

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ANTİNÜKLEER  
ANTİKOR SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hewa Jalal AZEEZ  
TEMEL TIP BİLİMLERİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Yasemin BAYRAM

VAN-2016

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ANTİNÜKLEER  
ANTİKOR SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hewa Jalal AZEEZ  
TEMEL TIP BİLİMLERİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Yasemin BAYRAM

VAN-2016

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ANTİNÜKLEER  
ANTİKOR SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hewa Jalal AZEEZ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Doç. Dr. Yasemin BAYRAM  
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Hüseyin GÜDÜĞÜOĞLU  
Üye

Yrd. Doç. Dr. Hanifi KÖRKOCA  
Üye

TEZ KABUL TARİHİ  
/ 06 / 2016

## TEŞEKKÜR

Beni her zaman dinleyen, tavsiyeleriyle her zaman varlığını hissettiren, ilham kaynağım olan, sorunlara yaklaşım ve çözümler bulmada bana yol gösteren tez danışmanım Doç. Dr. Yasemin BAYRAM'a teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca; Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbı Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOđLU, öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet PARLAK, anabilim dalında görevli tüm asistanlar, mikrobiyoloji laboratuvarı sorumlusu tıbbi tekniker Emrullah ATIŐ ve laborant Sinan GÖKYER'e minnettarlığımı dile getirir, bu çalışmam esnasında desteklerini benden esirgemeyen başta annem olmak üzere eşime ve tüm kardeşlerime sonsuz teőekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI.....	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER .....	III
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	V
TABLolar .....	VI
ŞEKİLLER.....	VII
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Otoimmünite.....	3
2.1.1. Tarihçe .....	3
2.1.2. Öz tolerans ve otoimmünite.....	3
2.1.3. Otoimmünitede genetik etmenler .....	6
2.1.4. Çevresel faktörlerin otoimmünitedeki etkileri.....	6
2.1.5. Hormonların otoimmünitedeki etkileri .....	8
2.1.6. Bölgesel ve etnik faktörler.....	8
2.2. Otoimmün Hastalıkların Mekanizması .....	8
2.2.1. İmmünoregülasyonda bozukluk .....	9
2.2.2. Moleküler benzerlik.....	9
2.2.3. Yeni epitoplara oluşması .....	10
2.2.4. Saklı antijenin ortaya çıkması.....	10
2.2.5. Sitokin disfonksiyonu .....	10
2.2.6. Genetik faktörler.....	11
2.3. Otoimmün Hastalıklar .....	11
2.3.1. Organ spesifik otoimmün hastalıklar.....	12
2.3.2. Sistemik otoimmün hastalıklar .....	13
2.4. Otoimmün Hastalıkların Tanısı .....	14
2.5. Otoantikorların Belirlenmesinde Kullanılan Teknikler .....	15
2.5.1. İmmünodifüzyon (ID).....	15
2.5.2. İmmüno Floresan antikor testi .....	15
2.5.3. Counter İmmünoelektroforez (CIE) yöntemi .....	16

2.5.4. Radio immunoassay (RIA) .....	16
2.5.5. Enzim linked immunosorbent assay (ELISA) .....	18
2.5.6. Microarray tabanlı yaklaşımlar ile otoantikor tayini. ....	19
2.6. Antinükleer Antikorlar .....	19
2.6.1. DNA ve histon otoantikorları .....	19
2.6.2. Ekstrakte edilebilir nükleer antijenlerin otoantikorları (ENA).....	20
2.7. C-Reaktif Protein (CRP) .....	23
2.8. Romatoid Faktör (RF) .....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	25
3.1. Gereç .....	25
3.1.1. Çalışma grubu.....	25
3.1.2. Kullanılan araç ve gereçler .....	25
3.1.3. Kullanılan solüsyonlar .....	26
3.2. Yöntem .....	26
3.2.1. Romatoid faktör ölçümü .....	26
3.2.2. CRP ölçümü.....	27
3.2.3. İndirek immün floresans (IFA).....	29
3.2.4. İstatistiksel analiz .....	30
4. BULGULAR.....	31
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	37
ÖZET.....	41
SUMMARY .....	42
KAYNAKLAR .....	43
ÖZGEÇMİŞ .....	50
EKLER.....	51

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>g</b>	: Gram
<b>mg</b>	: Miligram
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>μ</b>	: Mikron
<b>μl</b>	: Mikrolitre
<b>μm</b>	: Mikrometre
<b>AFA</b>	: Anti filaggrin antikorları
<b>AKA</b>	: Anti keratin antikorları
<b>ANA</b>	: Anti nükleer antikör
<b>Anti-CCP</b>	: Anti cyclic citrullinated peptide
<b>APF</b>	: Anti perinükleer faktör
<b>EBMC</b>	: Euro Blot Master
<b>ELISA</b>	: Enzim linked immunosorbant assay
<b>IIF</b>	: İndirekt immün floresans
<b>MCTD</b>	: Mixed connective tissue diseases
<b>PANDAS</b>	: Pediatrik otoimmün nöropsikiyatrik hastalıklar
<b>PML</b>	: Polimorfo nükleer lökositleri
<b>RA</b>	: Romatoid artrit
<b>RF</b>	: Romatoid faktör
<b>SLE</b>	: Sistemik lupus eritromatozus
<b>CRP</b>	: C-reaktif protein

## TABLÖLAR

<b>Tablo 1.</b> Kullanılan araç ve gereçler. ....	24
<b>Tablo 2.</b> ANA sonuçlarının yaş ve cinsiyet durumuna göre dağılımı.....	30
<b>Tablo 3.</b> ANA sonuçlarının kliniklere göre dağılımı.. ....	33
<b>Tablo 4.</b> ANA ve CRP sonuçlarının karşılaştırılması.. ....	34
<b>Tablo 5.</b> ANA ve RF sonuçlarının karşılaştırılması.....	34



## ŞEKİLLER

Şekil 1. Direk ve indirek immünfloresan testi (Tozzoli et. al., 2002). .....	16
Şekil 2. Counter İmmünoelektroforez (CIE) yöntemi (Gan and Patel, 2013). .....	16
Şekil 3. Radio immunoassay (RIA) yöntemi (Rivas et al., 2008). .....	17
Şekil 4. Enzim Linked İmunosorbent Assay (ELISA). .....	18
Şekil 5. Anti dsDNA antikorlarının İFA yöntemiyle gösterimi. ....	19
Şekil 6. Anti RNP-Sm antikorlarının İFA yöntemiyle gösterimi. ....	20
Şekil 7. Anti Scl-70 antikorlarının İFA yöntemiyle gösterimi. ....	21
Şekil 8. Anti SSA/B antikorlarının İFA yöntemiyle gösterimi.....	22
Şekil 9. Anti-Sentromer antikorlarının İFA yöntemiyle gösterimi.....	22
Şekil 10. Dade Behring BN II model nefolometre cihazı.....	27
Şekil 11. Helmed line immunoassay analyzer. ....	29
Şekil 12. Aeskulides İFA test kiti. ....	29
Şekil 13. Hastaların cinsiyetlere göre dağılımı.....	31
Şekil 14. Hastaların yaş aralığına göre dağılımı.....	31
Şekil 15. ANA (+) sonuçların yaş gurupları ve cinsiyet durumuna göre dağılım grafiği. ....	33
Şekil 16. Tüm ANA sonuçların yaş gurupları ve cinsiyet durumuna göre dağılım grafiği. ....	34

## 1. GİRİŞ

Antinükleer antikörler (ANA) çekirdekteki ilgili yapılara karşı oluşan bir grup oto-antikördür ve sistemik lupus eritematoz (SLE), karışık bağ dokusu hastalığı (MBDH), Sjögren sendromu, skleroderma/CREST sendromu (sklerodaktili kutis, Raynaud fenomeni, özofagus dismotilite, ve telenjektazi kalsinozisin) ve dermatomyozit/polimiyozit gibi sistemik ya da organ-spesifik oto bağışıklık bozukluğu olan birçok kişide bulunur (Lyons et al., 2005).

Otoimmün hastalıklar (AD) neredeyse tüm insan organ sistemlerini ilgilendiren çeşitli hastalıkların oluşturduğu bir grubu ifade eder. Otoimmün hastalıklar sinir, sindirim ve endokrin sistemin yanı sıra cilt ve diğer bağ dokularını, gözleri, kan ve kan damarları gibi yapıları etkileyebilmektedir. Bu hastalıkların tümünün altında yatan neden otoimmünitedir ve otoimmünite durumunda vücudun bağışıklık sistemi hedefini saldırmaması gereken yapılara yönelir. Otoimmün hastalıklar erkeklere oranla kadınlara üç kat daha fazla etki eder. Bazı hastalıkların kadınlarda insidansı daha yüksektir. ABD’de 65 yaş ve daha küçük kadınların ölüm nedenleri arasında otoimmün hastalıklar ilk on sırada yer almaktadır (Arnason, 1999).

Sistemik lupus eritematozus (SLE), kronik, sebebi bilinmeyen, immünolojik bozukluklarla birlikte, otoimmün karakterli, birçok organ ve sistemi tutan bir bağ dokusu hastalığıdır. İlk defa 1833 yılında Fransız dermatolog Biett tarafından kronik dermatolojik bir rahatsızlık olarak tanımlanmış ve 1851 yılında Cazanave "Lupus eritematozus" ismini kullanmıştır. Osler 1890 yılında hastalığın sistemik özelliklerine dikkat çekmiştir. 1948 yılında Hargraves, Lupus Eritematozus "LE" hücre fenomenini, 1957 yılında Frio, indirekt immünfloresan yöntemle ANA varlığını göstermiştir. Daha sonra anti-DNA antikörün saptanması hastalığın otoimmün özelliğini kanıtlamış ve diğer gelişmelere katkı sağlamıştır. İmmünoloji ve modern genetik alanında bilgilerin hızla artması ile son 10 yılda sistemik otoimmün hastalıkların prototipi olan SLE patogenezinde ve tedavisinde gelişmeler kaydedilmiştir (Düzgün, 2005).

Serumda (ANA) ölçümü sistemik romatizmal hastalık taşıdığından şüphelenilen kişilerde en sık uygulanan tarama testi olup aynı zamanda bağ dokusu hastalığı ile de ilgilidir (Kavanaugh et al., 2000).

Hücre içi antijenlere karşı yöneltmiş ANA varlığı sistemik otoimmün romatizmal hastalıkların bir özelliğidir. İndirekt immun floresan (IIF) testi ANA tespiti için en yaygın kullanılan rutin yöntemlerden birisidir (Fitch-Rogalsky et al., 2014). Bu standart method otoimmün hastalıkların tanısında birinci basamak tarama testi olarak 50 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. ANA testi SLE tanısı için neredeyse %100 duyarlılığa sahip olmakla birlikte hastalığa özgü antikorların sayısındaki artışın tespiti, erken teşhis ve tedavi için yararlı olmaktadır (Satoh et al., 2015).

Romatoid faktör (RF), IgG'nin Fc parçasına karşı oluşmuş otoantikorlardır. IgM, IgG veya IgA tipinde olabilir, fakat konvansiyonel serolojik sistemler (aglutinasyon testleri) ile esas olarak IgM yapısındaki RF'ler saptanır (Background, 2010).

Bir inflamasyonun biyo-işaretleyicisi olan C-reaktif protein (CRP), SLE'li kişilerin hastalık seyrinde önmeli bir role sahiptir (Barnes ve ark., 2005). CRP seviyeleri enfeksiyöz hastalıklar ve romatoid artrit (RA) gibi çeşitli otoimmün hastalıklar ile doğrudan ilişkilidir (Vogt et al., 2007).

Bu çalışmada; Ekim 2013 ve Ekim 2015 yılları arasında Dursun Odabaş Tıp Merkezine başvuran ve otoimmünite şüphesi olan kişilere ait ANA, RF ve CRP değerlerini inceleyerek otoimmün hastalıkların tanısına katkı sağlamayı amaçlamaktayız.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Otoimmünite**

#### **2.1.1. Tarihçe**

Otoantikorlar ilk olarak Paul Ehrlich adlı araştırmacı tarafından ototoksik terör (horror autotoxicus) kavramı kullanılarak 1900'lü yılların başında tanımlanmıştır. 1948'de Hargraves, Lupus Eritematosus (LE) hücre fenomenini göstermiş ve bundan yaklaşık 14 yıl sonra SLE'li hastalarda ANA ve dsDNA varlığı gösterilmiştir (Holman, 2011). Geçtiğimiz 50 yıl içinde SLE, hücrenin farklı komponentleri ile reaksiyona giren çeşitli otoantikorlarla ilişkilendirilmiş ve anti-dsDNA antikorlarının bu hastalığın tanısındaki önemi açığa çıkarılmıştır (Isenberg ve ark., 2013).

#### **2.1.2. Öz tolerans ve otoimmünite**

Tüm bireyler, kendi vücutlarındaki öz antijen olarak adlandırılan yapılara karşı tolerans sağlayan bir mekanizmaya sahiptir. İmmünolojik tolerans, antijen ile karşılaşan lenfositlerin yanıt vermemesi olarak tanımlanabilir (Morel, 2004).

Bireyin kendi immün sistemi kendi öz antijenlerini tanımada başarısız olması ve bu yapıları yabancı olarak algılaması sonucunda otoimmün hastalıklar ortaya çıkmaktadır. İmmün sistem ve öz tolerans mekanizmalarının anlaşılabilmesi için çalışmalar CD4<sup>+</sup> T hücreleri etrafında yoğunlaşmıştır (Morel, 2004).

Öz antijenlere veya moleküllere karşı oluşan tolerans mekanizması iki kategoriye ayrılır:

#### **1- T hücre toleransı**

##### **T hücrelerinde merkezi (santral) tolerans**

Timusta henüz olgunlaşmamış T hücresi öz antijenleri yüksek avidite ile tanırsa apoptoz ile ölür. Timusta gelişen T hücreleri öz veya yabancı birçok tip antijeni tanıyabilen reseptörlere sahiptir. Olgunlaşmamış lenfositler MHC'ye bağlı olarak

sunulan kendi antijenlerimizle, kuvvetle etkileşime girerse bu lenfositler apoptozu tetikleyen sinyal alır ve olgunlaşmasını tamamlayamadan ölür. Bu olay negatif seçim veya elenme şeklinde tanımlanmaktadır ve bu durum santral toleransın başlıca düzeneğini oluşturur (Abul ve ark., 2007).

Henüz olgunlaşmamış T lenfositleri bir antijenle iki nedenle kuvvetli etkileşime girebilir; ya o antijen timusta yüksek yoğunlukta bulunmaktadır ya da lenfositin reseptörü antijene yüksek afinite ile bağlanmaktadır. Negatif seçime yol açan antijenler genellikle timusta pozitif seçime yol açan antijenlerden daha yüksek konsantrasyonda bulunan antijenlerdir. İlginç olarak genelde veya sadece periferik doku ve organlarda gösterildiği sanılan birçok öz proteinin timus epitel hücrelerinde bulunduğu gözlenmiştir. Bundan dolayı, olgunlaşmamış T hücrelerine yönelik negatif seçim, birçok öz proteine karşı otoimmün yanıtın korunmaması yönünde önemli bir düzenek olabilir (Abul ve ark., 2007).

Timusta negatif seçimden kurtulan lenfositler, olgunlaşmasını sürdürür ve öze tepkili lenfositlerden arındırılır. Merkezi tolerans işleminden, hem antijenik peptidi MHC sınıf I antijenleri üzerinde algılayan öze tepkili CD8<sup>+</sup> hemde MHC sınıf II antijenleri üzerinde algılayan öze tepkili CD4<sup>+</sup> T hücreleri etkilenir. Timusta öz antijeni yüksek afinite ile tanıyan T hücrelerini apoptozu hangi sinyallerin yönelttiği bilinmemektedir. Yine öz antijenlerle bağlanan olgunlaşmamış T hücresinin negatif seçimle silinmesini veya düzenleyici T hücre olmasını neyin belirlediği de henüz bilinmemektedir (Abul ve ark., 2007).

### **T hücrelerinde periferik tolerans**

Periferik tolerans, olgun T hücresi periferde öz antijenleri tanıdığı anda oluşur. Sonuçta işlevsel yanıtsızlık (anerji), ölüme yol açma veya düzenleyici T hücreler tarafından öze tepkili lenfositlerin baskılanması olaylarından biri gerçekleşir. Periferik tolerans timusta olmayıp, temelde periferik dokularda olan, öz antijenlere T hücre yanıtının önlenmesinde önemlidir. Ayrıca bu olay otoimmünitenin önlenmesinde merkezi toleransın yedeği olarak düşünülebilir (Abul ve ark., 2007).

## **2- B hücre toleransı**

Öz polisakkaritler, lipidler ve nükleik asitler T hücrelerinin tanımadığı T bağımsız antijenlerdir. Otoantikor yapımının engellenmesi için bu antijenlerin B lenfosit toleransı oluşturması gerekir. Merkezi ve periferik B lenfosit toleransı temel olarak T hücre toleransı mekanizmaları ile benzerlik gösterir (Abul ve ark., 2007).

### **B hücrelerinde santral tolerans**

Olgunlaşmamış B lenfositleri kemik iliğinde öz antijenlere kuvvetle bağlanırsa ya negatif seçim yoluyla öldürülür ya da reseptörlerinin özgüllüğünü değiştirirler. T hücrelerinde olduğu gibi, B hücrelerinin negatif seçim mekanizması, yaygın olarak eksprese edilen hücre zarı veya çözünür öz antijenlere yüksek afiniteli algaçlarla bağlanan, olgunlaşmamış B hücrelerinin elenmesiyle sonuçlanır (Abul ve ark., 2007).

Olgunlaşmamış B hücreleri otoimmunitiyi engellemek için ikinci bir mekanizma kullanırlar. B hücreleri, kemik iliğinde öz antijenleri tanıdığına, immünoglobülin genleri yeniden düzenlenerek yeni bir immunoglobülin hafif zinciri yapabilirler. Böylece bu yeni hafif zincir, daha önceden düzenlenmiş ağır zincirlerle birleşerek önceki öz antijene özgül olmayan yeni bir algaca dönüşebilir (Abul ve ark., 2007).

### **B hücrelerinde periferik tolerans**

Periferik dokularda yüksek yoğunlukta öz antijenlerle karşılaşan B hücresi anerjik duruma geçer ve o antijene bir daha yanıt vermez. Bir varsayıma göre eğer B lenfositleri bir antijeni tanırsa ancak T hücresinden gerekli yardım iletilmesini almazsa anerjik duruma geçer. T bağımsız antijenlerse büyük olasılıkla ancak kuvvetli uyarım yaptıkları zaman B lenfositlerini etkin duruma getirebilmektedir. Anerjik B lenfositleri lenfoid folikülleri terk edebilir veya sonradan lenfoid folikülden dışlanırlar. Bu dışlanan B hücreleri yaşamlarını sürdürmek için gerekli uyarıyı alamadıkları için ölürlür. Otoantikor oluşumuyla ilişkili hastalıkların hem B lenfositleri hemde yardımcı T lenfositlerindeki tolerans hatalarından kaynaklandığından kuşulanılmaktadır (Abul ve ark., 2007).

### **2.1.3. Otoimmünitelerde genetik etmenler**

Yapılan bilimsel çalışmalar, genetik faktörlerinde otoimmün hastalıkların oluşumunda önemli rol oynadığını düşündürmektedir (Adorini et al., 2002).

Birçok gen otoimmün hastalığa yatkınlığa neden olur fakat bunlardan en önemlileri MHC genleridir. Otoimmünitelerde genetik etmenlerin rolü ikizlerle yapılan çalışmalarda dikkati çekmiştir. İkizlerden birinde bir otoimmün hastalık geliştiğinde diğesinde de gelişme olasılığı toplumda beklenenden çok daha fazladır. Ayrıca bu olasılık tek yumurta ikizlerinde, çift yumurta ikizlerine göre daha yüksektir (Abul ve ark., 2007).

İnsan ve eş soylu hayvanlardaki birçok otoimmün hastalık belli MHC allelleri ile bağlantılıdır. HLA allelleri ile otoimmün hastalıklar arasındaki ilişki çok eskiden beri bilinmektedir ve bu bilgi T hücrelerinin de bu hastalıklarda önemli rolü olduğu konusunda birinci derece kanıt olarak algılanmıştır. Çünkü MHC moleküllerinin temel görevi peptit antijenleri T hücrelerine sunmaktır. Bazı otoimmün hastalıkların sıklığı belirli bir HLA allelini taşıyanlarda taşımayanlara oranla çok daha yüksek olarak gözlenmektedir (Abul ve ark., 2007).

### **2.1.4. Çevresel faktörlerin otoimmünitelerdeki etkileri**

Yapılan çalışmalar ile çeşitli kimyasal maddelerin ve infeksiyöz organizmaların bulunduğu çevrelerin otoimmün hastalıkların ortaya çıkmasıyla bağlantısı gösterilmiştir (Reeves et al., 2009).

Sistemik otoimmün hastalıkların semptomları kimyasal ve farmasötik ajanlara maruz kalma sıklığı ile bağlantılıdır. Civa klorür gibi ağır metal veya polivinil klorür (PVC) gibi toksinler immün kompleks nefriti ve sistemik skleroza yol açabildikleri gibi otoantijenlerle reaksiyona giren antikörlerin gelişmesinde yol açabilmektedirler. Yine mobilyalarda kullanılan sprey boyalar ile parfüm ve kozmetik ürünleri otoimmün hastalıklara yatkınlığı arttırmaktadır.

Sistemik Lupus Eritematozus (SLE), otoimmün bir hastalık olup, UV radyasyonuna maruz kalmakla özellikle UV-β ışınları ile bağlantılıdır. DNA and

küçük bir nükleer Ribonükleoprotein (snRNP) bu ışınlar maruz kaldığı zaman bu moleküllerin değişime uğradığı in vitro çalışmalar ile ileri sürülmektedir. Bu değişiklikler bir öz reaktif lenfosit aktivasyonu olasılığını arttırabilmektedir (Sanchez et al., 1993).

Otoimmün bozukluklara neden olan çevresel faktörlerin genel mekanizmaları;

- DNA metilasyon ve histon proteini modifikasyonu gibi epigenetik değişiklikler.
- Yeni potansiyel antijenlerin üretimi ile sonuçlanan konak bileşenleri ile dış bileşenlerin reaksiyonu.
- Pro-enflamatuvar sitokinlerin öncülüğünde programlanmamış hücre ölümüne neden olan serbest bazı malzemelere bağlı inflammasom aktivasyonu.
- Moleküler taklit.

Bramwell, 1914'de silika maruziyeti ve otoimmün hastalıklar arasındaki ilişkiyi açıklamış ve skleroderma vakasının taş ustalarında arttığını göstermiştir (Ray, 2013).

Sanchez-Roma ve arkadaşları mesleki nedenlerle silikaya maruz kalan kişilerin çeşitli otoimmün hastalıkların gelişiminde (sistemik lupus eritematozus, scleroderma vb.) yüksek yatkınlığa sahip olduklarını belirtmişlerdir (Of et al., 2002).

SLE için mesleki silika maruziyeti ilişkili birçok epidemiyolojik çalışma yapılmıştır. Silikaya maruz kalan kişilerin, düzenleyici T hücrelerinin boyutu ve fonksiyonunu azalmış ve bunun bir sonucu olarak CD95 kaynaklı apoptosise duyarlı hale gelmişlerdir. Bunun yanı sıra, cevaplayıcı T hücreleri de hızla aktif hale gelirler. Bu iki işlem bir arada olduğunda, düzenleyici T hücrelerinin kaybı ve cevaplayıcı T hücrelerinin kronik aktivasyonu, silikaya maruz kalan kişilerde bağışıklık sisteminin düzensizleşmesi ile sonuçlanır (Wucherpfennig, 2001).

İlaç tedavileri de otoimmün hastalıklara yol açabilmektedir. Sulphonamid türevi içeren ilaçların pemfigusa yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca bazı antibiyotikler ve non-steroid anti inflamatuvar ilaçların (NSAID) da pemfigusa yol açtığı düşünülmektedir.

Viral, bakteriyel veya Mycoplasma enfeksiyonuna sahip insanların sistemik otoimmün hastalıklara yüksek yatkınlığı ortaya konmuştur. Ciddi bir düzeyde bakteriyel

veya viral enfeksiyon gerçekleşmesi pasif bir otoimmün hastalığa veya mevcut semptomların kötüleşmesine neden olabilir. Bu ağır enfeksiyonlar reaktif antikorlar veya konvensiyonel T-hücrelerinde bir artışa neden olabilir (Whitacre, 2001 and Ansar Ahmed Penhale and Talal, 1985).

### **2.1.5. Hormonların otoimmünitedeki etkileri**

Kadınların erkeklere oranla otoimmün hastalıklara yatkınlığının daha fazla olduğu kanıtlanmıştır (Ahmed et al., 1999).

Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) raporuna göre kadınların %85'inden fazlasında tiroidit, skleroderma, lupus ve sistemik skleroz vakalarının olduğu tespit edilmiştir. Otoimmün hastalık duyarlılıklarında, X-kromozomu anomalileri gibi genetik faktörler ile östrojen ve androjen gibi cinsiyet hormonları çok önemli bir rol oynar (Grimaldi et al., 2002 and Bynoté et al., 2008 and Chan et al., 2009).

### **2.1.6. Bölgesel ve etnik faktörler**

Yeterli veri olmamasına rağmen, pek çok otoimmün hastalığın görülme sıklığı bölgesel veya etnik özelliğe göre farklılık gösterebilmektedir. Bu farklılığa, kimyasal bir maddenin veya infeksiyöz bir organizmanın varlığı ile otoimmün bir hastalığa spesifik tutarsız bir HLA allelinin varlığı yol açabilir. İnfeksiyon insidansının batılı ülkelerde azalırken gelişmekte olan ülkelerde artması otoimmün hastalıkların etnik ve bölgesel farklılıklarla ilişkisini desteklemektedir (Sospedra and Martin, 2006).

## **2.2. Otoimmün Hastalıkların Mekanizması**

Toleransın yıkılması, self ve non-self ayırımının ortadan kalkması immün sistem komponentlerinin kendi antijenlerine karşı reaksiyon vermesine yol açar. Daha önce de belirtildiği gibi bu mekanizma ile oluşan hastalıklara otoimmün hastalıklar denir. Bu hastalıklar oto-antikorlarla veya oto-reaktif T hücreleri aracılığı ile gelişir (Bolon, 2012).

Otoimmün hastalıkların oluşmasında çeşitli immünolojik olayların rol oynadığı in-vitro çalışmalar ve hayvan deneyleri sonucunda ileri sürülmüştür.

### **2.2.1. İmmünoregülasyonda bozukluk**

İmmünolojik mekanizmalar, otoagressiv reaksiyonu önlemeye çalışır. İmmünoregülatör T hücrelerin CD4 ve CD8 alt grupları bu olayda önemli rol oynar. Timik eğitim esnasında self reaktif T hücreler klonal delesyon veya klonal anerji ile elimine edilir. Fakat bazı self reaktif T hücreleri bu eğitimden kaçır, dolaşıma katılır fakat bu hücreler regülatuvar mekanizmaların kontrolü altındadır. Bu mekanizmalarda oluşan anormallikler sonucu tolerans bozulur ve self reaktif T hücreleri aktif hale gelir (Bolon, 2012).

### **2.1.2. Moleküler benzerlik**

En çok kabul gören teorilerden biri moleküler benzerliktir. Yabancı bir antijenin immünojenik peptidi ile self-antijen peptidi yapısal olarak benzerlik gösterebilir. Böylece, yabancı bir peptide karşı gelişen immün yanıt, bu peptide benzer self-antijene karşı devam edebilir. Bunun sonucunda otoimmün yanıt ortaya çıkar. Bazı hastalıklar bu mekanizmayı açıklayabilir. Örneğin akut romatizmal ateşte streptokok infeksiyonundan sonra bu bakterinin “M grup” proteinlerine karşı oluşan antikorlar kardiyak myosin proteinleri ile çapraz reaksiyona girer. Bir çalışmada, 11 farklı virüse spesifik 600 farklı monoklonal antikorla normal doku antijenlerinin çapraz reaktivitesi araştırılmış ve virüse spesifik antikorların, %3 veya daha yüksek oranda, normal dokuya bağlanabildiği tespit edilmiş bunun sonucunda moleküler benzerliğin sık bir fenomen olduğu bildirilmiştir. Moleküler benzerlik sonucu gelişen otoimmün reaksiyonların en iyi örneklerinden biri, kuduz aşısı verilen bazı insanlarda gelişen post-rabies ensefalittir. Geçmiş yıllarda, rabies virüs tavşan beyin kültürlerinde üretildiği için hazırlanan aşılarla tavşan beyin hücreleri de bulunmaktaydı. Bu aşısındaki tavşan beyin hücreleri konakta antikor ve aktive T lenfositlerinin oluşumunu indükleyip alıcının kendi beyin hücreleri ile çapraz reaksiyon vermesi sonucunda ensefalit gelişiordu (Oldstone, 2005).

Myelin basık protein (MBP) ile birçok viral peptid arasında benzerlikler saptanmıştır. Örneğin deneysel olarak ensefalit yaratabilen MBP'lerle kızamık virüsü, influenza, polioma, adenovirus, Rous sarcoma, Abelson leukemia, poliomyelit, Epstein-Barr ve hepatitis B virüsü gibi çok sayıda virüsün bazı sekansları arasında benzerlikler bulunmuştur (Oldstone, 2005).

HBV'nin polimeraz enzimidaki bir peptid ile ensefalit yapabilen MBP peptid sekansı ile %60 homoloji gösterir. Bu HBV peptidi ile immünize edilen tavşanlarda, MBP'le çapraz reaksiyon veren antikorlar oluşmuş ve MBP uyarısı sonrası tavşanların T lenfositleri proliferasyon göstermiştir. Ayrıca, immünize tavşanların beyinde hücrel infiltrasyonlar gösterilmiştir (Oldstone, 2005).

Bir çok organ spesifik otoimmün hastalığın bu mekanizma ile oluştuğu tahmin edilmektedir.

### **2.2.3. Yeni epitopların oluşması**

Self-antijenler normal şartlar altında tolerize T ve B hücreleri tarafından tanınmaz ve ona karşı immün yanıt oluşmaz. Ancak ilaç, virüs veya başka bir patojen mekanizma ile self-antijenin yapısı bozulursa, bu antijenik yapıda yeni bir epitop oluşabilir. Bu epitop T hücreleri tarafından tanınır ve kendisine karşı immün yanıt başlar (Bolon, 2012).

### **2.2.4. Saklı antijenin ortaya çıkması**

Beyin, testis ve göz gibi organlarda bulunan antijenler immün sistemle karşılaşmadıkları için bunlara karşı bir immün yanıt gelişmemektedir. Daha önce immün sistemle karşılaşmamış sekestre (saklı) antijenler travma gibi herhangi bir etken sonucu dolaşıma karıştıklarında immün yanıtı açabilmektedirler. Örnek olarak gözün içinde bulunan uvea antijenlerinin gözün zedelenmesi sonucu dolaşıma karışması, sempatetik oftalmi hastalığına yol açmaktadır (Çağlayan, 2006).

### **2.2.5. Sitokin disfonksiyonu**

Sitokin ağında disregülasyon self reaktif T hücrelerin aktivasyonuna yol açar. Sitokinler öncelikle hedef hücre yüzeyinde MHC I ve MHC II molekül ekspresyonuna yol açarak otoimmünitede çok önemli bir rol oynar. Bilindiği gibi CD4<sup>+</sup> T hücrelerin iki alt grubu (Th1 ve Th2) sentezledikleri sitokinlerle immün yanıtı yönlendirirler. Th1 hücreler IL-2 ve IFN- $\gamma$  sekrete ederken Th2 fonksiyonunu inhibe eder. Th2 hücreler ise IL-4, IL-5, IL-10 senteze eder ve Th1 aktivasyonunun baskılanmasını sağlar. Son yıllarda yapılan çalışmalar otoimmün yanıtta Th1 immünitenin rol oynadığı kabul

edilmektedir. Th2 yanıtın azlığı, defektif olması itham edilmektedir. Örneğin, IL-2 ile tedavi edilen hastalarda %10 kadar Hashimoto tiroiditi tesbit edilmiştir. Ayrıca, Hepatit C infeksiyonunda IFN- $\alpha$  tedavisi seyrinde Tip 1 diyabet gelişmiştir (O'Shea, 2002).

### **2.2.6. Genetik faktörler**

Otoimmün hastalıkların patogeneğinde genetik faktörlerin çok önemli bir rolü vardır. Antijen sunumunun MHC molekülleri ile olması genetik faktörleri ve HLA sistemini otoimmün olaylarda ön plana çıkarmaktadır. Bazı hastalıklardan korunmada, bazılarına ise daha kolay yakalanmada HLA-sistemi sorumlu tutulmaktadır. HLA-B27 sıklığı ve ankilozan spondilit arasındaki ilişki bilindikten sonra birçok otoimmün hastalıkta MHC I ve MHC II antijenleri araştırıldı. Tip 1 diyabette DR3/DR4 heterozigot durumu hastalık için risk taşıırken DR2' nin ise hastalığa karşı koruyucu bir etki gösterdiği tesbit edildi. Son yıllarda DQ allelerinin araştırılması ile dikkatler DQ b ve a zincirlerine çevrildi (Altman et al., 1991).

### **2.3. Otoimmün Hastalıklar**

İmmün yanıt normalde bireyi infeksiyonlardan ve yabancı olan maddelerden korur. İmmün sistem vücudun hemen her yerinde karşılaştığı sayısız yabancı antijene karşı savunma yapmak zorundadır (Mackay et al., 2014).

İmmün sistem kendine ait olan antijenleri yabancılardan ayırt etme özelliğini lenfositlerin gelişme sürecinde primer lenfoid organlarda kazanır. Kendine ait yapılara karşı immün yanıt vermez. Bu duruma self tolerans veya immün tolerans denir. Self toleransın bozulması ile otoimmün hastalıklar gelişebilir (Cotsapas and Hafler, 2013).

Dünya çapında, bu otoimmün hastalıklar ölümlerin önemli bir nedenidir ve bu ölümlerin büyük bir kısmı bu hastalıkların teşhis ve tedavisindeki yetersizlikten kaynaklanmaktadır. Hastalık unsurlarının tedavi edilecek kişi tarafından üretilmesi nedeniyle bu unsurlar ortadan kaldırılamamakta ve bu hastalıkların tedavisi neredeyse imkansız bir hal almaktadır. Patojeniteye neden olan immün sistemin baskılanması tedavi seçeneklerinden biridir. Ayrıca immunolojik tanı yöntemlerinin otoimmün hastalıkların altında yatan mekanizmaları belirleyebilmede yetersiz kalması bu hastalıkların görülme sıklığının artmasında önemli bir faktördür (Witebsky, 1967).

### **2.3.1. Organ spesifik otoimmün hastalıklar**

Bu tip hastalıklarda, immün yanıt direkt olarak sadece bir organ veya bezde bulunan self-antijenleri hedef alır. Sonuç olarak ortaya çıkan bulgular büyük oranda hedef organa aittir.

#### **2.3.1.1. Hashimoto tiroidi**

Hashimoto tiroiditi (HT), ilk defa 1912 yılında otopside elde edilen tiroid dokularında yapılan inceleme sonucunda Hakaru Hashimoto tarafından tanımlanmış olup kızlarda ve genetik yatkınlığı olan bireylerde daha sık görülmektedir. Hashimoto tiroiditi tanısı serumda artmış tiroid antikorlarının saptanması ve/veya ince iğne aspirasyon biyopsi bulgularının olması ile konur (Dündar ve ark., 2011).

#### **2.3.1.2. Otoimmün anemiler**

Bu grup hastalıklar megaloblastik anemi, otoimmün hemolitik anemiler (OHA) ve ilaç nedenli hemolitik anemilerden oluşur.

Megaloblastik anemiler genelde Vitamin B12 ve folik asit gibi pirimidin metabolizmasında gerekli vitaminlerin eksikliğine bağlı makrositoz ve aneminin beraber olduğu anemilerdir. Nadiren bazı metabolik kusurlara bağlı olarak da görülebilirler (Aslinia et al., 2006).

İmmün hemolitik anemi eritrosit yüzey antijenlerine bağlanan immünglobülin G ve/veya immünglobülin M tipi antikorların başlattığı, intravasküler veya retikuloendotelial sistemde eritrosit yıkımı ile karakterize bir durumdur. Oluşan antikorlar hastanın kendi eritrositlerine karşı oluşmuş ise otoimmün hemolitik anemi olarak tanımlanır. Hastalık bu antikorların aktif olduğu vücut sıcaklığına göre soğuk tip, sıcak tip ve miks tip olarak sınıflandırılır (Candemir ve ark., 2006).

İlaça bağlı otoimmün hemolitik anemi ilaç, eritrosit membranı ve immün sistem arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkar ve çocuklarda seyrek görülür. İlk tanımlandığı andan günümüze kadar yaklaşık yüz farklı ilacın hemolize neden olduğu saptanmıştır (Candemir ve ark., 2006).

### **2.3.1.3. Tip I diyabet**

Pankreasta bulunan ve insülin üreten beta hücrelerinin otoimmün bir süreç sonunda zedelenmesi ile meydana gelen kronik otoimmün bir hastalıktır (Barker, 2006).

### **2.3.1.4. Good pasture hastalığı**

Good Pasture sendromu otoimmün bir hastalık olup hızlı ilerleyen glomerulonefrit ve pulmoner hemoraji birlikteliği ile giden bir reno-pulmoner sendromdur. Good Pasture hastalığı terimi ise aynı patolojinin izole renal tutulumu ile karakterize olduğunu belirtmektedir (Değer ve Galip 2013)

### **2.3.1.5. Graves hastalığı**

Graves hastalığı, tiroit folikül hücrelerindeki TSH reseptörlerine karşı, tiroidi uyaran antikor ve immunglobülinlerin neden olduğu otoimmün hastalıktır. Kadınlarda erkeklerden 6 kat fazla görülür. Kadın popülasyonunda %2 gibi bir oranda görülmektedir (Güler ve ark., 2008).

### **2.3.1.6. Myastenia gravis (MG)**

Miyastenia gravis, nöromusküler bileşkenin antikorlar tarafından hasarlandığı kompleks bir hastalıktır. Bu hastalıkta, klinik olarak, vücudun istemli kasları, özellikle göz, ağız, göğüs ve ekstremiteler kasları etkilenir (Saltık ve ark., 2004).

## **2.3.2. Sistemik otoimmün hastalıklar**

Sistemik otoimmün hastalıklarda, çeşitli hedef antijenlere yönelik yanıtlar oluşarak sayısız organ ve dokuda hasarlar gelişir. Genellikle, romatolojik hastalıklar şeklinde ortaya çıkar. En sık hedef olan organlar; deri, böbrekler, eklemler ve kas dokusudur.

### **2.3.2.1. Multipl skleroz (MS)**

Santral sinir sistemini etkileyen otoimmün bir hastalık olup ekstremitelerde duyu kaybı, paralizi ya da körlük gibi semptomlara neden olabilir. Genellikle MS'lu hastalara çoğunlukla, 20-45 yaş aralığında tanı konur (Amato et al., 2001).

### **2.3.2.2. Romatoid artrit**

Romatoid Artrit (RA) eklemlerde yaygın ve simetrik kronik inflamasyonla karakterize sistemik otoimmün bir hastalıktır. Hastalığın etkisi, aile hayatı, sosyal ilişkiler, iş hayatı gibi yaşamın tüm alanlarında görülebilir (Altan ve ark., 2004).

### **2.3.2.3. Skleroderma (SD)**

Skleroderma deri ve çeşitli organlarda inflamatuvar, vasküler ve fibrotik değişikliklerle karakterize bir bağ dokusu hastalığı olup kadınlarda erkeklere göre 4-9 kat daha sık görülmektedir (Kıvanç ve ark., 2012).

### **2.3.2.4. Sistemik lupus eritematosus (SLE)**

Sistemik lupus eritematosus (SLE), kronik, sebebi bilinmeyen, immünolojik bozukluklarla birlikte, otoimmün karakterli, birçok organ ve sistemi tutan bir bağ dokusu hastalığıdır. Hastalık klinikte ateş, eklemlerde şişlik, ciltte eritemli döküntülerden, böbrek, santral sinir sistemi, akciğer gibi organ ve sistemlerin etkilenmesine kadar çeşitlilik gösterir. Hastaların büyük kısmında halsizlik yorgunluk ateş, kas ağrıları ve kilo kaybı gibi spesifik olmayan sistemik semptomlar yanında, spesifik organ ve sistem semptomları bulunabilir. Hastalık, bazen ateş ile başlayarak enfeksiyonu taklid edebilir veya sinsi bir şekilde aylar ve yıllarca ateş, yorgunluk, halsizlik semptomları ile seyredebilir (Düzgün, 2005).

## **2.4. Otoimmün Hastalıkların Tanısı**

Otoimmün bir hastalığın tedavisi için öncelikle doğru tanı konmalıdır. Otoimmünitenin herhangi bir doku veya organa karşı gelişmiş olabilmesi hastalığın teşhisi zorlaştırabilir. Hastalığın semptomları otoantikorun etkilediği bölgeye göre değişiklik gösterebilir ki geniş spektrumlu bu semptomlar otoimmün hastalıkların teşhisini daha da kompleks hale getirir. Ayrıca otoimmün hastalık ileri safhalara ulaşmadan semptomlar ortaya çıkmamakta ve bu da tedavi seçeneklerini sınırlamaktadır. Teşhisin ilk aşaması kişinin mesleki geçmişi, yaşadığı çevre ve genetik yatkınlığının araştırılmasından oluşur. Yorgunluk, ani kilo kaybı, kas ve eklem ağrıları ile ateş spesifik olmayan başlangıç semptomları arasında yer almaktadır. Bu semptomlar

her ne kadar spesifik olmasa da herhangi bir otoimmün hastalık için başlangıç semptomları olarak kabul edilir. Laboratuvar testleri hastalığın tipini ve şiddetini belirlemeye yardımcı olur. Otoimmün hastalıklara spesifik otoantikolar laboratuvar testleri ile tespit edilebilir. Otoantikorun varlığı otoimmün bozukluğa işaret eder. Otoantikor tespiti hastalığın erken aşamalarında tanıya yardımcı olmakla birlikte bu teslerin yorumlanması oldukça karışıktır (Castro and Gourley, 2010).

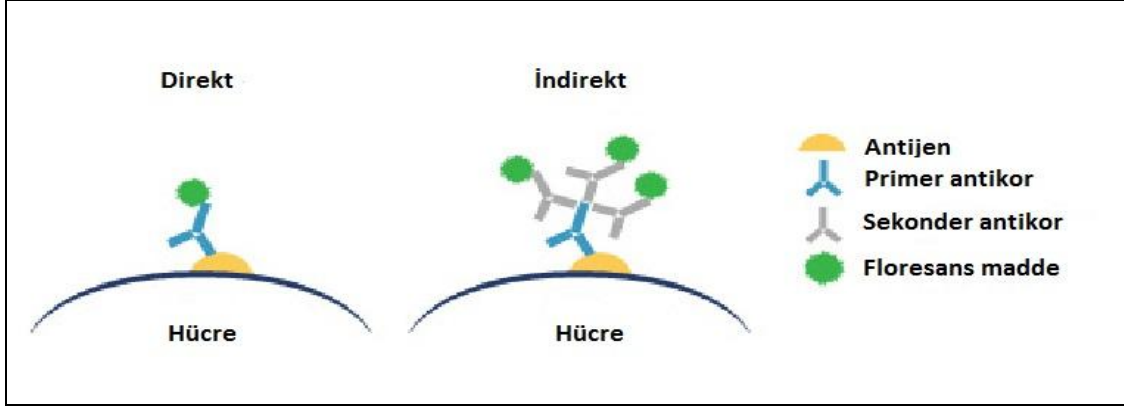
## **2.5. Otoantikoların Belirlenmesinde Kullanılan Teknikler**

### **2.5.1. İmmünodifüzyon (ID)**

Antijen ve antikor moleküllerinin birbirine doğru yayılabildiği jel veya yarı katı ortamda yapılan bir tekniktir. Böyle bir ortamda birbirine doğru yayılan antijen ve antikor optimal oranda buldukları bölgelerde karşılaştıklarında bir presipitasyon çizgisi veya bandı oluşturarak çökerler (Fritschy and Härtig, 2001).

### **2.5.2. İmmünofloresan antikor testi**

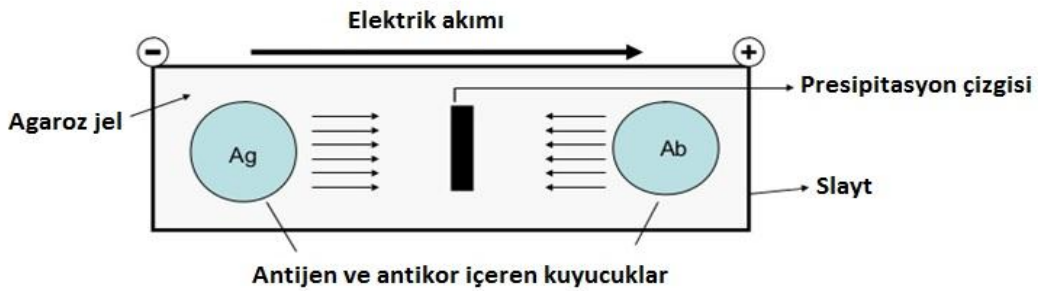
Otoimmün hastalığı olduğu düşünülen bir hastadan alınan serum örneği Hep-2 hücreleriyle yaklaşık 30 dakika inkübe edilir, preparat yıkanır ve sonra floresan ifliyetli anti-insan globulin içeren ayıraçla inkübasyon işlemi tekrarlanır. Hazırlanan preparatta hasta serumunda bulunan otoantikoların yoğunluğuna paralel floresan boya bulunmaktadır. Preparat floresan mikroskopunda incelendiğinde, floresan boyanın yoğunluğuna paralel bir ışımaya izlenir. Işımanın yoğunluğu fazla olduğunda patern belirlemek zorlaşmaktadır. Ayrıca, yoğun ışımaya görüldüğü preparatlara ait serumlara dilüsyon yapılarak, aynı ölçüde serumda bulunan otoantikor miktarı belirlenmektedir. Titre hastanın tedavisinde ve takibinde önemli yer tutmaktadır. Direkt ve indirekt floresan antikor testi olmak üzere iki çeşittir (Şekil 1) (Vollset, 2000).



Şekil 1. Direk ve indirek immünfloresan testi (Tozzoli et al., 2002).

### 2.5.3. Counter İmmünoelektroforez (CIE) yöntemi

İmmünodiffüzyon tekniğine göre daha hassas olduğu bilinmektedir. DNA ve RNA gibi asidik antijenleri katodal (-) kuyucuğa, özgül antikorları ise anodal (+) kuyucuğa yerleştirilerek elektroforez işlemi uygulanmaktadır. Bu yöntemde antijen kaynağı olarak kaba ektreler kullanılır, duyarlılığı kısmen yüksektir ve yükler sayesinde farklı antijenler kolaylıkla tanımlanabilmektedir. Ancak basit antijenleri saptayamaması ve serumda ancak 10 mg/ml antikora gereksinim duyması gibi sınırlamaları bulunmaktadır (Şekil 2) (Nasuhbey, 1995).

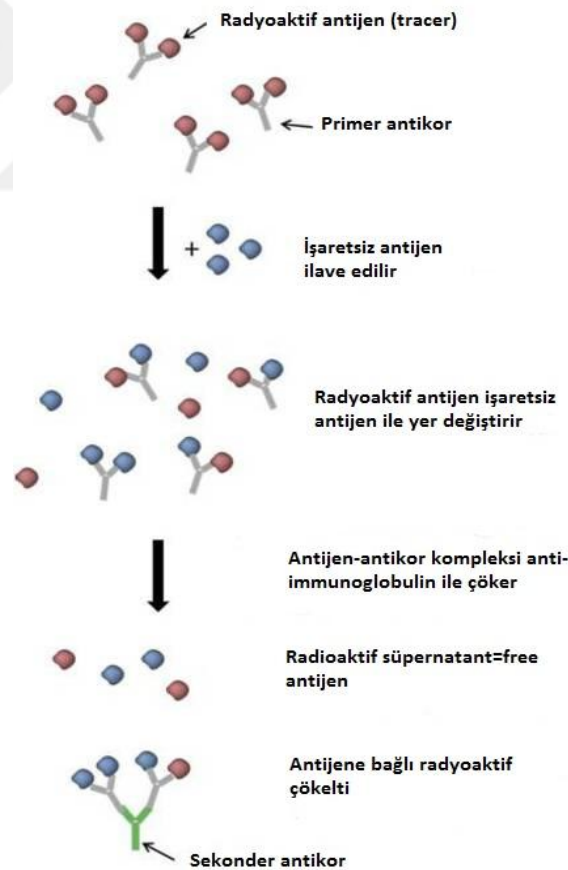


Şekil 2. Counter İmmünoelektroforez (CIE) yöntemi (Gan and Patel, 2013).

### 2.5.4. Radio immunoassay (RIA)

Bu teknik özellikle anti DNA analizinde kullanılan bir yöntem olup Solid faz RIA ve Solubl Faz RIA olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Solid faz RIA tekniğinde

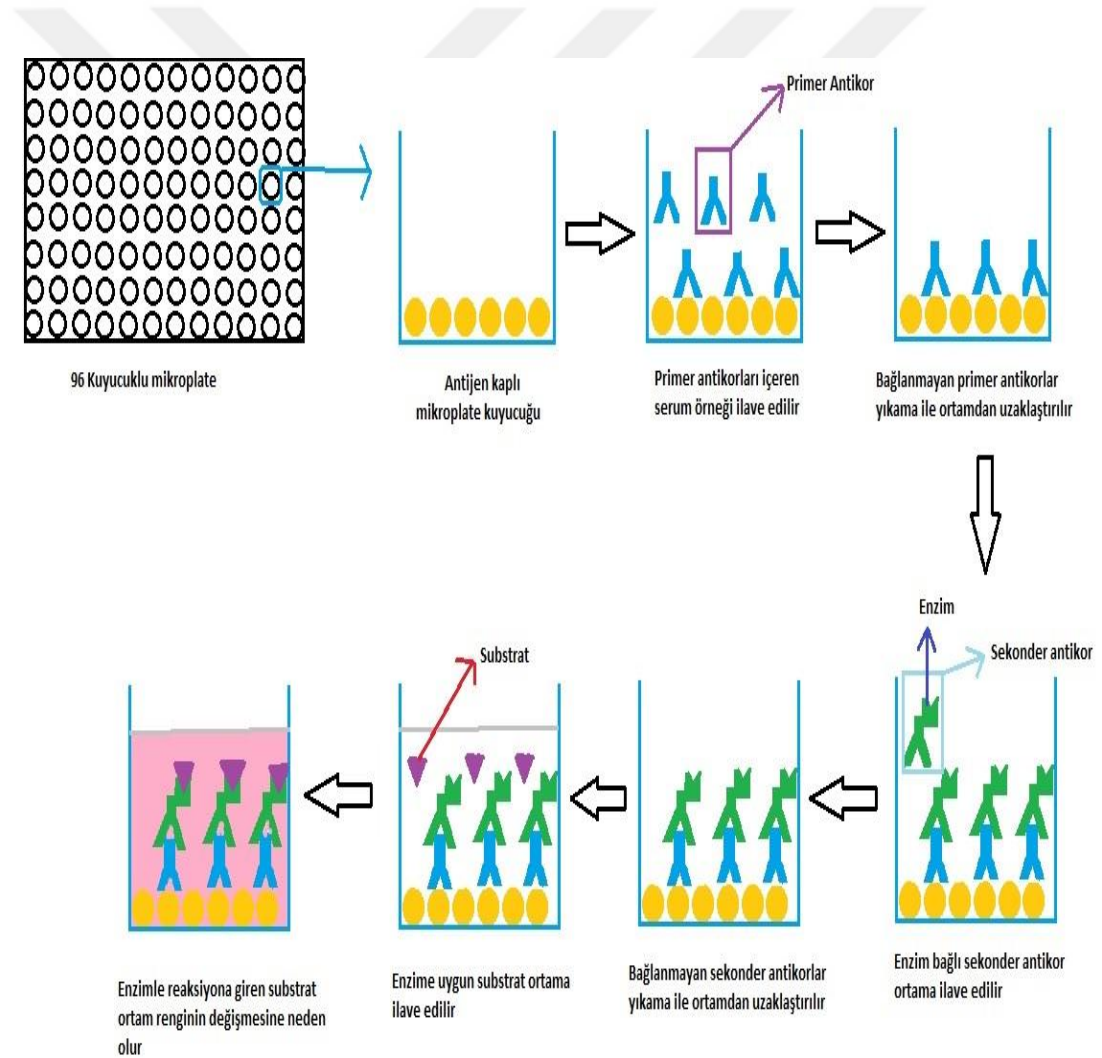
antijen katı bir yüzeye kaplanmaktadır. Spesifik antikorlar antijene bağlandıktan sonra, buna bağlanabilecek radyoaktif işaretli insan anti-globulin antikoruna ortama ilave edilmektedir. Son aşama olarak gama sayıcı ile ortamdaki radyoaktivite belirlenir. Hasta serumundaki antikor miktarı ise standard serum kullanılarak belirlenmektedir. Solubl faz RIA tekniğinde ise ortam olarak katı bir yüzey yerine solüsyonlar kullanılmaktadır. Anti dsDNA antikorlarının belirlenmesinde kullanılan Fahr testi bu tekniğin bir prototipidir. Hasta serumundaki dsDNA antikorları ortamdaki işaretli DNA'ya bağlandıktan sonra ortama katılan  $\text{NH}_2\text{SO}_4$  serbest haldeki DNA yerine antikora bağlanmakta ve antikorun bağlı bulunduğu DNA'yı çöktürmektedir. Çökelti miktarı hasta serumunda mevcut anti dsDNA miktarı ile doğru orantılıdır. Son olarak çökeltinin radyoaktivitesi ölçülüp total radyoaktiviteye oranlanarak sonuçlar yüzde değerleriyle belirlenmektedir. Normal bir serumun DNA bağlama kapasitesi yaklaşık %20 iken SLE'de bu oranın %100 olduğu bilinmektedir (Şekil 3) (Çağlayan, 2006).



**Şekil 3.** Radio immunoassay (RIA) yöntemi (Rivas et al., 2008).

### 2.5.5. Enzim linked immunosorbent assay (ELISA)

Bu teknik, spesifik bir antikor ile spesifik bir antijenin bağlanması prensibine dayanır. Hedef molekülü az miktarda bulunsa bile tespit edebilecek hassasiyete sahiptir. Bu teknikte antijen-antikor kompleksi bir enzim ile işaretlenir. İlk olarak antijen bir yüzey üzerine immobilize edilir. Daha sonra primer antikor ve enzim işaretli antikor sırasıyla ortama eklenir. Antijen-antikor-enzim kompleksini belirleyebilmek için enzime uygun substrat ortama ilave edilir ve bunun sonucunda ortamda antijen-antikor-enzim kompleksi var ise renk değişimi olur. Oluşan renk değişimi kalitatif ve kantitatif olarak ölçülebilir ve buna göre değerlendirme yapılır (Şekil 4).



Şekil 4. Enzim Linked İmmunosorbent Assay (ELISA).

### 2.5.6. Microarray tabanlı yaklaşımlar ile otoantikör tayini.

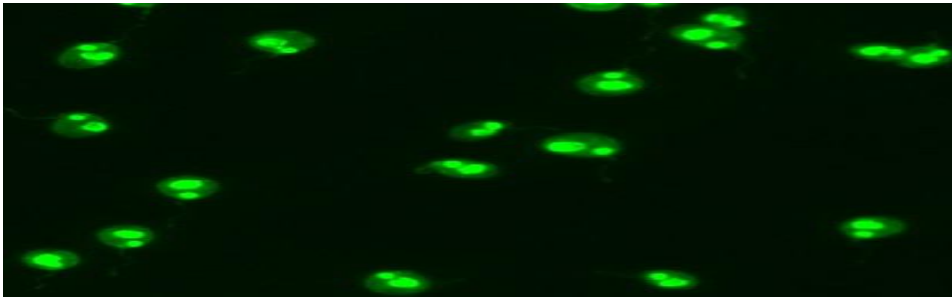
Antijen microarray teknolojisi gelişmekte olan bir teknoloji olup aynı zamanda otoantikörlerin belirlenmesinde ve değerlendirilmesinde umut verici bir teknolojidir. Bu nanoteknolojik yöntemde antijenler polistiren üzerine emdirilir ve sırasıyla yabancı protein peroksidaz konjugatlı sekonder antikörler ve kemilüminesant substrat ile inkübe edilir. Üretilen ışık sinyalleri cıp okuyuculu kamera bağlı bir aygıt tarafından yakalanır ve antikörler kalibrasyon eğrileri kullanılarak ölçülür. Bu metod; tam otomatize, yüksek performanslı ve düşük maliyetli olması ile hassas ölçümler yapabilmesi nedeniyle avantaj sağlar. Bu teknoloji ile elde edilen sonuçlar şuanda mevcut kullanılan diğer yöntemlerin sonuçları ile büyük ölçüde uyuşmakta olup ayrıca yeni antikörlerin keşfi içinde umut vermektedir (Kumar et al., 2009).

## 2.6. Antinükleer Antikörler

ANA çekirdekteki ilgili yapılara karşı oluşan bir grup oto-antikör olup kabaca iki alt gruba ayrılırlar.

### 2.6.1. DNA ve histon otoantikörleri

1957 yılında keşfedilen bu antikörler tek iplikçikli DNA (ssDNA) ve çift iplikçikli DNA (dsDNA)' ya karşı oluşan antikörleri içerir. Anti-dsDNA antikörlerinin seviyesi SLE teşhisini doğrulamada oldukça önemlidir. Bunu 1971 yılında ilaç kaynaklı SLE'de anti-histon antikörlerinin keşfi izlemiştir (Şekil 5) (Kumar et al., 2009).



Şekil 5. Anti dsDNA antikörlerinin İFA yöntemiyle gösterimi.

## 2.6.2. Ekstrakte edilebilir nükleer antijenlerin otoantikorları (ENA)

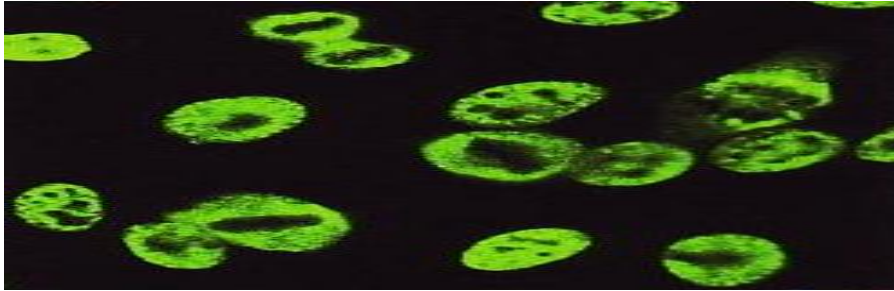
Otoantikorlar DNA ve Histon proteinlerin yanı sıra nükleusta bulunan diğer antijenik yapılara karşı da oluşabilir. ENA olarak isimlendirilen bu nükleer antijenler tuzlu solüsyonlar ile nükleustan ekstrakte edilebilirler. Öyleki 1966 yılında SLE için spesifik olan Smith antijen (Sm) tespit edilen ilk anti-ENA oldu. Daha sonra; ribonükleoprotein (RNP), SSA/Ro, SSB/La, Scl-70, Jo-1, ENA alt tipleri daha açık bir şekilde tespit edildi (Kumar et al., 2009).

### 2.6.2.1. Anti Sm antikorları

SLE için spesifik olan Sm antikorları SLE hastalarının yaklaşık %20'sinde görülür. Bu antikorların hastalığın patogenezi ile ilişkisi tam olarak bilinmese de merkezi sinir sistemi hasarı, böbrekler hasarı, akciğer fibrozu gibi etkileri olduğu düşünülmektedir (Guldner et al., 1986).

### 2.6.2.2. Anti RNP antikorları

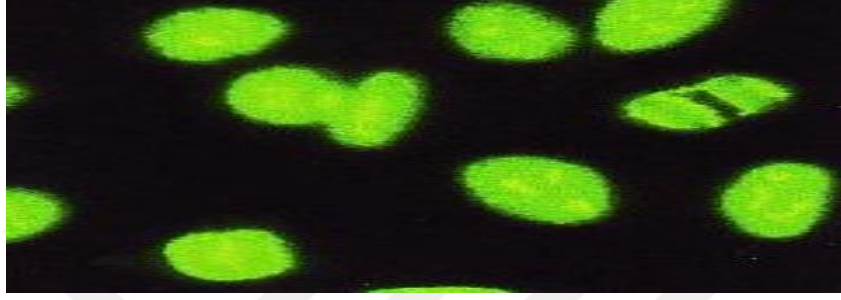
Anti ribonükleer protein (anti-snRNP) antikorları, anti U1 RNP antikorlar olarak da bilinir. SLE vakalarında %30-40 oranında bulunur. Bu antikorlar birçok bağ dokusu hastalığında görülebilmekte ve yüksek titrelerde MCTD tanısında önem taşımaktadır (Şekil 6) (Traczewski and Rudnicka, 2011).



Şekil 6. Anti RNP-Sm antikorlarının İFA yöntemiyle gösterimi.

### 2.6.2.3. Anti Scl-70 antikoru

Bu antikoru sklerodarma için spesifiktir ve sistemik sklerozlu hastaların %20-40'ında bulunan bu antikoru Topoisomerez I ile etkileşirler. Nükleolar anti nükleolar antikoru deseni skleroderma ve CREST sendromu olan hastalarda sık görülür. Sensitivitesi düşük fakat spesifitesi yaklaşık %100 dür (Şekil 7) (Birtane, 2012).

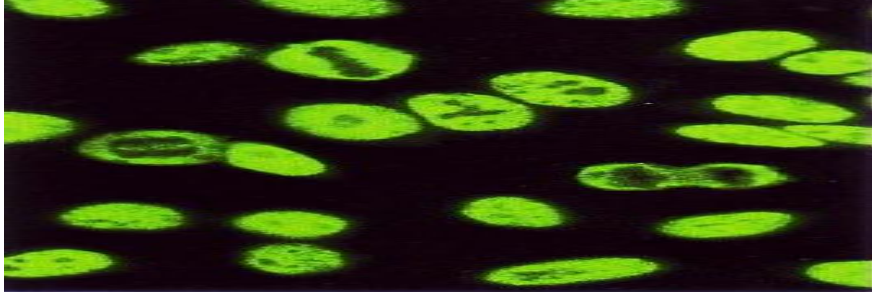


Şekil 7. Anti Scl-70 antikorularının İFA yöntemiyle gösterimi.

### 2.6.2.4. Anti SSA/Ro ve anti-SSB/La antikoru

Ro antijeni olarak ta bilinen SS-A bir nükleik asit antijeni olmayıp sitoplazmada bulunur ve buna karşı gelişen antikoru genellikle SLE ve Sjögren sendromunda (SS) görülmektedir. SS-A'ya karşı antikoru başta SLE ve sjögren sendromu olmak üzere birçok BDH'da görülebilmektedir. SLE hastalığının erken dönemlerinde tek başına, geç dönemlerinde ise SS-B'ye karşı gelişen antikoruyla bir arada bulunmaktadırlar. SS-A antikoru tek başına veya SS-B antikoruyla birlikte primer veya sjögren sendromunda ortaya çıkabildiği gibi vaskülit, kriyoglobulinemi, lökopeni, lenfopeni, anemi gibi hematolojik hastalıklar ve merkezi sinir sistemi hastalıklarıyla da ilişkilendirilmektedirler (Çağlayan, 2006).

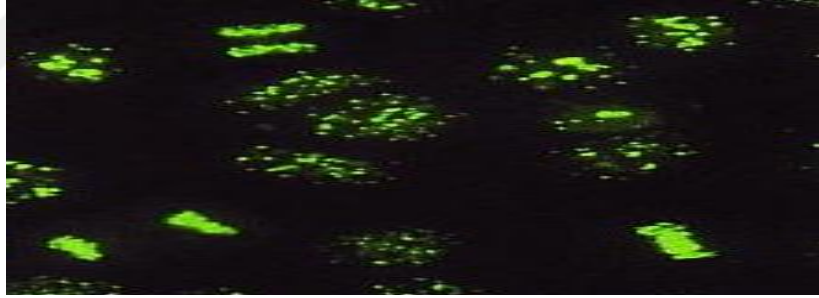
SS-B veya diğer adıyla La ise çözünebilir sitoplazmik RNA-protein antijenidir ve genellikle SSA/Ro antikoruyla birlikte görülmektedir. SLE'li kişilerin %10-15'inde, SS'li hastaların ise %20-50'sinde bulunur. Konjenital kal bloğu ile doğan bebeklerin anneleri herhangi bir romatlojik hastalığa sahip olmasalar bile %80 oranında SSA/Ro ya da SSB/La antikoruна sahiptirler (Şekil 8) (Birtane, 2012).



**Şekil 8.** Anti SSA/B antikorlarının İFA yöntemiyle gösterimi.

#### **2.6.2.5. Anti Sentromer Antikorlar**

Sentromer proteinine karşı oluşan antikorlar 1980 yılında tanımlanmıştır. CENP-A, B ve C olmak üzere üç ana sentromer proteini vardır. Sistemik skleroz ve CREST (calcinosis, Raynaud's syndrome, esophageal dysmotility, sclerodactyly, telangiectasia) sendromundan kısmen sorumludur. Sağlıklı insanlarla karşılaştırıldığında CREST için spesifitesi yüksek (%99.9), sensitivitesi düşüktür (%65) (Şekil 9) (Birtane, 2012).



**Şekil 9.** Anti-Sentromer antikorlarının İFA yöntemiyle gösterimi.

#### **2.6.2.6. Anti nükleolar antikorlar**

Nükleolar desen skleroderma için spesifiktir. Bu desenin oluşumuna yol açan anti-Pm/Scl antikorları skleroderma ve polmyositise, anti-Th/To antikorları pulmoner arteriyal hipertansiyon, anti-RNA polimeraz I, anti-RNA polimeraz I ve anti-U3-RNP kutanöz sistemik skleroza işaret eder (Birtane, 2012).

## **2.7. C-Reaktif Protein (CRP)**

Karaciğerde üretilen bir akut faz proteini olan CRP birbirine kovalen olmayan şekilde bağlı, beş adet alt (protomerden) üniteden meydana gelmiştir. İnflamatuvar reaksiyon durumunda seviyesinde artış gözlenir ve bu artış da makrofajlardan inflamatuvar sitokinlerin, IL-6 reseptörünün ve doku faktörünün salgılanmasını artırır. CRP, pentraksin olarak bilinen protein grubuna dahildir (Thompson et al., 1999).

CRP geninin ilk kromozomu 1q21-q23 bölgesinde yer almaktadır. 224 aminoasitten meydana gelen bu protein 25106 Da moleküler ağırlığa sahiptir (Du Clos and Mold, 2004).

Bu proteinin en önemli fonksiyonu kompleman sistemlerle reaksiyona girerek vücudun immünolojik savunma mekanizmalarına yardımcı olmaktır. Bakteri hücreleri, nekrotik ve apoptotik hücrelerin yüzeyi üzerinde fosfokolin bulunur ve CRP molekül fosfokolini tanıyarak etkileşime girer. Bakteriyel ve viral hastalıklardan romatolojik bozukluklara, doku hasarından kansere geniş bir yelpazede CRP proteinin varlığı görülür. Bu inflamasyon koşullarının tamamında makrofajlar ve T lenfositler tarafından IL-6 ve diğer sitokinler salgılanır (Thompson et al., 1999).

Bu fagositik mekanizma doğal bağışıklığın önemli bir parçasıdır. İnflamasyon reaksiyonun başlangıcında, bu proteinin seviyesi iki saat içinde 50.000 kata kadar ulaşabilir. CRP'nin yarılanma ömrü 18 saat olup inflamasyon taramaları için kullanıldığında konsantrasyonu inflamasyonun şiddeti hakkında bilgi verir (Thompson et al., 1999).

## **2.8. Romatoid Faktör (RF)**

Romatoid faktör ilk kez romatoid artrit vakasında keşfedilmiş ve özellikle IgG'nin Fc parçasına karşı oluşmuş bir otoantikordur (Pincus, 2006).

Romatoid artritli hastalarda bulunmasına rağmen bu hastalık için spesifik değildir. Hastalığın teşhisi diğer ilişkili semptomlar kullanılarak yapılır. RA'nın dışında doku yada organ reddi gibi durumlardada bir otoantikör olarak görülebilir (Rostaing et al., 1998).

RF varlığı RA ve Sjögren's syndrome gibi hastalıklarda yüksek seviyede olabilir ve RF'nin yüksek seviyelerde olması eklem dokularında tahribata neden olabilir (Reeves et al., 2009).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Çalışma grubu

Çalışmaya Ekim 2013 ile Ekim 2015 tarihleri arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dursun Odabaş Tıp Merkezi'ne başvuran ve otoimmünite şüphesi olan 8626 kişiye ait serum örnekleri dahil edildi.

##### 3.1.2. Kullanılan araç ve gereçler

**Tablo 1.** Kullanılan araç ve gereçler.

Malzeme	Şirket	Menşei
Nefelometre cihazı	DADE BEHRING	Germany
Santrifüj	NÜVE-NF-1200R	Turkey
Yazıcı	Samsung	
Tarayıcı	Cannon	Germany
Masaüstü bilgisayar	FujiTSU	Germany
Barkot okuyucu	TLP 2844	China
HELMED otomatize İFA sistemi		Germany
Floresan mikroskop	Motic	Germany
Transport rack	SIEMENS	Germany
BD Vacutainer SST II Advance	BD plymough	UK
N Cuvette segments for BN II	SIEMENS	Germany
Prediluent well	SIEMENS	Germany
Pipet	BRAND	Germany
Slayt	AESKUSLIDES	Germany

### **3.1.3. Kullanılan solüsyonlar**

- 1.N Diluent
- 2.N Reaction Buffer
- 3.Cardiophase hs CRP
- 4.N supleman P
- 5.N RF reaktif
- 6.N RF reaktif
- 7.N RF supleman
- 8.Yıkama tamponu
- 9.Sample Buffer
- 10.IgG konjugatı (ANA HEp-2)
- 11.Mounting Media
- 12.Pozitif Kontrol
- 13.Negatif Kontrol

## **3.2. Yöntem**

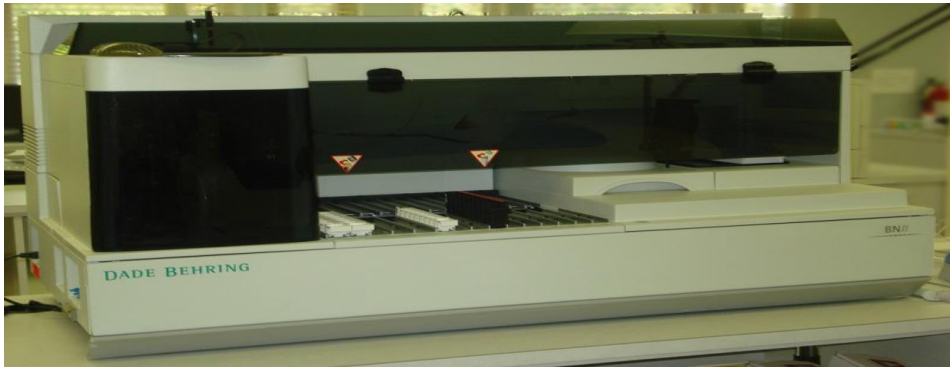
### **3.2.1. Romatoid faktör ölçümü**

RF konsantrasyonları immünonefelometrik olarak N Lateks RF kiti ve Dade Behring (Hamburg Almanya) BN II nefelometre cihazı kullanılarak ölçüldü. Yöntemin prensibi; insan gamaglobulini veya koyundan elde edilmiş anti-insan gama-globulinininden oluşan bir immünkompleks ile kaplı polisteren mikro partiküllerin RF ile aglütinasyonu esasına dayanır. Agregatlar ışık saçılımına neden olur ve saçılan ışığın şiddeti RF konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

### 3.2.2. CRP ölçümü

CRP'ye spesifik, monoklonal antikolarla kaplı polistiren partikülleri, CRP içeren örneklerle karıştırıldığında agrege olur ve bu agregatlar örnekten geçirilen bir ışık demetinin dağılmasına yol açar. Örnekteki ilgili proteinin konsantrasyonuna bağlı olarak dağılan ışığın şiddeti değişir. Konsantrasyonu, bilinen bir standart ile karşılaştırma yapılarak sonuç değerlendirilir.

Dade Behring marka BN II. Model (Siemens Healthcare Diagnostics LTD, Newark, DE, USA) nefelometre cihazı ile RF ve CRP (Dade Behring, Almanya) kiti kullanılarak ölçüm yapıldı. Bu testin uygulanmasında kit ve serumlar oda sıcaklığına getirildi, serumlar santrifüje edildikten sonra uygun tüplere 200 µl pipetlendi. Nefelometre cihazında önceden RF ve CRP ye karşı oluşan monoklonal antikolarla kaplı polisterene partiküllerin hasta serumunda bulunan RF ve CRP ile reaksiyon vermesi sonucunda oluşan ışığın yoğunluğu nefelometrik olarak ölçüldü. Dade Behring BN-II sistemi immunnefelometri esasına dayanan bir ölçüm sistemidir (Şekil 10). Okuma sınırı CRP için <3.17 ile >203 mg/L arasında olup hs-CRP kitlerinin kullanıma girmesi ile daha düşük düzeylerin okunabilmesi de mümkün hale gelmiştir (Parlak ve ark., 2013). 6 mg/l üstündeki CRP sonuçları yüksek olarak değerlendirilirken RF için 0-15 IU/dl aralığı referans kabul edilmiştir.



Şekil 10. Dade Behring BN II model nefelometre cihazı.

## **Dade Behring BN II model cihazın kullanım talimatı;**

- Cihaz distile su, dilüent, buffer ve atık kabı kontrol edilerek açılır.
- BN2 ikonuna iki kez tıklanarak program başlatılır. Ekranı gelen şemada O.K. tuşuna basılır.
- Ekranı otomatik olarak dilüsyon kaplarını gösteren şema gelir. Dilüsyon kapları değiştirilerek left new ve right new ikonuna basılır.
- Reaktifler kapakları açılarak barkod çizgileri dışı gelecek şekilde raklara yerleştirilir.
- Standartlar ve kontroller raklara yüklenir.
- Routin menüsünden “Reagent List”e girilerek reaktif seviyeleri izlenir.
- Standart değerlerini girmek için “Calibration” menüsünden standart lots seçilir. Standartın içinden çıkan barkod kağıdı, barkod kalemiyle okutulur. Lot değişmediği sürece bu bilgiler bir defaya mahsus girilir.
- Kalibrasyon için standart küçük beyaz rakla cihaza verilir. “Reference Curves” menüsüne girilir. Kalibrasyonu yapılacak test veya testler seçilir. Lot numaraları seçilip “Mesaure”a basılır. Kalibrasyon otomatik olarak başlar. Kalibrasyon tamamlandığında geçerli ise test ekranda yeşil renk olur. Kalibrasyon eğrisi “Show Curves” den gözlenebilir.
- Yine kontrol için routin menüsünden “Request Controls” seçilir. Testler seçilip mesaure butonuna basılır. “Control Journal” menüsüne girip sonuçlar gözlenebilir.
- Hasta çalışması için reaktifler cihaza yüklenir. Hasta tüpleri raklara yüklenir. Rack cihaza verilir ve ekranı otomatik olarak loading menüsü gelir.

### 3.2.3. İndirek immün floresans (İFA)

Bu çalışmada, serum örneklerindeki otoantikorların tespiti için Helmed marka Helmed Line İmmunoassay Analyzer (Şekil 11), Helia yazılım ve Aeskulides İFA test kitleri (Şekil 12) kullanılmıştır.



Şekil 11. Helmed line immunoassay analyzer.



Şekil 12. Aeskulides İFA test kitleri.

### **Çalışma prosedürü;**

- 1) Örnekler 1:100 oranında dilüe edildi.
- 2) Antijen kaplı her bir slayt kuyucuğuna 30 µl dilüe serum eklendi.
- 3) Slaytlar 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- 4) İnkübasyonu müteakip slaytlar 5'er dakika aralıklarla 2 kez Phosphate Buffered Saline (PBS) ile yıkandı.
- 5) Slayt kuyucuklarına floresan işaretli anti-human IgG solüsyonu pipetlendi.
- 6) Slaytlar 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- 7) İnkübasyonu müteakip slaytlar 5'er dakika aralıklarla 2 kez Phosphate Buffered Saline (PBS) ile yıkandı.
- 8) Preparatlar 200 ve 400 büyütme ile floresan mikroskop altında incelendi.
- 9) Pozitif serum örnekleri 1/320, 1/1000 ve 1/10000 dilüsyonda tekrar çalışıldı.

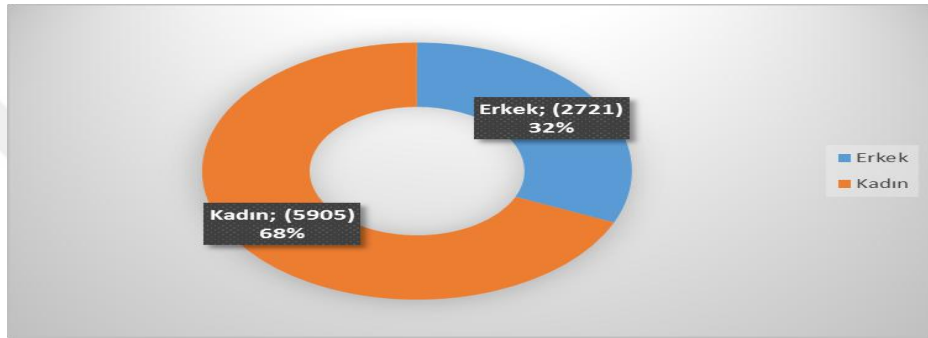
### **3.2.4. İstatistiksel analiz**

İstatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL, USA) 22 for Windows bilgisayar programında yapıldı. Üzerinde durulan özelliklerden kategorik değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; sayı ve yüzde olarak ifade edildi ve gruplar arasındaki farklılıklar ve değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare testi ile incelendi. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirildi ve  $p < 0,05$  anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

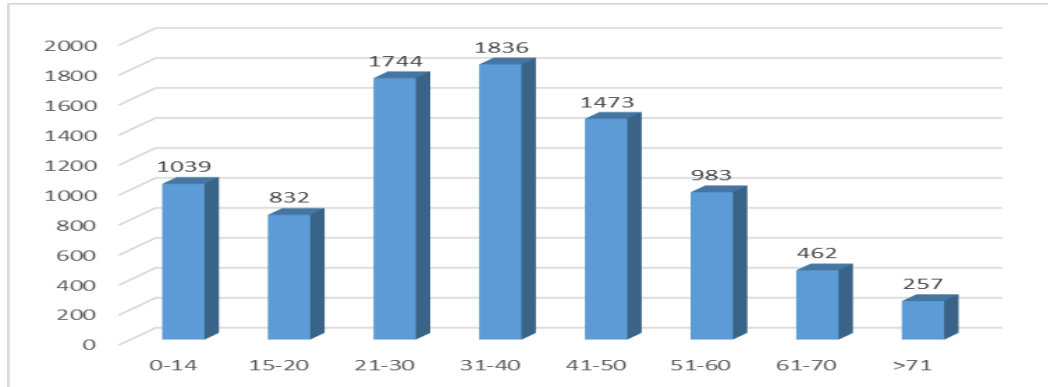
Bu çalışmaya dahil edilen ve otoimmünite şüphesi olan 8626 hastaya ait serum örnekleri ANA, CRP ve RF yönünden incelendi.

Bu hastaların % 68'i (5905) kadın, % 32'si (2721) erkek olarak bulundu (Şekil 13). Tüm hastaların yaş ortalaması 35.1, erkek hastaların yaş ortalaması 33.5, kadın hastaların yaş ortalaması 35.8 olarak bulundu (Şekil 13). Yaş ortalamaları ile ANA pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır ( $p=0,883$ ).



Şekil 13. Hastaların cinsiyetlere göre dağılımı.

Hastalar yaş aralıklarına göre gruplandırıldığında; 0-14 yaş aralığının da 1039 (%12), 15-20 yaş aralığında 832 (%9,6), 21-30 yaş aralığında 1744 (%20,2), 31-40 yaş aralığında 1836 (%21,3), 41-50 yaş aralığında 1473 (%17,1), 51-60 yaş aralığında 983 (%11,4), 61-70 yaş aralığında 462 (%5,4) ve 71 yaş üstü 257 (%2,3) hasta saptanmıştır (Şekil 14).

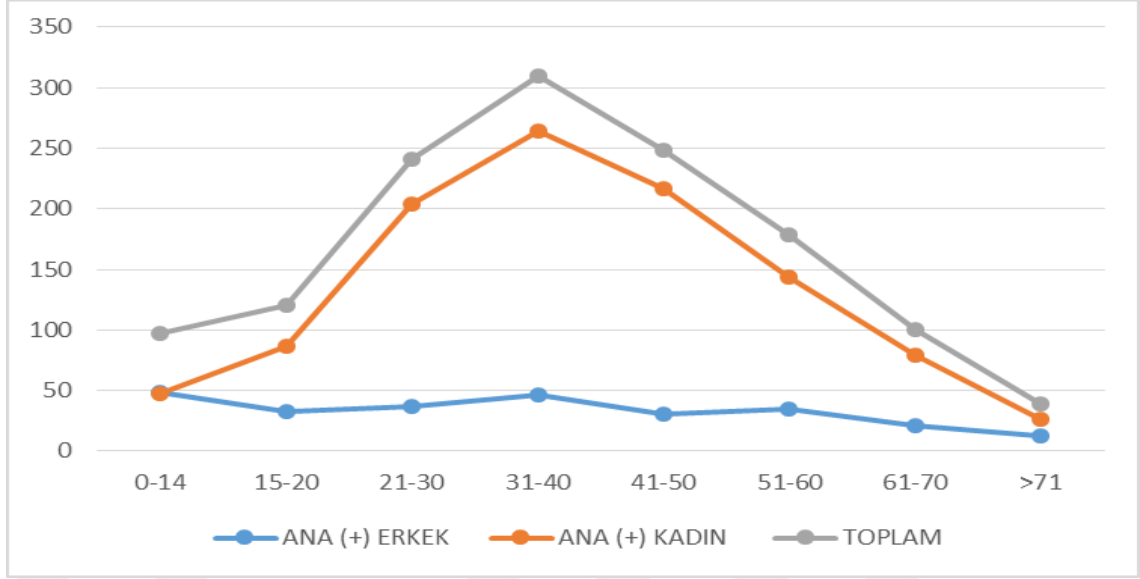


Şekil 14. Hastaların yaş aralığına göre dağılımı.

Hastaların ANA sonuçları, yaş aralığı ve cinsiyet durumuna göre gruplandırıldığında (Tablo 2); 0-14 yaş aralığındaki 533 erkek hastanın 49'u (%9,2), 506 kadın hastanın ise 48'i (%9,4), 15-20 yaş aralığındaki 302 erkek hastanın 33'ü (%10,9), 530 kadın hastanın ise 87'si (%16,4), 21-30 yaş aralığındaki 444 erkek hastanın 37'si (%8,3), 1300 kadın hastanın ise 204'ü (%15,7), 31-40 yaş aralığındaki 473 erkek hastanın 46'sı (%9,7), 1363 kadın hastanın ise 264'ü (%19,4), 41-50 yaş aralığındaki 413 erkek hastanın 31'i (%7,5), 1060 kadın hastanın ise 217'si (%20,4), 51-60 yaş aralığındaki 287 erkek hastanın 35'i (%12,2), 696 kadın hastanın ise 144'ü (%20,6), 61-70 yaş aralığındaki 149 erkek hastanın 21'i (%14,1), 313 kadın hastanın ise 79'u (%25,2) ve 71 yaş üstündeki 120 erkek hastanın 13'ü (%10,8), 137 kadın hastanın ise 26'sı (%19) ANA pozitif olarak saptandı (Şekil 15). Toplamda 1334 ANA pozitif hastanın 1069'unun (%81,1) kadın, 265'inin (%19,9) ise erkek olduğu belirlendi (Tablo 2). Yaş aralığı bakımından ANA sonuçları arasındaki fark anlamlı bulunmadı (p=0,228).

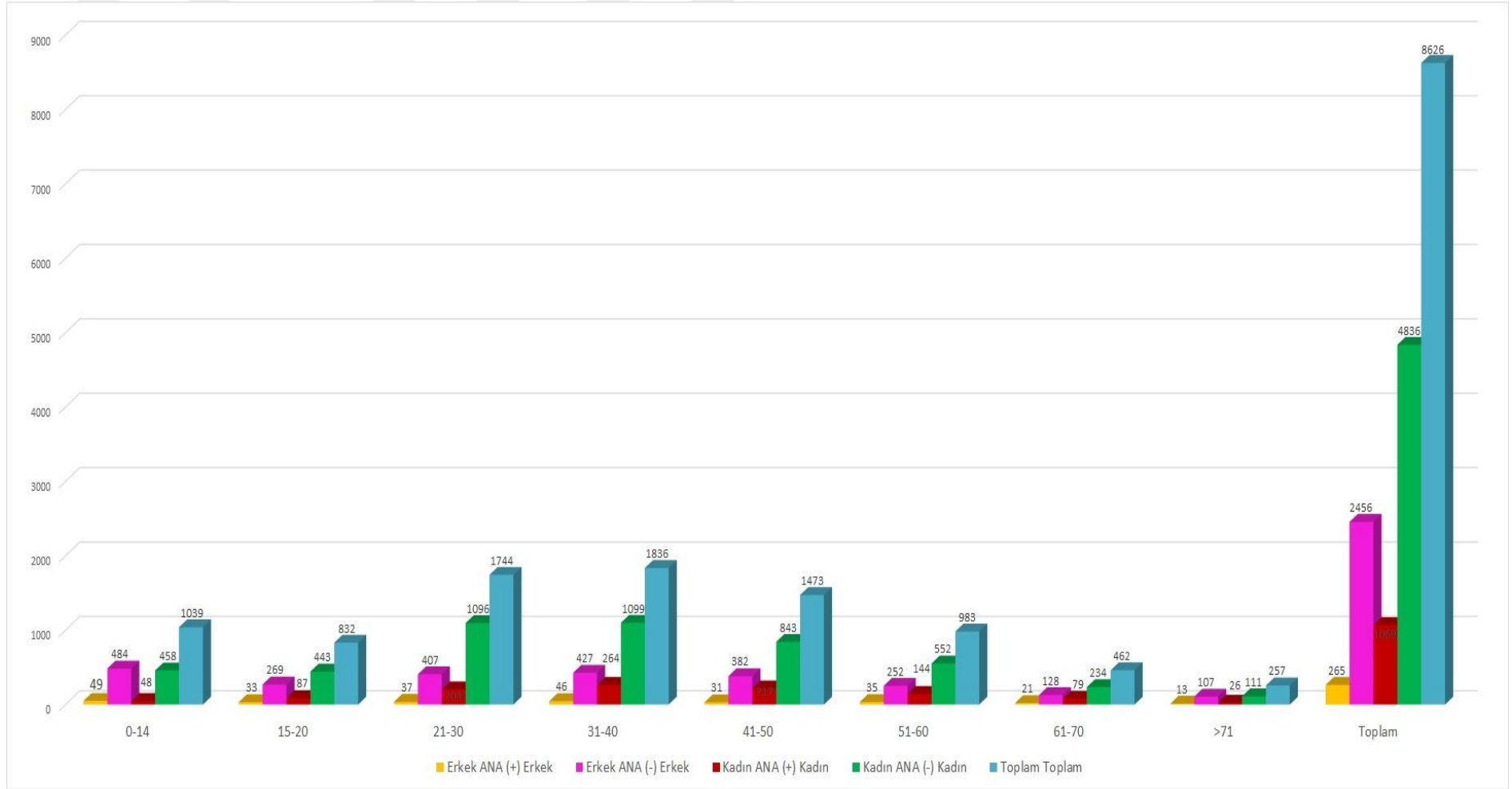
**Tablo 2.** ANA sonuçlarının yaş ve cinsiyet durumuna göre dağılımı.

Yaş Aralığı	Erkek		Kadın		Toplam	
	ANA (+) (%)	n	ANA (+)(%)	n	ANA (+)	(N)
<b>0-14</b>	49 (9.2)	533	48 (9.4)	506	97	1039
<b>15-20</b>	33 (10.9)	302	87 (16.4)	530	120	832
<b>21-30</b>	37 (8.3)	444	204 (15.7)	1300	241	1744
<b>31-40</b>	46 (9.7)	473	264 (19.4)	1363	310	1836
<b>41-50</b>	31 (7.5)	413	217 (20,4)	1060	248	1473
<b>51-60</b>	35 (12.2)	287	144 (20.6)	696	179	983
<b>61-70</b>	21 (14.1)	149	79 (25.2)	313	100	462
<b>&gt;71</b>	13 (10.8)	120	26 (19)	137	39	257
<b>Toplam (n)</b>	265 (19,9)	<b>2721</b>	1069 (81,1)	<b>5905</b>	1334 (15,4)	<b>8626</b>



**Şekil 15.** ANA (+) sonuçların yaş gurupları ve cinsiyet durumuna göre dağılım grafiği.

ANA sonuçları cinsiyet durumuna göre incelendiğinde 5905 kadın hastanın 1069'u (%18,1), 2721 erkek hastanın ise 265'i (%9,7) ANA pozitif olarak saptandı. Bu sonuç kadınlardaki pozitiflik oranının erkeklere oranla yaklaşık 2 kat fazla olduğunu göstermektedir. Toplamda 8626 hastadan 1334'ü (%15,4) ANA pozitif olarak saptandı (Şekil 16). ANA pozitifliği ile cinsiyet arasındaki ilişki incelendiğinde, cinsiyetler bakımından ANA sonuçları arasındaki fark anlamlı bulundu ( $p=0,000$ ).



Şekil 16. Tüm ANA sonuçların yaş grupları ve cinsiyet durumuna göre dağılım grafiği.

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 kliniklere başvurduğu anlaşılmaktadır (Tablo 3).

**Tablo 3.** ANA sonuçlarının kliniklere göre dağılımı.

Klinik	ANA (+)	(%)	Toplam	(%)
İç Hastalıkları	357	26,7	2131	25
Fizik Tedavi ve Reh.	173	13	1014	12
Pediatri	117	8,8	1133	13
Nöroloji	117	8,8	1031	12
Dermatoloji	32	2,4	258	3
Göğüs Hastalıkları	13	1	77	1
Ortopedi ve Travmatoloji	8	0,6	46	1
Göz Hastalıkları	7	0,5	92	1
Enfeksiyon Hastalıkları	7	0,5	40	0,1
Kalp Damar Cerrahisi	3	0,2	48	0,6
Genel Cerrahi	3	0,2	21	0,3
Kadın Hastalıkları	2	0,1	52	0,6
Anestezi	1	0,1	11	0,1
Üroloji	1	0,1	9	0,1
Diğer	493	37	2508	30
Toplam	1334	(100)	8626	(100)

4489 serum örneğinde hem ANA hemde CRP çalışılmış olup ANA sonuçları CRP sonuçları ile karşılaştırıldığında; ANA pozitif 602 hastanın 144'ünde (%23,9) CRP pozitif, ANA pozitif 458 (%76,1) hastada ise CRP negatif olarak saptandı. ANA ve CRP sonuçları karşılaştırıldıklarında uyuma yüzdesi (%72), Kappa değeri ise (0,026) olarak bulunmuştur. Uyuma yüzdesi (%70)'in üzerinde olduğu için ölçeğin güvenilir olduğu söylenmektedir (Şencan, 2005). Bulunan Kappa değeri Landish ve Koch'a göre yorumlandığında testler arasında önemsiz uyuma olduğu anlaşılmaktadır (Tablo 4).

**Tablo 4.** ANA ve CRP sonuçlarının karşılaştırılması.

	ANA (+)	ANA (-)	Toplam
CRP (+)	144	803	947
CRP (-)	458	3084	3542
Toplam	602	3887	4489

2168 serum örneğinde ise hem ANA hemde RF çalışılmış olup ANA sonuçları RF sonuçları ile karşılaştırıldığında; ANA pozitif 303 hastanın 32'sinde (%10,6) RF pozitif, ANA pozitif 271 (%89,4) hastada ise RF negatif olarak saptandı. ANA ve RF sonuçları karşılaştırıldığında uyuma yüzdesi (%83), Kappa değeri ise (0,070) olarak bulunmuştur. Uyuma yüzdesi (%70)'in üzerinde olduğu için ölçeğin güvenilir olduğu söylenmektedir (Şencan, 2005). Bulunan Kappa değeri Landish ve Koch'a göre yorumlandığında testler arasında önemsiz uyuma olduğu anlaşılmaktadır (Tablo 5).

**Tablo 5.** ANA ve RF sonuçlarının karşılaştırılması.

	ANA (+)	ANA (-)	Toplam
RF (+)	32	99	131
RF (-)	271	1766	2037
Toplam	303	1865	2168

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Otoimmün hastalıklar toplumun yaklaşık %3'ünü etkilemektedir. Bu oran oldukça büyük bir oran olmasına rağmen otoimmün hastalıklar diğer birçok hastalık kadar önem görmemektedir. Otoimmün hastalıklar morbidite ve yol açtığı önemli bozukluklar açısından tek tek ele alındığında yaygın olmamasına rağmen grup olarak ele alındığında orta yaş kadınlarda önde gelen ölüm sebeplerindedir (Youinou et al., 2010).

Otoimmün hastalıkların görülme sıklığı ülkelere ve coğrafik konumlarına göre farklılık gösterebilmekle birlikte primary biliary cirrhosis (pBC) ve SLE gibi hastalıkların insidansı endişe verici düzeydedir. Hastalıkların insidansındaki bu farklılıklar çalışılan hastalığa ait kriterler de dahil çok sayıda değişkene bağlı olup SLE insidansı 100.000 kişide 1 ila 10 arasında değişebilmektedir (Youinou et al., 2010).

Genetik polimorfizm de otoimmüniteye yatkınlığa sebep olmaktadır. Hastalığın seyri ve şiddetli semptomların altında etnide yatabilir. Jonson ve ark. Brezilya, İsveç ve İngiltere'deki SLE hastalarının kesitsel analizi ile siyahilerde bu hastalıkların görülme sıklığının diğerlerine göre daha fazla olduğunu göstermişlerdir (Jonson et al., 1994).

SLE, RA ve pBC gibi otoimmün hastalıklarda cinsiyet önemli bir risk faktörüdür. Otoimmün hastalıklardaki "Kadın egemenliği" terimi sadece bu hastalıkların insidansındaki cinsel farklılığı değil aynı zamanda hastalıkların çeşitli varyasyonlarına da işaret eder. Yapılan çalışmalarla; SLE, RA ve pBC tanılı kadın hastaların %90'ında hastalık seyrinin erkeklere oranla daha ağır geçtiği görülmüştür (Shoenfeld, 2008).

Viral, bakteriyel ve parazitik enfeksiyonlarda otoimmün hastalıkların altında yatan sebepler olabilir. Özellikle Herpes virüs enfeksiyonu ve Epstein-Barr virüsü (EBV) enfeksiyonunun, RA, SLE, pBC ve multipl skleroz (MS) gibi birçok önemli otoimmün hastalıkla ilişkisi olduğu bilinmektedir. Steril ortamda yaşatılan dişi ve erkek farelerin SLE'den eşit oranda etkilenmeleri bu manada önemlidir (Youinou et al., 2010).

Erke 2015 yılında ANA pozitif hasta serumları ile yapmış olduğu çalışmada kadınların oranını %72,1 erkeklerin oranını ise %27,9, Gündüz 2007 yılında RA tanılı hastalar üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada kadınların oranını %79,6 erkeklerin oranını ise %20,4, Çalışır 2011 yılında RA tanılı hastalar üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada kadınların oranını %83 erkeklerin oranını ise %17 olarak bildirmiştir. Biz ise otoantikör şüphesi olan 8626 kişiye ait örneklerle yaptığımız çalışmada bu oranları sırası ile %68 ve %32 olarak tespit ettik. Bulduğumuz kadın/erkek oranları diğer çalışmalardaki oranlar ile büyük ölçüde uyum göstermekte olup sonuçlarımızın diğer çalışmalara göre bir miktar düşük kalmasının çalışma gruplarının farklılığına bağlı olduğunu düşünüyoruz. Zira çalışma grubumuzu ANA pozitif sonuçlara indirgediğimizde çalışmamızdaki 1334 ANA pozitif sonucun %81,1'inin kadın %19,9'unun ise erkek olduğunu görmekteyiz.

Abeles ve Abeles 2013 yılında ANA pozitif 1475 hasta ile yaptıkları çalışmada kadın oranını %80,6 erkek oranını ise %19,4 olarak bildirmişlerdir. Kakati ve arkadaşları ise 2013 yılında SLE tanısı almış 53 hastada kadın oranını %90,6 erkek oranını ise %9,4 olarak bildirmişlerdir. 1334 ANA pozitif sonuç içerisinde kadın oranının %81,1 ve erkek oranının %19,9 olduğu çalışmamız bu çalışmalar ile de uyumlu olup otoantikora rastlanma sıklığının ve otoimmün hastalıkların kadınlarda erkeklere göre 2-4 kat daha fazla görüldüğü gerek ülkemizdeki gerekse yabancı kaynaklı çalışmalarda görülmektedir.

Tareen ve arkadaşları 2014 yılında SLE tanısı almış 77'si (93.9%) kadın, 5'i (%6,1) erkek 82 hasta ile yaptıkları çalışmada ortalama yaşı 34,9 (En küçük yaş 8, En büyük yaş 62) olarak bildirmişlerdir. Bizde çalışmamızda yaş ortalamasını 35,1 (En küçük yaş 1, En büyük yaş 93) olarak saptadık. Oto antikörlerin her yaş grubunda bulunabildiği dikkat çekmektedir.

Karakeçe ve arkadaşları 2014 yılında yaptıkları ve Romatoloji (%36,29), Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon (%14,81), Dahiliye (%12,7), Dermatoloji (%11,3) ve Nöroloji (%7,0) klinikleri başta olmak üzere 10 farklı klinikte takip edilen toplam 2268 otoimmün hastalık şüphesi olan hastayı dahil ettikleri çalışmada ANA pozitiflik oranını % 33 olarak bulduklarını bildirmişlerdir. Biz ise Romatoloji (%4,1), Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon (%12), Dahiliye (%2,3), Dermatoloji (%3) ve Nöroloji (%12) klinikleri

de dahil toplam 15 klinikte otoimmün hastalık şüphesi olan 8626 hastayı dahil ettiğimiz çalışmamızda ANA pozitiflik oranını %15,4 olarak bulduk. Bulduğumuz sonuç Karaakçe ve arkadaşlarının bulduğu sonuca göre düşük kalmıştır. Bu düşüklüğün çalışılan hasta gruplarının kliniklere göre dağılımındaki farklılıklardan kaynaklanabileceğini düşünüyoruz.

Ülkemizde yayınlanan benzer çalışmalar incelendiğinde Şimşek ve arkadaşları 2011 yılında 4944 örnek ile yaptıkları çalışmada 361 (%7,3) ANA pozitifliği bildirirken yine 2011 yılında İlhan ve arkadaşları tarafından 3045 örnekle yapılan benzer bir çalışmada 1022 (% 33,5) ANA pozitiflik oranı bildirilmiştir. Erke 2015 yılında 559 hasta ile yaptığı çalışmada 160 (%28,6) ANA pozitiflik oranı bildirilmiştir. Bulduğumuz %15,4'lük ANA pozitiflik oranının otoantikör pozitifliğini etkileyen faktörler, çalışma gruplarındaki farklılıklar ve ülkemizdeki benzer çalışmalarda bildirilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda literatür ile uyumlu olduğu kanaatindeyiz.

Sertpoyraz ve arkadaşları RA tanılı 34'ü (% 94,4) kadın, 2'si erkek (%5,6) 36 hasta ile yaptıkları çalışmada hastaların 26'sında (%72,2) RF pozitifliği bildirmişlerdir. Després ve arkadaşları RA tanılı 143 hastanın % 50'sinde RF pozitifliği bildirmişlerdir. Culp ve arkadaşları ise primer biliyer siroz tanısı almış 113 hastanın %70'inde RF pozitifliği bildirmişlerdir. Biz hem ANA hemde RF çalıştığımız 2168 serum örneğinde ANA pozitif 303 hastanın 32'sinde (%10,6) RF pozitifliği tespit ettik. Bizim bulduğumuz sonuç diğer araştırmaların sonuçları ile karşılaştırıldığında oldukça düşük kalmaktadır. Bunun RA ve primer biliyer siroz da dahil otoimmün hastalıklar için RF'nin duyarlı bir test olmasından ve bu nedenle çalıştığımız hasta gruplarının farklılığından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Çefle ve arkadaşları 2010 yılında primer sjögren sendromlu (pSS) 25 hasta ile yaptıkları çalışmada CRP pozitifliğini %20, ANA pozitifliğini ise %92 olarak bildirmişlerdir ve yine aynı çalışmada CRP pozitifliği ile artrit arasında anlamlı bir ilişki bulduklarını (p=0,046) belirtmişlerdir. Özkol ve arkadaşları 2013 yılında 28 kutanöz vaskülitli hasta ile yaptıkları çalışmada CRP pozitifliğini %82,1, ANA pozitifliğini ise %35,7 olarak bildirmişlerdir. Dürdal ve arkadaşları 2003 yılında RA tanılı 88 hasta ile yaptıkları çalışmada ANA pozitifliğini %53,4, CRP pozitifliğini ise %55,7 olarak

bildirmişlerdir. Biz hem ANA hemde CRP çalıştığımız 4489 serum örneğinde ANA pozitif 602 örneğin 144'ünde (%23,9) CRP pozitifliği tespit ettik. Literatürde otoimmün hastalıklarda CRP pozitifliği oranının %20-80 arasında değiştiği görülmekte olup bulduğumuz sonuçlar diğer çalışmalardaki sonuçlarla uyumludur.

Sonuç olarak; otoimmün hastalıkların tanısının erken konulması, tedavi ile eklem dokusundaki hasarın önüne geçilebilmesi açısından çok önemlidir. Otoimmün hastalıkların özellikle de genç popülasyon üzerinde olumsuz etkilerinin dikkate değer bir risk faktörü oluşturması nedeniyle bu problemin fiziksel, psikolojik ve ekonomik zararlarının boyutu önem arz etmektedir. Bu yüzden otoimmün hastalıkların tespiti ve tedavi seyrinin izlenmesinde, CRP ve RF testlerinin tek basına kullanılmasının faydalı olmayacağı kanaatine varılmıştır.

## ÖZET

**AZEEZ H.J., Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Antinükleer Antikor sonuçlarının Değerlendirilmesi, Y.Y.U. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji A.B.D.** Bu çalışmada; Ekim 2013 ve Ekim 2015 yılları arasında Dursun Odabaş Tıp Merkezine başvuran ve otoimmünite şüphesi olan 8626 kişiye ait ANA, RF ve CRP değerlerini incendi. Bu hastaların % 68'i (5905) kadın, % 32'si (2721) erkek olarak bulundu. Tüm hastaların yaş ortalaması 35,1, erkek hastaların yaş ortalaması 33,5, kadın hastaların yaş ortalaması 35,8 olarak bulundu. Hastalar yaş aralıklarına göre gruplandırıldığında; 0-14 yaş aralığında 1039 (%12), 15-20 yaş aralığında 832 (%9,6), 21-30 yaş aralığında 1744 (%20,2), 31-40 yaş aralığında 1836 (%21,3), 41-50 yaş aralığında 1473 (%17,1), 51-60 yaş aralığında 983 (%11,4), 61-70 yaş aralığında 462 (%5,4) ve 71 yaş üstü 257 (%2,3) hasta saptandı. 1334 hastayı ANA pozitif olarak bulduk. 602 ANA pozitif hastanın 144'ünde CRP ve 303 ANA pozitif hastanın 32'sinde RF pozitifliği saptadık. Sonuç olarak ANA, CRP ve RF testlerinin üçünün birden çalışılmasının otoimmün hastalıkların oluşturacağı hasarın daha erken anlaşılmasına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Antinükleer antikor, C reaktif protein, Romatoid Faktör.

## SUMMARY

**AZEEZ H.J., Evaluation Of The Results Antinuclear Antibodies In The Yüzüncü Yıl Üniversitesi Faculty Of Medicine, University of Y.Y.U. Institute of Medical Sciences, Department of Medical Microbiology, Master Thesis, Van, 2016.** In this study; ANA, CRP and RF tests in serum samples of 8626 patients with the suspected of autoimmune diseases, who consulted to Dursun Odabaş Medical Center, were studied. %68'i (5905) of these patients were female, and %32'si (2721) were males. Average age of all patients were 38,1, average age of male patients were 33,5, average age of females were 35,8. When the patients were grouped according to their age range, 1039 (%12) patients were determined in the age range of 0-14, 832 (%9,6) in the age range of 15-20, 22 (%39,3) in the age range of 11-20, 1744 (%20,2) in the age range of 21-30, 1836 (%21,3) in the age range of 31-40, 1473 (%17,1) in the age range of 41-50, 983 (%11,4) in the age range of 51-60, 462 (%5,4) in the age range of 61-70 and 257 (%2,3) in the age over 70. We found 1334 (%15,4) patients with ANA positive. CRP was positively detected on 144 of the 602 ANA positive patients and RF was positively detected on 32 of the 303 ANA positive patients. Consequently, we think that using ANA, CRP and RF tests together will contribute to early realization of the harm autoimmune diseases may cause.

**Keyword:** Antinuclear antibody, C-reactive protein, Rheumatoid Factor.

## KAYNAKLAR

Abeles A, M, Abeles, M (2013). The clinical utility of a positive antinuclear antibody test result. *The Amer J of Med*, 126, 4, 342-348.

Abul K, Abbas A, K, Lichtman A, H, Camcıoğlu Y, Deniz G (2007). Bağışıklık sistemi ve yetersizlikleri. Temel İmmunoloji. İstanbul Med Yayınc.

Adorini L, Gregori, S, Harrison, L, C (2002). Understanding autoimmune diabetes: insights from mouse models. *Truk indian Mol Med*, 8, 1, 31-38.

Ahmed S, A, Hissong, B, D, Verthelyi, D, Donner, K, Becker, K, Karpuzoglu-Sahin, E (1999). Gender and risk of autoimmune diseases: possible role of estrogenic compounds. *Envi Heal Perspec*, 107, 681-686.

Altan L, Bingöl, Ü, Sağırkaya, Z, Sarandöl, A, Yurtkuran, M (2004). Romatoid artritli hastalarda anksiyete ve depresyon. *Romatizma*, 19, 1, 7-13.

Altmann D, M, Sansom, D, Marsh, S, G (1991). What is the basis for HLA-DQ associations with autoimmune disease. *Immunol today*, 12, 8, 267-270.

Amato M, P, Ponziani, G, Rossi, F, Liedl, C, L, Stefanile, C, Rossi, L (2001). Quality of life in multiple sclerosis: the impact of depression, fatigue and disability. *Multiple sclerosis*, 7, 5, 340-344.

Ansar Ahmed, S, Penhale, W, J, Talal, N (1985). Sex hormones, immune responses, and autoimmune diseases. Mechanisms of sex hormone action. *The Amer J of Path*, 121, 3, 531-551.

Arnason B, G (1999). Immunologic therapy of multiple sclerosis. *Annu Rev of Med*, 50, 291-302.

Aslinia, F, Mazza, J, J, Yale, S, H (2006). Megaloblastic anemia and other causes of macrocytosis. *Clin Med & Resear*, 4, 3, 236-241.

Background, I (2010). Evidence-based Practice Center Systematic Review Protocol Project Title : Antinuclear antibody, rheumatoid factor, and cyclic-citrullinated peptide testing for the evaluation of musculoskeletal complaints in pediatric populations. *Rheumatism*.

Barker J, M (2006). Type 1 diabetes-associated autoimmunity: natural history, genetic associations, and screening. *The J of Clin Endocrinol & Metabol*, 91, 4, 1210-1217.

Barnes E, V, Narain, S, Naranjo, A, Shuster, J, Segal, M, S, Sobel, E, S, Richards, H, B (2005). High sensitivity C-reactive protein in systemic lupus erythematosus: relation to disease activity, clinical presentation and implications for cardiovascular risk. *Lupus*, 14, 8, 576-582.

Birtane M (2012). Diagnostic role of anti-nuclear antibodies in rheumatic diseases/romatizmal hastalıklarda antinükleer antikorların tanılma rolü. *Turk J of Rheumat*, 27, 2, 79-90.

Bolon, B (2012). Cellular and molecular mechanisms of autoimmune disease. *Toxicol path*, 40, 2, 216-229.

Bynoté K, K, Hackenberg, J, M, Korach, K, S, Lubahn, D, B, Lane, P, H, Gould, K, A (2008). Estrogen receptor-alpha deficiency attenuates autoimmune disease in (NZB x NZW)F1 mice. *Gen and Immunology*, 9, 2, 137-152.

Candemir M, Polat, A, Kılıç, İ, Balcı, Y, I, İnan, M, Halis, H, Profesörü, P, Ü, T, F, P (2006). Sefalosporinlerle ilişkili otoimmün hemolitik anemi: Bir vaka takdimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastal Derg*, 49, 315-318.

Castro C, Gourley, M (2010). Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. *The J of Allergy and Clin Immunol*, 125, 2, 238-247.

Chan E, K, L, Satoh, M, Pauley, K, M (2009). Contrast in aberrant microRNA expression in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: is microRNA-146 all we need. *Arthritis and Rheumatism*, 60, 4, 912-915.

Chung S, A, Criswell, L, A (2007). PTPN22: its role in SLE and autoimmunity. *Autoimmunity*, 40, 8, 582-590.

Cotsapas, C, Hafler, D, A (2013). Immune-mediated disease genetics: the shared basis of pathogenesis. *Turk in Immunologic*, 34, 1, 22-26.

Culp K, S, Fleming, C, R, Duffy, J, Baldus, W, P, Dickson, E, R (1982). Autoimmune associations in primary biliary cirrhosis. *In Mayo Clin Proceed*, 57, 6, 365-370.

Çağlayan, E, S (2006). Anti nükleer antikorların farklı yöntemlerle bakılması ve alt gruplarının karşılaştırılması. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi.

Çalışır U, 2011. Romatoid artrit tanılı hastalarda anti nükleer antikor profillerinin değerlendirilmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi.

Çefle A, Turgut, T (2010). Primer Sjögren Sendromu Olan 25 Hastanın Klinik Ve Laboratuvar Bulgularının Değerlendirilmesi. *Tıp Araştırma Derg*, 8, 1.

Değer, S, M, Galip, G, Ü, Z (2013). Good Pasture Sendromu. *Turk Klin J of Nephrol Special Top*, 6, 3, 19-23.

Despres N, Boire, G, Lopez-Longo, F, J, Menard, H, A (1994). The Sa system: a novel antigen-antibody system specific for rheumatoid arthritis. *The J of rheumatol*, 21, 6, 1027-1033.

Du Clos, T, W, Mold, C (2004). C-reactive protein: an activator of innate immunity and a modulator of adaptive immunity. *Immunologic Research*, 30, 3, 261–277.

Düldar U, S, Gulmez, D, Hascelik, G (2003). The combination of antibodies against cyclic citrullinated peptide (anti-CCP), with some other parameters used for the serological diagnosis of rheumatoid arthritis. *Mikrobiyol bult*, 37, 2, 163-170.

Dünder, B, Boyacı, A, Sangün, Ö, Dünder, N (2011). Çocuk ve ergenlerde Hashimoto tiroiditi: klinik ve laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi. *Türk Pediatri Arşivi*, 46, 4.

Düzgün, N (2005). Sistemik Lupus Eritematozus Etiyopatogenezi. *Turk Klin J of Inter Med Scien*, 1, 8, 8-11.

Erke K, (2015). Anti nükleer antikor (ANA) sonuçları ile ekstrakte edilebilir nükleer antikorları (ENA) arasındaki ilişkinin araştırılması. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi.

Fitch-Rogalsky, C, Steber, W, Mahler, M, Lupton, T, Martin, L, Barr, S, G, Fritzler, M, J (2014). Clinical and serological features of patients referred through a rheumatology triage system because of positive antinuclear antibodies. *PloS One*, 9, 4, 93812.

Fritschy, J, M, Härtig, W (2001). *Encyclopedia of Life Sciences*. ELS. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.

Gambineri, E, Orgerson, T, R, Ochs, H, D (2003). Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, and X-linked inheritance (IPEX), a syndrome of systemic autoimmunity caused by mutations of FOXP3, a critical regulator of T-cell homeostasis. *Current Opinion in Rheumatology*, 15, 4, 430–435.

Gan, S, D, Patel, K, R (2013). Enzyme immunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay. *The J of Invest Dermat*, 133, 9, 12.

Grimaldi, C, M, Cleary, J, Dagtas, A, S, Moussai, D, Diamond, B (2002). Estrogen alters thresholds for B cell apoptosis and activation. *The J of Clin Invest*, 109, 12, 1625–1633.

Guldner, H, H, Szostecki, C, Vosberg, H, P, Lakomek, H, J, Penner, E, Bautz, F, A (1986). Scl 70 autoantibodies from scleroderma patients recognize a 95 kDa protein identified as DNA topoisomerase I. *Chromosoma*, 94, 2, 132–138.

Güler A, Gökçay, F, İşman, D, Diramali, B (2008). Olgu Sunumu Kronik İnflamatuar Demiyelinizan Polinöropati ve Graves Hastalığı Birlikteliği, Olgu Sunumu. *Turk J of Neurol Scien* , 25, 2, 15.

Gündüz G (2007). Romatoid artritli hastalarda akciğer tutulumu ile klinik ve laboratuvar bulgular arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi, Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

Holman, H (2011). The discovery of autoantibody to deoxyribonucleic acid. *Lupus*, 20, 5, 441–442.

Isenberg, D, Wallace, D, J, Nived, O, Ramsey-goldman, R, Ph, M, D, Bae, S, Ph, M, D, D (2013). *NIH Public Access*, 64, 8, 2677–2686.

İlhan F, Akbulut H, Gödekmerdan A (2011). Laboratuvarımızda saptanan ANA paternlerinin retrospektif incelenmesi. 21. İmmünoloji Kongresi, 6-9 Nisan, Marmaris, Muğla. *Türk İmmünoloji Derneği*, 21, 126.

Johnson A, E, Gordon, C, Palmer, R, G, Bacon, P, A (1995). The prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in Birmingham, England. *Arthritis & Rheumatism*, 38, 4, 551-558.

Kakati S, Pradip, B, D, Sarma, K (2003). C – Reactive Protein in Systemic Lupus Erythematosus. *Building*, 66 – 70.

Karakeçe, E (2014). Antinuclear Antibody Positivity in a University Hospital. *Turk J of Immunol*, 2, 1, 5–8.

Kavanaugh A, Tomar, R, Reveille, J, Solomon, D, H, Homburger, H, A (2000). Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. *Arch of Path & Lab Med*, 124, 1, 71–81.

Kivanç T, Ekici, Z, Yılmaz, S, Eyüboğlu, F, Ö (2012). Nodüllerle seyreden skleroderma akciğer tutulumu. *Tuberk Toraks*, 60, 4, 370-374.

Kumar, Y, Bhatia, A, Minz, R, W (2009). Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diag Path*, 4, 1.

Landis J, R, Koch, G, G (1977). The measurement of observer agreement for categorical data, *Biometrics*. *Cilt.* 33, 159-174.

Lyons R, Narain, S, Nichols, C, Satoh, M, Reeves, W, H (2005). Effective use of autoantibody tests in the diagnosis of systemic autoimmune disease. *Anna of the New York Acad of Scien*, 1050, 217–228.

Mackay I, R, Rose, N, R, Diamond, B, Davidson, A (2014). *Encyclopedia of Medical Immunology*. New York, NY: Springer New York.

Morel L (2004). Mouse models of human autoimmune diseases: essential tools that require the proper controls. *PLoS Biol*, 2, 8, 241.

Nasuhbey N, (1995). Bölgemizdeki Bazı Otoimmün Hastalıklarda Antinükleer Antikor Prevalansı, ASO,CRP,RF İlişkisi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi.

Of, F, To, U, Trends, C, E, Countries, I, N, D, Geographic, T, H, E, Of, D, Diseases, A (2002). S Usceptibility To a Utoimmune and a Llergic D Iseases. *New Engl J of Med*, 347, 12, 911–920.

Oldstone, M, B, A (2005). Molecular mimicry, microbial infection, and autoimmune disease: evolution of the concept. In *Molecular Mimicry: Infection-Inducing Autoimmune Disease*. Springer Berlin Heidelberg, 1-17.

O'Shea J, J, Ma, A, Lipsky, P (2002). Cytokines and autoimmunity. *Nature Review Immunology*, 2, 1, 37-45.

Özkol H, U, Karadağ S, Çalka Ö, Akdeniz N, Bulut G, Özdemir İ, Y (2013). Primer Kutanöz Vaskülitli Hastalarda Otoimmünitenin Değerlendirilmesi. *J of Clin and Analyt Med*.

Parlak, M, Bayram, Y, Çıkman, A, Berktaş, M (2013). Buzdolabında Bekletilen Serumlarda CRP Düzeyinde Zamana Bağlı Değişim. *Van Tıp Derg*, 20, 1, 13-17, Professional, Iowa. 536.

Pincus, T (2006). Advantages and limitations of quantitative measures to assess rheumatoid arthritis: Joint counts, radiographs, laboratory tests, and patient questionnaires. *Bull of the NYU Hosp for Jo Dis*, 64, 1, 32–39.

Ray S (2013). Autoimmune Disorders: An Overview of Molecular and Cellular Basis in Today's Perspective. *J of Clin & Cellul Immunol*, 1, 10.

Reeves W, H, Lee, P, Y, Weinstein, J, S, Satoh, M, Lu, L (2009). Induction of autoimmunity by pristane and other naturally occurring hydrocarbons. *Trends in Immunology*, 30, 9, 455–464.

Rivas, L, A, García-Villadangos, M, Moreno-Paz, M, Cruz-Gil, P, Gómez-Elvira, J, Parro, V (2008). A 200-antibody microarray biochip for environmental monitoring: searching for universal microbial biomarkers through immunoprofiling. *Analytical Chemistry*, 80, 21, 7970–7979.

Rostaing, L, Modesto, A, Cisterne, J, M, Izopet, J, Oksman, F, Duffaut, M, Durand, D (1998). Serological markers of autoimmunity in renal transplant patients with chronic hepatitis C. *Amer J of Nephrol*, 18, 1, 50–56.

Saltık S, Ergüven, M, Turgut, T, Demirbilek, V, Özümüztoprak, N, Doğu, A (2004). Çocukluk çağında Miyasteni gravis Olgu Sunumu. *Türk Pediatri Arşivi*, 39, 3.

Sanchez-Roman, J, Wichmann, I, Salaberri, J, Varela, J, M, Nuñez-Roldan, A (1993). Multiple clinical and biological autoimmune manifestations in 50 workers after occupational exposure to silica. *Anna of the Rheu Dis*, 52, 7, 534–538.

Satoh, M, Vázquez-Del Mercado, M, Chan, E, K, L (2009). Clinical interpretation of antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Mod Rheu/the Japan Rheu Assoc*, 19, 3, 219–228.

Sertpoyraz, F, M, Şükran, K, Ö, S, E, Öztürk, Y, K (2013). Romatoid Artritli Hastalarda Romatoid Faktör Ve Anti-Ccp İlişkisi. *Tepecik Eğit Hast Derg*, 23, 2, 93-96

Shoenfeld Y, Zandman-Goddard G, Stojanovich L, Cutolo M, Amital H, Levy Y (2008). The mosaic of autoimmunity: hormonal and environmental factors involved in autoimmune diseases. *Isr Med Assoc J*, 10, 8-12.

Sospedra, M, Martin, R (2006). Molecular mimicry in multiple sclerosis. *Autoimmunity*, 39, 1, 3–8.

Şencan, H (2005). Sosyal ve Davranışsal Ölçmelerde Güvenirlik ve Geçerlilik. Ankara: Seçkin Yayınları.

Şimşek B, Mısırlıoğlu H, Ören S, Muşabak U, Baysallar M, Başustaoğlu A (2011). Retrospektif olarak antinükleer antikör pozitif olan hastalarda indirektimmünofloresan (İİF) ve immünoblotting (İB) test sonuçlarının değerlendirilmesi. 21. Ulusal İmmünoloji Kongresi, 6-9 Nisan, Marmaris, Muğla. *Türk İmmünol Dern*, 21, 111.

Tareen, A, Naqi, N, Afzal, A, Malik, U (2014). Diagnostic accuracy of antinuclear antibodies and anti-double stranded DNA antibodies in patients of systemic lupus erythematosus presenting with dermatological features, 24, 2, 127–131.

Thompson, D, Pepys, M, B, Wood, S, P (1999). The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure London, England*, 7, 2, 169–177.

Tozzoli, R, Bizzaro, N, Tonutti, E, Villalta, D (2002). Guidelines for the Laboratory Use of Autoantibody Tests in the Diagnosis and Monitoring of Autoimmune, 316–324.

Traczewski P, Rudnicka, L (2011). Treatment of systemic lupus erythematosus with epratuzumab. *British J of Clin Pharmacol*, 71, 2, 175–182.

Vogt B, Führrohr, B, Müller, R, Sheriff, A (2007). CRP and the disposal of dying cells: consequences for systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Autoimmunity*, 40, 4, 295–298.

Vollset S (2000). Evaluation of diagnostic tests for antinuclear antibodies in rheumatological practice. *Scand. J. Immunol*, 52, 309-315.

Whitacre C, C (2001). Sex differences in autoimmune disease. *Nature Immunology*, 2, 9, 777–780.

Wiik A, S, Gordon, T, P, Kavanaugh, A, F, Lahita, R, G, Reeves, W, Van Venrooij, W, J, Fritzler, M (2004). Cutting edge diagnostics in rheumatology: the role of patients, clinicians, and laboratory scientists in optimizing the use of autoimmune serology. *Arthritis Care & Research*, 51, 2, 291-298.

Witebsky E (1967). Immunology: views of the past and visions for the future. *Canadian Med Associat J*, 97, 23, 1371–1377.

Wucherpennig K, W (2001). Mechanisms for the induction of autoimmunity by infectious agents. *The J of Clin Invest*, 108, 8, 1097–1104.

Youinou P, Pers, J, O, Gershwin, M, E, Shoenfeld, Y (2010). Geo-epidemiology and autoimmunity. *J of autoimmunity*, 34, 3, 163-167


## ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Irak Erbil’de doğdu. İlk ve orta öğrenimini Erbil’de tamaladıktan sonra 2008 yılında Süleymaniye Üniversitesi Biyoloji bölümünden mezun oldu. 2014 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı ve 2016 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı.




## EKLER

### EK 1: Etik Kurul Raporu



**T.C.**  
**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**GİRİŞİMSSEL OLMAYAN**  
**KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**  
**KARAR FORMU**



<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	<p><b>Karar No: 02</b> <span style="float: right;"><b>Tarih: 27.10.2015</b></span></p> <p>Doc.Dr. Yasemin BAYRAM sunum,uluğınca yapılması tasarılanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen "Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesinde Anti Nükleer Antikor Sonuçlarının Değerlendirilmesi" isimli bilimsel araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiştir. Araştırmacıların Yüzüncü Yıl Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun Çalışma Esasları Hakkında Yönergesinde belirtilen hususları yerine getirdikleri belirlenmiş olup, çalışmalarını ile ilgili tüm sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere söz konusu çalışmanın gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığına, top antıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğuna/birliği ile karar verilmiştir.</p> <p style="text-align: center;"><b>GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU</b></p> <p><b>ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI</b> Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kurumu</p> <p><b>BAŞKANIN İSMI/VANİ / ADI / SOYADI:</b> Prof.Dr. Özgür TUNCER</p>
------------------------	--

Unvanı/Adı/Soyadı	Lisanslık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilgili	Karar *	Tarih
Prof.Dr. Özgür TUNCER	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>
Yrd.Doc.Dr. Sükran SEVİMİ	Tıp Tarih ve Etnik	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>
Prof.Dr. Sedat KESKİN	Maternal ve Üreme	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>
Doç.Dr. Hasan Ali GÜMÜRKÇÜOĞLU	Karıyolu	Özel Vay Lalehan Hastane Hastahane	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>
Doç.Dr. İlhan GELİ	İdrar	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>
Doç.Dr. Nuran DOĞAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>
Doç.Dr. M. Faruk GARIÇA	ENB	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>
Doç.Dr. Hüseyin BİRGENİK	Dahiliye	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>
Yrd. Doç.Dr. M. Bilal ÇEĞİN	Anesteziyoloji ve Anesteziyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>
Yrd. Doç.Dr. Nuran ÇİN	Çocuk Hastalıkları ve Dişçilik	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>
Yrd. Doç.Dr. Rıdvan İSTİFİN	Pediyatri	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>
Yrd. Doç.Dr. Emre ÖKSÜZ	Farmakolojik Uzman	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>
Faika POLKER	İnfüzyon	Van Üniversite Hastane Yükseköğretim	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>
Uğur ÖNER	Üniversite Medisni	-	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> F <input checked="" type="checkbox"/>

Sayfa 2

Adres : Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığa Merkez Kampüsü Van  
Tel : 432- 2150470  
Faks : 432-2169352  
E-posta : etik@yyl.edu.tr