağlantı hakkında farkındalık yaratsa da COVID-19 pandemisi ile otoantikör aracılı tip 1 diyabet insidansı arasındaki olası ilişkileri gösterebilmek adına uzun vadeli takip çalışmaları yapmanın önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Anti nötrofilik sitoplazmik anitkor ile ilişkili vaskülit'lerin (AAV) başlamasına yol açan olaylar iyi anlaşılmamıştır. Genetik faktörler, enfeksiyöz ajanlar, çeşitli spesifik ilaçlar, çevresel maruziyetler ve diğer etkenlere bağlı olarak bazı faktörler otoimmüniteyi tetikleyerek hastalığın patogenezinde rol almaktadır

(145). SARS-CoV-2 enfeksiyonuna bağı COVID-19 hastalığı, endotel hasarına, artmış tromboembolik riske, sitokin fırtınasına ve otoimmün fenomenlere yol açabilen multisistem inflamatuvar bir hastalıktır (146). AAV'ler, nötrofillerin sitoplazmik granüllerinde depolanan proteinaz 3 (PR3) ve miyeloperoksidaz (MPO) antijenlerinin salınmasıyla tetiklenebilmektedir. İnflamasyon sırasında nötrofil apoptozisine veya programlanmış hücre ölümüne bağı degranülasyon, alfa-1 antitripsin gibi spesifik inhibitörlerin antijenleri parçalama yeteneğini aşan miktarda PR3 ve MPO'nun açığa çıkmasına neden olabilir ve böylece otoimmün yanıtı tetikleyebilir (147). AAV, ağırlıklı olarak küçük damarları etkileyen ve tutulan organlara bağı olarak çeşitli klinik belirtilerle sonuçlanan sistemik inflamatuvar bir otoimmün hastalıktır. AAV'ler, polianjiitisli granülomatozis, mikroskobik polianjiitis ve eozinofilik polianjiitisli granülomatozisi içermektedir (26). Duran ve ark. çalışmasında yakın zamanda COVID-19 tanısı alan 2 hastada akut böbrek hasarı gelişmesi üzerine, yapılan değerlendirmede vaskülit ilişkili glomerülonefrit tanısı koyulup ANCA testlerinin pozitifliği bulunmuştur (145). Gelzo ve ark.'ın SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan hastalarda ANCA ilişkili otoimmünite sıklığını tanımlamak için, SARS-CoV-2 enfeksiyonu teşhisi konan 124 yetişkin hasta (16'sı asemptomatik ve 108'i hastanede yatan) ve 48 kontrol deneği üzerinde yaptıkları çalışmada SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan hastaların kontrol deneklerinden önemli ölçüde daha yüksek serum ANCA seviyelerine sahip olduğunu gözlemlenmiştir (147). Kuzey İtalya' da Sacchi ve ark. SARS-CoV-2 enfeksiyonunun otoimmün yanıtı tetikleme üzerine yaptıkları COVID-19 hastaları ve kontrol grubunda ANCA pozitiflik oranlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, COVID-19 hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı bir ANCA prevalansı bulunmuştur (107). Çalışmamızda COVID-19 pandemi döneminde (%3,3) COVID-19 pandemi öncesi döneme (%2,4) göre ANCA pozitifliği, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksek bulunmuştur. COVID-19 ve AAV arasında ilişkiler bulunmakta olup çalışmamız literatür ile uyumlu bulunmuştur. Elde ettiğimiz bulgular ile COVID-19 pandemisinin AAV'lere yatkınlığı arttırabileceğini düşünmekteyiz.

Otoimmün hastalılarda altta yatan bağışıklık sistemi bozuklukları ve tedavide kullanılan bağışıklığı baskılayan ilaçları alma nedeniyle enfeksiyonlara duyarlılık genel popülasyona göre artmaktadır. OİH'ler de artan COVID-19 insidansına rağmen

konuyla ilgili çok az kanıt mevcut olsa da bazı çalışmalar bu hastalarda COVID-19 gelişme riskinin artması olasılığını öne sürmüştür (148). Kuzey İtalya’da SLE’li hastalarda COVID-19 riski üzerine yapılan bir kohort çalışmasında COVID-19 pandemisi döneminde 165 SLE’li hasta değerlendirilmiş, bu hastaların 12’sinde COVID-19 enfeksiyonu gelişmiş olup 4 hastanın COVID-19 sonucu sürüntüyle doğrulanmıştır. Doğrulanmış COVID-19 insidansı (%2,5) genel popülasyona oranla yüksek bulunmuştur (149). Belçika’da yapılan bir kohort çalışmasında COVID-19 enfeksiyon şüphesi nadir olmasa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (150). Çalışmamızda otoantikor pozitifliği saptanmış hastaların, hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarı’nda çalışılmış COVID-19 PZR sonuçları incelendiğinde 323 hastanın COVID-19 PZR testinin pozitif, 306 hastanın ise negatif olduğu görülmüştür. Otoantikor pozitifliği olanların COVID-19 PZR pozitif ve negatiflik oranları arasında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler literatür ile uyumlu değildir. Ancak hastalardaki COVID-19 PZR testi yalnızca hastanemizdeki veriler üzerinden değerlendirildiği için dış merkezdeki COVID-19 PZR testi pozitifliklerinin, asemptomatik hastaların ve aşı durumlarının belirlenememiş olması çalışmamızın kısıtlılıklarıdır.

Elde ettiğimiz verilerin retrospektif olması nedeniyle çalışmamızda bazı sınırlamalar mevcuttur. SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında veya sonrasında hastalarda meydana gelebilecek otoimmün fenomenlerin tam spektrumu hala belirsizdir. Ancak çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, SARS-CoV-2 enfeksiyonu ve yeni başlayan otoimmün hastalıklar arasındaki ilişkiyi göstermeye yardımcı olabilir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda otoantikor pozitifliği saptanan kadın hastaların erkeklerden sayıca fazla olduğu saptandı. Bulduğumuz bu kadın/erkek oranları diğer çalışmalardaki oranlar ile büyük ölçüde uyum göstermektedir.

Otoantikor pozitifliği olan hastaların yaş ortalamasının ülkemizdeki çalışmalarla benzer olduğu görüldü. Avrupa ülkesine göre pozitiflik yaş ortalamasının düşük olması ülkemizde otoimmün hastalıkların daha erken yaşta görülebileceğini düşündürmüştür. Ayrıca, bizim çalışmamızda ve diğer çalışmalarda otoantikorların her yaş grubunda saptanabildiği dikkat çekmektedir.

Çalışmamızda otoantikor testlerinden en çok ANA testinde pozitiflik görüldü. ANA test isteminin gönderildiği kliniklere göre dağılımına bakıldığında; hastanemizde İç Hastalıkları bölümünün yandalı olarak Romatoloji bölümü bulunmadığı için otoantikor testlerinin istemi İç Hastalıkları bölümünden yapılmış olup, pozitiflik oranlarının İç Hastalıkları ve Fizik Tedavi Rehabilitasyon bölümlerinde benzer olduğu görüldü. Literatüre bakıldığında yapılan çalışmalarda hasta örneklerinin alındığı bölümler arasında belli bir standart olmadığı için değerlendirmemizde kısıtlılıklar bulunmaktadır.

COVID-19 pandemi öncesi ve pandemi dönemi dönemini kapsayan 4 yıllık süre içerisinde literatür ile uyumlu olarak tespit edilen ANA pozitifliğinde en sık görülen patern benekli patern olarak bulundu.

IIF yöntemi ile değerlendirilen ANA pozitifliğinin, pandemi döneminde pandemi öncesine göre daha yüksek oranda olduğu tespit edildi. İlerleyen süreçte COVID-19 pandemisinin immün yanıtı etkileyebileceğini ve ANA'ların pozitifliği ile daha yüksek oranda karşılaşılabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda COVID-19 pandemi döneminde, COVID-19 testi pozitif ve ANA testi pozitif olan hastalarda ANA paterni olarak en sık benekli patern ile karşılaşıldı.

COVID-19 pandemi öncesi dönem ile COVID-19 pandemi dönemi karşılaştırıldığında; COVID-19 pandemi döneminde anti-ds DNA antikorlarının

yıllık pozitiflik oranlarında istatistiksel olarak anlamlı artışın olduğu görüldü. Bulgularımız sonucu COVID-19 pandemisinin anti-dsDNA antikorları üzerine etkisi olabileceği düşünmekteyiz ve literatür ile karşılaştırdığımızda çalışmamızın özgünlüğünü göstermektedir.

Çalışmamızda COVID-19 pandemi öncesi dönem ile COVID-19 pandemi dönemi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da COVID-19 pandemi döneminde otoimmün karaciğer hastalıklarını işaret eden AMA ve ASMA antikorlarının pozitiflik oranlarında artışın olduğu görüldü. Literatür ile uyumlu olarak COVID-19 pandemisinin, mekanizma olarak tam bilinmese de karaciğerde otoimmün yanıtı neden olarak otoimmün karaciğer hastalıklarını geliştirebileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda Çölyak hastalığının tanısına yönelik anti-endomisyum antikorlarının pozitiflik oranlarında COVID-19 pandemi öncesi ile COVID-19 pandemi dönemi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Yaptığımız literatür taramasında COVID-19 virus enfeksiyonunun anti-gliadin antikoruna üzerine etkisini araştıran çalışmaların varlığına rastlanılmadı. Bu yönüyle bulgularımızın literatüre katkısı anlamlı kabul edildi. Çalışmamızda COVID-19 pandemisinin ikinci yılında, anti-gliadin antikor pozitifliğinde önceki dönemlere göre istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü. Bu yönüyle COVID-19 enfeksiyonunun bağırsak bariyerine etkisi sonucu gluten sensitif enteropatilere yatkınlık artabilir.

Saptadığımız veriler ile anti-ICA pozitifliğinin yıllık oranlarında, COVID-19 pandemisinde pandemi öncesindeki yıllık oranlara göre istatistiksel anlamlı artış bulundu. Çalışmamızdaki bulgular COVID-19 pandemisi ile otoantikor aracılı tip 1 diyabet insidansı arasındaki olası ilişkileri gösterebilmesi adına literatüre katkı sağlamaktadır.

Çalışmamızda COVID-19 pandemi döneminde COVID-19 pandemi öncesi döneme göre ANCA pozitifliği, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksek bulundu. Sonucumuz literatür ile uyumlu olup COVID-19 ve AAV arasında ilişkiyi desteklemektedir.

Elde ettiğimiz veriler de otoantikor pozitifliği olan hastalarda COVID-19 PZR pozitif ve negatiflik oranları arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler literatür ile uyumlu değildir. Ancak hastalardaki COVID-19 PZR testi yalnızca hastanemizdeki veriler üzerinden değerlendirildiği için dış merkezdeki COVID-19 PZR testi pozitifliklerinin, asemptomatik hastaların ve aşı durumlarının belirlenememiş olması çalışmamızın kısıtlılıklarıdır.

Son olarak; SARS-CoV-2 enfeksiyonu ile sistemik ve organ spesifik otoimmün hastalıklar arasındaki ilişkiyi incelemek için tamamlayıcı çalışmalara ihtiyaç vardır. Enfeksiyon ile tetiklenebilen otoimmün hastalıkların doğal seyrini netleştirebilmek için bu hastaların daha uzun süre takip edilmeleri gereklidir.



7. KAYNAKLAR

1. Chinen J, Finkelman F, Shearer WT. Advances in basicandclinicalimmunology. J AllergyClinImmunol 2006;118:489-95.
2. Paul WE. FundamentalImmunology. 5th ed. Philadelphia: LippincottWilliams&Wilkins; 2003.
3. Porth CM. Essentials of Pathophysiology: Concepts of AlteredHealthStates. Philadelphia: LippincottWilliams&Wilkins; 2004. p. 134-149.
4. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Temel İmmünoloji İmmün Sistemin İşlevleri ve Bozuklukları. Camcıoğlu Y, Deniz G. (çeviri editörleri). Güneş Tıp Kitabevleri, 4. Baskı, 2015: Bölüm 9.
5. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR ve Roitt IM. ROITT’S Temel İmmünoloji. Ilıman M.N, Yıldız M. (çeviri editörleri). Atlas Kitapçılık, 11. Baskı, 2008: Bölüm 18.
6. Terzioğlu E. Self Tolerans ve Otoimmünite. Ed. Gümüşdiş G, Doğanavşargil E, Klinik Romatoloji Kitabı. pp. 55-57, Deniz Matbaası, İstanbul, 1999.
7. Kılıçkaya T. Self Tolerans ve Otoimmünite. Ed. Kılıçturgay K. İmmünoloji Kitabı. pp. 241-261, Nobel & Güneş Kitabevi Motif Matbaacılık, 2003.
8. Us D. Temel İmmünoloji ve Seroloji. pp.78-357, Hipokrat Kitapevi, Ankara, 2016.
9. Erer Özbek S. Otoimmün Nörolojik Hastalıkların Neden Olduğu Hareket Bozuklukları. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2010; 36 (3): 127-133.
10. Nemazee D. Receptorselection in B and T lymphocytes. *AnnuRewImmunol*, 2000; 18:19-51
11. Roth D, Male D, Roitt I, Brostoff J. İmmünoloji 1.Baskı. Ed: İmir T. pp.343-383, Palme Yayıncılık, Ankara, 2008.
12. Shoenfeld Y, Zandman-Goddard G. Themosaic of autoimmunity: hormonalandenvironmentalfactorsinvolved in autoimmunediseases. *IMAJ* 2008;10:8–12.

13. Davidson A, Diamond B. Autoimmunediseases. N Engl J Med. 2001;345(5):340-50.
14. Abbas A K, Lichtman A H, Pillai S. Cellular andMolecularImmunology. pp.189-214,Elsevier, 6. Baskı, Philadelphia, 2007.
15. Hewagamaa A, Richardson B. Thegeneticsandepigenetics of autoimmunediseases. J Autoimmun 2009;33(1):3-11
16. Pennell L.M., Carole L, Galligan Eleanor N. Sexaffectsimmunity. Journal of Autoimmunity2012;38:282-291.
17. Canpınar H. Otoimmunitede çevresel ve diğer faktörlerin rolü. Türkiye Klinikleri J ImmunolRheumatol-Special Topics 2011;4(2) 59-64.
18. Wucherpfennig KW. Mechanismsfortheinduction of autoimmunitybyinfectiousagents. J ClinInvest. 2001;108(8):1097-104.
19. Guilherme L, Kalil J, Cunningham M. Molecularmimicry in theautoimmune pathogenesis of rheumaticheartdisease. Autoimmunity. 2006;39(1):31-9
20. Ercolini A M, Miller S D. The role of infections in autoimmunedisease. ClinicalandExperimentalImmunology 2008; 155: 1–15.
21. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, et al. Identification of tissue transglutaminase as theautoantigen of celiacdisease. NatMed. 1997;3(7):797-801
22. Cutolo M, Villaggio B, Foppiani L, Briata M, Sulli A, Pizzorni C, et al. Thehypothalamic-pituitary-adrenal andgonadalaxes in rheumatoidarthritis. Ann N Y AcadSci. 2000;917:835-43.
23. Roitt I. Roitt's Temel İmmünoloji, 11.baskı. Ed: İlman MN. pp. 410-455, Atlas kitapçılık, Ankara, 2008.
24. Cooper GS, Bynum ML, Somers EC. RecentInsights in theEpidemiology of AutoimmuneDiseases:ImprovedPrevalenceEstimatesandUnderstanding of Clustering of Diseases. J Autoimmun2009;33:197-207.
25. Cooper GS, Stroehla BC. Theepidemiology of autuimmunediseases. AutoimmunRev 2003;2(3):119-25.
26. Klimud rehber

27. Beyan H, Ola T, R David, G Leslie. Progression of autoimmune diabetes: slowly progressive insulin-dependent diabetes mellitus or latent autoimmune diabetes of adult. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Oct;1079:81-9.
28. Düzgün N. Sistemik Lupus Eritematosus Etiyopatogenezi. *Türkiye Klinikleri J IntMedSci.* 2005;1(8):8-11.
29. Köse A. Otoimmün Hastalıklar, Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Patoloji Birimi, İzmir 2007.
30. Mok CC, Lau CS. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J ClinPathol* 2003; 56: 481-90.
31. Petri M, Orbai AM, Alarcon GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2012; 64(8): 2677-86.
32. O'Dell JR. Rheumatoid arthritis: The clinical Picture. Ed. Koopman WJ, *Arthritis and Allied Conditions.* pp. 1157-1186, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001.
33. Erdem F, Koç B, Sarıkaya S, Uçar M, Yazıcı S, Boyraz _ et al. Epicardial fat thickness in patients with rheumatoid arthritis. *African Health Sciences*, 2015; 15 (2) :489-95.
34. Sokolove J, Johnson DS, Lahey LJ, Wagner CA, Cheng D, Thiele GM, et al. Rheumatoid factor as a potentiator of anti-citrullinated protein antibody-mediated inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66(4): 813-21.
35. Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis. *Lancet* 2010; 376(9746): 1094-108.
36. Kıvanç T, Ekici Z, Yılmaz S, Eyüboğlu FÖ. Nodüllerle seyreden skleroderma akciğer tutulumu. *Tuberk Toraks*, 2012;60, 4, 370-374.
37. Black CM. The aetiopathogenesis of systemic sclerosis: thick skin-thin hypotheses. *Journal of the Royal College of Physicians of London.* 1995;29(2):119-30.

38. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger Jr T, et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *The Journal of rheumatology*. 1988;15(2):202.
39. Miller M. Clinical manifestations and diagnosis of adult dermatomyositis and polymyositis. UpToDate, Basow, DS (Ed), UpToDate, Waltham, MA. 2011.
40. Ghirardello A, Bassi N, Palma L, Borella E, Domeneghetti M, Punzi L, et al. Autoantibodies in polymyositis and dermatomyositis. *Current rheumatology reports*. 2013;15(6):1-10.
41. Sharp GC, Irvin WS, Tan EM, Gould RG, Holman HR. Mixed connective tissue disease - an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *The American journal of medicine*. 1972;52(2):148-59.
42. Hoffman RW, Maldonado ME. Immunopathogenesis of mixed connective tissue disease: a short analytical review. *Clinical immunology*. 2008;128(1):8-17.
43. Aringer M, Smolen JS. Mixed connective tissue disease: what is behind the curtain? *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2007;21(6):1037-49.
44. Alarcon-Segovia D, Cardiel M. Comparison between 3 diagnostic criteria for mixed connective tissue disease. Study of 593 patients. *The Journal of rheumatology*. 1989;16(3):328-34.
45. Nemazee D. Receptor selection in B and T lymphocytes. *Annu Rev Immunol*. 2000;18:19-51.
46. Suurmond J, Diamond B. Autoantibodies in systemic autoimmune diseases: specificity and pathogenicity. *J Clin Invest*. 2015;125(6):2194-202.
47. Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. pp. 245-249, 325-333, Güneş Kitapevi, Ankara, 1999.
48. Keser G. Romatolojik Hastalıkların Tanısında Hematolojik, Biyokimyasal ve Serolojik İncelemeler. Ed: Gümüşdiş G, Doğanavşargil E, Klinik Romatoloji. pp. 147-159, Deniz Matbaası İstanbul, 1999.

49. Us DE. Antinökleer antikorlar ve hastalıklarla ilişkileri. Mikrobiyoloji bülteni. 1992;26: 379-389.
50. Fritzler MJ. Challenges to the use of autoantibodies as predictors of disease onset, diagnosis and outcomes. Autoimmunity reviews. 2008;7(8):616-20.
51. Bradwell AR, Hughes RG, Harden EL. Atlas of HEp-2 pattern, Second Edition, Drapkins & Co. Birmingham, UK, 2003.
52. Elkon K, Casali P. Nature and functions of autoantibodies. Nat Clin Pract Rheumatol. 2008;4(9):491-8.
53. Gleicher N, Barad D, Weghofer A. Functional autoantibodies, a new paradigm in autoimmunity? Autoimmun Rev. 2007;7(1):42-5.
54. Shoenfeld Y, Toubi E. Protective autoantibodies: role in homeostasis, clinical importance, and therapeutic potential. Arthritis Rheum. 2005;52(9):2599-606.
55. İyidir ÖT, Erten Ş. Clinical evaluation of autoantibodies in connective tissue disorders: medical education. J Med Sci. 2007;27: 236-246.
56. Solomon DH, Kavanaugh AJ, Schur PH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. Arthritis Rheum. 2002;47(4):434-44.
57. Çağlayan ES. Anti Nökleer Antikorların Farklı Yöntemlerle Bakılması ve Alt Gruplarının Karşılaştırılması. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Afyon 2006.
58. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010;125 (Suppl 2): 238-47.
59. Hasson SS, Al-Balushi, AA Al-Jabri. The role of the autoimmunity laboratory in autoimmune diseases. Asian Pacific Journal of Tropical Disease 2012;159-162.
60. ORDER N. ANA IFA: HEp-20-10 Test instruction. Progressive. 20:50.
61. Baskın Y, Afacan G, Erkunt SS, Yigitbası T. Sistemik Otoimmün Hastalıkların Tanısında Yeni Bir Yöntem: Multipleks Test Sistemi ve Yöntem Performansları. Turk J Biochem. 2008; 33 (1): 19-24.

62. Copple SS, Giles SR, Jaskowski TD, Gardiner AE, Wilson AM, Hill HR. Screening for IgG Antinuclear Autoantibodies by HEp-2 Indirect Fluorescent Antibody Assays and the Need for Standardization. *Am J Clin Pathol*. 2012; 137: 825-830.
63. Fernandez MF, Mattioli M. Antinuclear antibodies: immunologic and clinical significance. *Seminars in Arthritis and Rheum*. 1976; 6 (2): 83-124.
64. Chan E, Pollard K. Detection of autoantibodies to ribonucleoprotein particles by immunoblotting. *Manual of clinical laboratory immunology*. 1997:928-34.
65. Muro Y. Antinuclear antibodies. *Autoimmunity*. 2005;38(1):3-9.
66. Chan EK, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, de Melo Cruvinel W, Francescantonio PLC, et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns 2014–2015. *Frontiers in immunology*. 2015;6.
67. Borg A, Dawes P, Matthey D. Autoantibodies to nuclear lamins and to intermediate filament proteins. *The Journal of rheumatology*. 1993;20(11):1988-90.
68. Sternsdorf T, Guldner H, Szosteki C, Grötzinger T, Will H. Two Nuclear Dot-Associated Proteins, PML and SplOO, are Often Co-Autoimmunogenic in Patients with Primary Biliary Cirrhosis. *Scandinavian journal of immunology*. 1995;42(2):257-68.
69. ICAP International Consensus on ANA Patterns [Available from: <https://www.anapatterns.org/trees-full.php>].
70. Bosch X, Guilabert A, Font J, Seo P. The Antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitides. *Lancet*. 2006;368: 404–418.
71. Bogdanos DP, Mieli-Vergani D. Autoantibodies and their antigens in autoimmune hepatitis. *Semin liver dis*. 2009;29:241-253.
72. Bradwell AR, Stokes RP, Mead GP. *Advanced Atlas of Autoantibody Patterns*. The Binding Site, Birmingham, 1999.

73. Yordam N, Alikasıfoğlu A, Bideci A. Çocuk ve Adölesanda Endokrin Testler. pp. 97-104, Pediatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları II, Ankara,2006.
74. Lampasona V, Liberati D. IsletAutoantibodies. CurrDiabRep. 2016;16(6):53.
75. <https://www.euroimmun.com/products/autoimmune-diagnostics/id/endocrinology/diabetes/>
76. Jitsukawa T, Nakajima S, Usui J, Watanabe H. Detection of anti-nuclearantibodiesfrompatientswithsystemicrheumaticdiseasesby ELISA using HEp-2 cellnuclei. J ClinLab Anal 1991; 5(1): 49-53.
77. Tan EM, Smolen JS, McDougal J, Butcher BT, Conn D, Dawkins R, et al. A critiquevaluation of enzymeimmunoassaysfordetection of antinuclearautoantibodies of definedspecificities: I. Precision, sensitivity, andspecificity. Arthritis&Rheumatism. 1999;42(3):455-64.
78. Bilgehan H. Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, 12. Basım. pp.303-521, Barış Yayınları, İzmir, 2008.
79. Berkem R, Gümüş T, Karakoç E, Acar N. Antinükleer antikorların saptanmasında kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması, Mikrobiyoloji Bülteni. 2003;37,(2-3):171-178.
80. Medintz IL, Uyeda HT, Goldman ER, Mattoussi H. Quantum dotbioconjugatesforimaging, labellingandsensing. Nature materials. 2005;4(6):435-46.
81. Kartalov EP, Zhong JF, Scherer A, Quake SR, Taylor CR, Anderson WF. High-throughputmulti-antigen microfluidicfluorescenceimmunoassays. BioTechniques. 2006;40(1):85.
82. Eryılmaz E, Keşli R. Sars Koronavirüs-2 (Sars-Cov-2) Virolojik Özellikleri ve Diğer Koronavirüslerden Farkı. Selçuk Sağlık Derg. 2020;1:1-9.
83. Alp Ş, Ünal S. Yeni Koronavirüs (SARS-CoV-2) Kaynaklı Pandemi: Gelişmeler ve Güncel Durum. Flora. 2020;25(2):111-20.
84. Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, Wang X, Niu P, et al. GenomeCompositionandDivergence of theNovel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. Cell Host Microbe. 2020;27(3):325-8.

85. Arabacı Ç, Tutak GA, Kesim BE, Ertürk B, Ak K, Ağaç E, SARS-Cov-2 Virüsünün Özellikleri ve Mikrobiyolojik Tanısı. The Characteristics Of SARS CoV-2 Virus And Microbiological Diagnosis. Galenos 2020;71501.
86. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, Yan Y. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID- 19) outbreak—an update on the status. Mil Med Res. 2020; 7(1): 1-10.
87. Tizaoui K, Zidi I, Lee KH, Ghayda AR, Hong SH, Li H, Shin JI. Update of the current knowledge on genetics, evolution, immunopathogenesis, and transmission for coronavirus disease 19 (COVID-19). Int J Biol Sci. 2020; 16(15): 2906.
88. Malik YA. Properties of coronavirus and SARS-CoV-2. Malays J Pathol. 2020;42(1):3–11.
89. Chang C-K, Sue S-C, Yu T-H, Hsieh C-M, Tsai C-K, Chiang Y-C, Lee S-J, Hsiao H-H, Wu W-J, Chang W-L, Lin C-H, Huang T-H. (2006). Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein. J Biomed Sci. 2016;13(1):59–72.
90. Sheikh A, Al-Taher A, Al-Nazawi M, Al-Mubarak AI, Kandeel M. (2020). Analysis of preferred codon usage in the coronavirus N genes and their implications for genome evolution and vaccine design. J Virol Methods. 2020;277:113806.
91. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. Virol J 2019;16(1):69.
92. Evren E, Us E. Covid-19 Etkeni. Ed: Memikoğlu O, Genç V. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi COVID-19 Kitabı. pp:12-13, Ankara, 2020.
93. Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. Annual Review of Virology 2016;29;3(1):237–261.
94. Britannica, T. Editors Of Encyclopaedia. Coronavirus. Encyclopedia Britannica. 2021 February <https://www.britannica.com/science/coronavirus-virus-group> (Erişim tarihi: 01.06.2021)
95. Meyerowitz EA, Richterman A, Gandhi RT, Sax PE. Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. Annals of Internal Medicine. 2021;174(1):69-79.

96. Li Q. et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. *New England Journal of Medicine*. 2020;26;382(13):1199-1207.
97. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China. *Epidemiology Working Group for NCIP Epidemic Response, Chinese Center for Disease Control and Prevention*. 2020 Feb 10;41(2):145-151.
98. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):497-506.
99. Wang D, Hu B, Hu C et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 Novel Coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;323(11):1061–9.
100. Wu Z MJ. Characteristics of and important lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) outbreak in China. *JAMA*. 2020;323(13):1239–42.
101. Gralinski LE, Menachery VD. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses*. 2020;12(2):135.
102. Öcal D, Vezir S, Karahan ZC. Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri. Ed: Memikoğlu O, Genç V. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi COVID-19 Kitabı. pp:17-25, Ankara, 2020.
103. Temel A, Ateş A, Eraç B. COVID-19 Pandemisinde Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg*. 2021;51(2):99–108.
104. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases. WHO, 2020. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331329/WHO-COVID-19-laboratory-2020.4-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Erişim tarihi 15.06.2021)
105. Eroğlu E, Balcı H, Baskın V, Aktuna Z. COVID-19 Tedavisine Yönelik Güncel Farmakolojik Yaklaşımlar *YIU Sağlık Bil Derg*. 2021;2:1–15.

106. BATIREL A. SARS-CoV-2: Ways of Transmission and Methods of Prevention. South Clin Istanbul Eurasia. 2020;31:1–7.
107. Sacchi MC, Tamiazzo S, Stobbione, et al. SARS-CoV-2 infection as a trigger of autoimmuneresponse. ClinTranslSci. 2021 May;14(3):898-907.
108. Missoum H, Alami M, Bachir F, Arji N, Bouyahya A, Rhajaoui M, et al. Prevalence of autoimmunediseasesandclinicalsignificance of autoantibody profile: Data fromNationalInstitute of Hygiene in Rabat, Morocco. Human Immunology. 2019;80(7):523-32.
109. Lerner A, Jeremias P, Matthias T. Theworldincidenceandprevalence of autoimmunediseases is increasing. Int J CeliacDis. 2015;3(4):151-5.
110. Karakeçe E, Atasoy AR, Çakmak G, Tekeoğlu İ, Harman H, Çiftci İH. Bir üniversite hastanesinde antinükleer antikor pozitiflikleri. Turkish J Immunol. 2014;2(1):5–8.
111. Gündüz G. Romatoid artritli hastalarda akciğer tutulumu ile klinik ve laboratuvar bulgular arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık tezi, İstanbul 2007.
112. Erke K. Anti nükleer antikor (ANA) sonuçları ile ekstrakte edilebilir nükleer antikorları (ENA) arasındaki ilişkinin araştırılması. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, Bolu 2015.
113. Wang L, Wang F-S, Gershwin ME. Human autoimmunediseases: a comprehensiveupdate. J InternMed. 2015 Oct;278(4):369-95.
114. Barut BÖ, Ufuk E, Demir AS, Ünal A, Tekin İ. Nörolojik hastalarda ANA incelemesinin önemi. Nobel Med. 2013;9(2):74–8.
115. Avery TY, van de Cruys M, Austen J, Stals F, Damoiseaux JG. Anti-nuclearantibodies in dailyclinicalpractice: prevalence in primary, secondary, andtertiarycare. J ImmunolRes 2014;2014: 401739.
116. Cansu DÜ, Teke HÜ, Gündüz E, Korkmaz E. Günlük pratikte antinükleer antikor (ANA) istemleri ve pozitifliklerinin kliniklere göre dağılımı: ANA testi en çok hangi bölümlerden istenmektedir? Ulus RomatoidDerg. 2019;11(1):16–22
117. Azeez HJ. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Antinükleer Antikor

Sonuçlarının Değerlendirilmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, YÜKSEK LİSANS TEZİ, Van 2016.

118. Özdemir B. İndirekt İmmün Floresan Yöntemi ile Çalışılan Antinükleer Antikor Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. BOLU ABANT İzzet BAYSAL Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Bolu 2022.
119. Mariz AH, Sato EI, Barbosa HS, Rodrigues SH, et al. Pattern on theantinuclear antibody-HEp-2 test is a criticalparameterfordiscriminatingantinuclearantibody-positivehealthyindividualsandpatientswithautoimmunerheumaticdiseases. ArthritisRheum. 2011 Jan;63(1):191-200.
120. Alsubki A, Aljaser F, et al. Associationbetweenantinuclearantibodies (ANA) patternsandextractablenuclearantigens (ENA) in HEp-2 cells in patientswithautoimmunediseases in Riyadh, SaudiArabia.IntractableRareDisRes. 2020 May;9(2):89-94.
121. Salle V. Coronavirus-inducedautoimmunity. Clin immünol. 2021; 226:108694.
122. Gracia -Ramos AE, Martin-Nares E, Hernández-Molina G. New onsetaoautoimmunediseasefollowing covid-19 diagnosis. Cells. 2021 Dec 20;10(12):3592.
123. Mavi D, İnkaya AÇ. COVID-19: İmmün Patogenez. Flora. 2020;25:1–11.
124. Brihn A, Chang J, OYong K, et al. DiagnosticPerformance of an Antigen Test with RT-PCR fortheDetection of SARS CoV-2 in a HospitalSetting - Los Angeles County, California, June-August 2020. MMWR Morb Mortal WklyRep. 2021;70(19):702-706.
125. Peker BO, Şener AG, Kaptan Aydoğmuş F. Antinuclearantibodies (ANAs) detectedbyindirectimmunofluorescence (IIF) method in acute COVID-19 infection; futureroadmapforlaboratorydiagnosis. J ImmunolMethods. 2021 Dec;499:113174.
126. Pascolini S, Vannini A, Deleonardi G, Ciordinik M, Sensoli A, Carletti I, Veronesi L, Ricci C, Pronesti A, Mazzanti L, Grondona A, Silvestri T, Zanuso S, Mazzolini M, Lalanne C, Quarneri C, Fusconi M, Giostra F,

- Granito A, Muratori L, Lenzi M, Muratori P. COVID-19 and Immunological Dysregulation: Can Autoantibodies be Useful?. *Clin Transl Sci*. 2021 Mar;14(2):502-508.
127. Chang SH, Minn D, Kim YK. Autoantibodies in moderate and critical cases of COVID-19. *Clin Transl Sci*. 2021 Sep;14(5):1625-1626.
 128. Wang X, Xia Y. Anti-double Stranded DNA Antibodies: Origin, Pathogenicity, and Targeted Therapies. *Front Immunol*. 2019 Jul 17;10:1667.
 129. Pisetsky DS. Anti-DNA antibodies--quintessential biomarkers of SLE. *Nat Rev Rheumatol*. 2016 Feb;12(2):102-10.
 130. Zhou Y, et al. Clinical and Autoimmune Characteristics of Severe and Critical Cases of COVID-19. *Clin Transl Sci*. 2020. Nov;13(6):1077-1086.
 131. Brandi N, Spinelli D, Granito A, Tovoli F, Piscaglia F, Golfieri R, Renzulli M. COVID-19: Has the Liver Been Spared? *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 6;24(2):1091.
 132. Xu L, Liu J, Lu M, Yang D, Zheng X. Liver injury during highly pathogenic human coronavirus infections. *Liver Int*. 2020 May;40(5):998-1004.
 133. Cheong J, Bartell N, Peeraphatdit T, Mosli M, Al-Judaibi B. Gastrointestinal and liver manifestations of COVID-19. *Saudi J Gastroenterol*. 2020 Sep-Oct;26(5):226-232.
 134. Singh B, Kaur P, Maroules M. Autoimmune Hepatitis-Primary Biliary Cholangitis Overlap Syndrome Triggered by COVID-19. *Eur J Case Rep Intern Med*. 2021 Feb 4;8(3):002264.
 135. Kabaçam G, Wahlin S, Efe C. Autoimmune hepatitis triggered by COVID-19: A report of two cases. *Liver Int*. 2021 Oct;41(10):2527-2528.
 136. Bartoli A, Gitto S, Sighinolfi P, Cursaro C, Andreone P. Primary biliary cholangitis associated with SARS-CoV-2 infection. *J Hepatol*. 2021 May;74(5):1245-1246.
 137. Trovato CM, Montuori M, Pietropaoli N, Oliva S. COVID-19 and celiac disease: A pathogenetic hypothesis for a celiac outbreak. *Int J Clin Pract*. 2021 Sep;75(9):e14452.

138. Samasca G, Lerner A. Celiac disease in the COVID-19 pandemic. *J TranslAutoimmun.* 2021;4:100120.
139. Cakir M, Guven B, Issi F, Ozkaya E. New-onset celiac disease in children during COVID-19 pandemic. *ActaPaediatr.* 2022 Feb;111(2):383-388.
140. Unsworth R, Wallace S, Oliver NS, Yeung S, Kshirsagar A, Naidu H, Kwong RMW, Kumar P, Logan KM. New-Onset Type 1 Diabetes in Children During COVID-19: Multicenter Regional Findings in the U.K. *DiabetesCare.* 2020 Nov;43(11):e170-e171.
141. Lima-Martínez MM, Carrera Boada C, Madera-Silva MD, Marín W, Contreras M. COVID-19 and diabetes: A bidirectional relationship. *ClinInvestigArterioscler.* 2021 May-Jun;33(3):151-157.
142. Khunti K, Del Prato S, Mathieu C, Kahn SE, Gabbay RA, Buse JB. COVID-19, Hyperglycemia, and New-Onset Diabetes. *DiabetesCare.* 2021 Dec;44(12):2645-2655.
143. Hollstein T, Schulte DM, Schulz J, Glück A, Ziegler AG, Bonifacio E, Wendorff M, Franke A, Schreiber S, Bornstein SR, Laudes M. Autoantibody-negative insulin-dependent diabetes mellitus after SARS-CoV-2 infection: a case report. *NatMetab.* 2020 Oct;2(10):1021-1024.
144. Tittel SR, Rosenbauer J, Kamrath C, Ziegler J, Reschke F, Hammersen J, Mönkemöller K, Pappa A, Kapellen T, Holl RW; DPV Initiative. Did the COVID-19 Lockdown Affect the Incidence of Pediatric Type 1 Diabetes in Germany? *DiabetesCare.* 2020 Nov;43(11):e172-e173.
145. Izci Duran T, Turkmen E, Dilek M, Sayarlioglu H, Arik N. ANCA-associated vasculitis after COVID-19. *RheumatolInt.* 2021 Aug;41(8):1523-1529.
146. Jain K, Jawa P, Derebail VK, Falk RJ. Treatment Updates in Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies (ANCA) Vasculitis. *Kidney360.* 2021 Apr;2(4):763-770.

147. Gelzo M, Cacciapuoti S, Pinchera B, De Rosa A, Cernera G, Scialò F, Comegna M, Mormile M, Gallicchio A, Fabbrocini G, Parrella R, Corso G, Gentile I, Castaldo G. A Transient Increase in the Serum ANCAs in Patients with SARS-CoV-2 Infection: A Signal of Subclinical Vasculitis or an Epiphenomenon with No Clinical Manifestations? A Pilot Study. *Viruses*. 2021 Aug 29;13(9):1718.
148. Hejazian SS, Hejazian SM, Farnood F, Abedi Azar S. Dysregulation of immunity in COVID-19 and SLE. *Inflammopharmacology*. 2022 Oct;30(5):1517-1531.
149. BozzallaCassione E, Zanframundo G, Biglia A, Codullo V, Montecucco C, Cavagna L. COVID-19 infection in a northern-Italian cohort of systemic lupus erythematosus assessed by telemedicine. *Ann Rheum Dis*. 2020 Oct;79(10):1382-1383.
150. Gendebien Z, vonFrenckell C, Ribbens C, André B, Thys M, Gangolf M, Seidel L, Malaise MG, Malaise O. Systematic analysis of COVID-19 infection and symptoms in a systemic lupus erythematosus population: correlation with disease characteristics, hydroxychloroquine use and immunosuppressive treatments. *Ann Rheum Dis*. 2021 Jun;80(6):e94.



