

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİSTEMİK OTOİMMÜN ROMATOLOJİK HASTALIKLARDA  
VE  
SAĞLIKLI BİREYLERDE ANTİ DFS-70 OTOANTİKORLARI**

**DUYGU KAYASÜ**

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Hüseyin TUTKAK**

**2010 - ANKARA**

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
İç Hastalıkları Yüksek Lisans **Programı**  
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek  
Lisans **Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 22/10/2010

Prof.Dr. Ümit ÖLMEZ  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Jüri Başkanı

Prof.Dr. Hüseyin TUTKAK  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Prof.Dr. Devran GERÇEKER  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Yrd.Doç.Dr. M. Türker DUMAN  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Raportör

Prof.Dr. Gülay KINIKLI  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Çizelgeler	viii
Şekiller	xi
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1 İmmün Sistem	1
1.2 İmmünolojik Tolerans	1
1.2.1 B Lenfostilerin Tolerans Mekanizmaları	2
1.3 Otoimmünite, Otoantikolar ve Otoimmün Hastalıklar	2
1.4 Anti-Nükleer Antikolar ve Klinik Önemi	4
1.4.1 ANA IIF Testinde Hücre Çekirdeğinde Gözlenen Boyanma Şekilleri ve Hastalıklar İle İlişkileri	8
1.4.2 ANA IIF Testinde Hücre Sitoplazmasında Gözlenen Boyanma Şekilleri ve Hastalıklar İle İlişkileri	9
1.5 LEDGF/ Anti-DFS 70 Otoantikoru	12
<b>2. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>19</b>
2.1 Gereç	19
2.1.1 Kontrol Grubu Serum Örneklerinin Toplanması ve Saklanması	19
2.1.2 SLE, RA ve Skleroderma Hasta Grupları	19
2.1.3 Çalışmada Kullanılan Laboratuvar Gereçleri	20
2.2 Yöntem	21
2.2.1 İndirekt İmmün Floresan (IIF) Yönteminin Uygulanması ve Prensipleri	21
2.2.2 Floresan Mikroskop Değerlendirmesi	24

2.2.3	Hep-2 WesternBlot (WB) Test Yönteminin Uygulanması ve Prensibi	25
2.3	İstatiksel Analiz	27
<b>3.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>28</b>
3.1	Kontrol Grubu Anti Nükleer Antikorlar (ANA) IIF Sonuçları	28
3.2	Skleroderma Hasta Grubu Anti Nükleer Antikor (ANA) IIF Sonuçları	38
3.3	Sistemik Lupus Eritromatozus (SLE) Hasta Grubu Anti Nükleer Antikorlar (ANA) IIF Sonuçları	43
3.4	Romatoid Artrit (RA) Hasta Grubu Anti Nükleer Antikorlar (ANA) IIF Sonuçları	51
3.5	DFS-70 Pozitif Örneklerin Hep-2 WesternBlot Çalışmasında Değerlendirmesi	57
<b>4.</b>	<b>TARTIŞMA</b>	<b>61</b>
<b>5.</b>	<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>66</b>
	<b>ÖZET</b>	<b>67</b>
	<b>SUMMARY</b>	<b>68</b>
	<b>KAYNAKLAR</b>	<b>69</b>
	<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>75</b>

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Hüseyin TUTKAK danışmanlığında yürütülmüş ve sonuçlanmıştır.

Araştırmamız, Anti nükleer antikor tarama testinde sıklıkla rastlanmaya başlanan Anti-DFS70 otoantikorunun, Türk toplumundaki ve bazı otoimmün hastalık gruplarındaki bulunma sıklığını ortaya çıkarma amaçlıdır. Bu amaçla, sağlıklı kan donörleri ve sistemik otoimmün hastalıklı bireylerden oluşan bir çalışma grubu oluşturuldu ve indirekt immünfloresan ve WesternBlot yöntemi ile Anti-DFS 70 otoantikorunun bu gruplardaki yüzdesi saptanmış, daha önceki çalışmalarla karşılaştırılarak yorumlanmıştır.

Tez çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübeleriyle beni her konuda destekleyen Prof. Dr. Hüseyin TUTKAK'a, Prof. Dr. Nurşen DÜZGÜN, Prof. Dr. ÜMİT ÖLMEZ, Doç. Dr. Yasemin GENÇ, Prof. Dr. Murat TURGAY, Prof. Dr. Gülay KINIKLI ve Yrd. Doç. Dr. Türker DUMAN'a ve rahmet ile andığım Prof. Dr. Olcay Tiryaki'ye teşekkür ederim.

Bütün eğitim hayatım boyunca beni her koşulda destekleyen başta annem; Nadide KAYASÜ, babam; M. Cenap KAYASÜ ve teyzem; Prof. Dr. Nahide KONUK ve tüm sevgili aileme teşekkürü bir borç bilirim.

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>AH</b>	<b>Autoimmune Hepatitis</b>
<b>APS</b>	<b>Anti Phospholipid Syndrome</b>
<b>ANA</b>	<b>Anti Nükleer Antikor</b>
<b>CENP</b>	<b>Centromer Protein</b>
<b>dcSSc</b>	<b>Diffuse Cutaneous Systemic Sclerosis</b>
<b>DFS</b>	<b>Dense Fine Speckled</b>
<b>DIL</b>	<b>Drug Induced Lupus</b>
<b>DM</b>	<b>Dermatomyositis</b>
<b>FITC</b>	<b>Fluorescein IsoThioCyanate</b>
<b>GW</b>	<b>Glycine Tryptophan</b>
<b>Hep-2</b>	<b>Human Epithelial Cell Line 2000</b>
<b>Hubf</b>	<b>Human upstream binding factor</b>
<b>IIF</b>	<b>İndirekt İmmün Floresan</b>
<b>Ig</b>	<b>İmmünglobulin</b>
<b>kDa</b>	<b>kiloDalton</b>
<b>lcSSc</b>	<b>Limited cutaneous systemic sclerosis</b>
<b>MCTD</b>	<b>Mix Connective Tissue Disease</b>
<b>µl</b>	<b>Mikrolitre</b>
<b>ml</b>	<b>Mililitre</b>
<b>NLS</b>	<b>Neonatal Lupus Syndrome</b>
<b>NOR</b>	<b>Nucleolar Organiser</b>
<b>NUMA</b>	<b>Nuclear Mitotic Apparatus</b>
<b>PBC</b>	<b>Primary Biliary Cirrhosis</b>
<b>PBS</b>	<b>Phosphate Buffer Saline</b>
<b>PCNA</b>	<b>Proliferating Cell Nuclear Antigen</b>
<b>PM</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>RA</b>	<b>Romatoid Artrit</b>
<b>RNAP</b>	<b>RNA polimeraz</b>
<b>RNP</b>	<b>Ribonükleoprotein</b>

<b>RP</b>	Raynaud Phenomenon
<b>SCLE</b>	Subcutaneous Lupus Erythematosus
<b>SLE</b>	Systemic Lupus Erythematosus
<b>SRP</b>	Signal Recognition Receptor
<b>SSc</b>	Systemic Sclerosis
<b>WB</b>	Western Blot

## ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Romatolojik Hastalıklarda ve Sağlıklı Bireylerde ANA Pozitiflik Oranları (Kavanaugh ve ark, 2000)	7
Çizelge 1.2.	Otoantikora Spesifik ANA (IIF) Boyanma Modelleri Ve Hastalıklarla İlişkileri (Elkon ve Casali, 2008)	7
Çizelge 3.1.	Kontrol Grubu Kadın-Erkek Yaş Dağılımı ve ANA IIF Pozitiflik Yüzdeleri.	28
Çizelge 3.2.	Sağlıklı Kontrol Grubunun (n= 536) Titrelere Göre Boyanma Tipleri ve Yüzdeleri.	29
Çizelge 3.3.	Sağlıklı Kontrol Grubunun (n=536) 1/100 ve Üzeri Dilüsyonda ANA IIF Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri.	30
Çizelge 3.4.	DFS70 Boyanma Tipinin Kontrol ve Hastalık Gruplarında Dağılımı.	31
Çizelge 3.5.	Benekli Boyanma Tipinin Kontrol ve Hastalık Gruplarında Dağılımı.	32
Çizelge 3.6.	Nükleolar Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve Hastalık Gruplarının Toplamı İle Karşılaştırması.	32
Çizelge 3.7.	Sitoplazma Benekli Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve Hasta Grupları Açısında Yüzdeleri.	33
Çizelge 3.8.	Kontrol Grubu ANA IIF Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri. (1/40 ve üzeri dilüsyonda)	35
Çizelge 3.9.	Kontrol Grubu Kadın Bireylerde Boyanma Tipleri–Titre Dağılımı.	36
Çizelge 3.10.	Kontrol Grubu Erkek Bireylerde Boyanma Tipleri–Titre Dağılımı.	36
Çizelge 3.11.	DFS-70 Pozitif Kadın ve Erkeklerin Yaş ve Titre Dağılımı.	37
Çizelge 3.12.	Kontrol Grubunun DFS-70 Boyanma Şekline Göre Yaş Aralıkları Açısından Dağılımı	38
Çizelge 3.13.	Skleroderma Hasta Grubu Kadın-Erkek Yaş Dağılımı ve ANA IIF Pozitiflik Yüzdeleri	38
Çizelge 3.14.	Skleroderma Hasta Grubunun (n=18) ANA IIF 1/100 ve Üzeri Dilüsyon Sonuçlarına Göre Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri	39

Çizelge 3.15. Skleroderma Hasta Grubunun (N=18) ANA IIF Sonuçlarına Göre Boyanma Şekillerinin Titre Dağılımı ve Yüzdesi	39
Çizelge 3.16. Benekli Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve Skleroderma Hasta Grubunda Dağılımı	40
Çizelge 3.17. Nükleolar Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve Skleroderma Hasta Grubunda Dağılımı.	40
Çizelge 3.18. Skleroderma Hasta Grubu (N=18) 1/40 ve Üzeri Dilüsyonda ANA IIF Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri.	42
Çizelge 3.19. Skleroderma Hasta Grubu Kadın Bireylerde Boyanma Tipleri – Titre Dağılımı.	42
Çizelge 3.20. Skleroderma Hasta Grubu (N=18) Erkek Bireylerde Boyanma Tipleri – Titre Dağılımı.	43
Çizelge 3.21. SLE Hasta Grubu Kadın-Erkek Yaş Dağılımı ve ANA IIF Pozitiflik Yüzdeleri	44
Çizelge 3.22. SLE Hasta Grubunun (n=67) 1/100 ve Üzeri Dilüsyonda ANA IIF Sonuçlarına Göre Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri	45
Çizelge 3.23. SLE Hasta Grubunun (n=67) ANA IIF Sonuçlarına Göre Boyanma Şekillerinin Titre Dağılımı ve Yüzdesi.	45
Çizelge 3.24. Benekli Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve SLE Hasta Grubunda Dağılımı (1/40 ve üzeri dilüsyonda)	46
Çizelge 3.25. Sitoplazma Atipik Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve SLE Hasta Grubunda Dağılımı (1/40 ve üzeri dilüsyonda)	47
Çizelge 3.26. Homojen Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve SLE Hasta Grubunda Dağılımı (1/40 ve üzeri dilüsyonda)	47
Çizelge 3.27. SLE Hasta Grubu ANA IIF Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri (1/40 ve üzeri dilüsyonda)	49
Çizelge 3.28. SLE Hasta Grubu Kadın Bireylerde Boyanma Tipleri–Titre Dağılımı	50
Çizelge 3.29. SLE Hasta Grubu Erkek Bireylerde Boyanma Tipleri–Titre Dağılımı.	51
Çizelge 3.30. RA Hasta Grubu Kadın-Erkek Yaş Dağılımı ve ANA IIF Pozitiflik Yüzdeleri.	52

- Çizelge 3.31. RA Hasta Grubunun (N=31) 1/100 ve Üzeri Dilüsyonda ANA IIF Sonuçlarına Göre Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri 53
- Çizelge 3.32. RA Hasta Grubunun (n=31) ANA IIF Sonuçlarına Göre Boyanma Şekillerinin Titre Dağılımı ve Yüzdesi. 53
- Çizelge 3.33. Benekli Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve RA Hasta Grubunda Dağılımı (1/40 ve üzeri dilüsyonda) 54
- Çizelge 3.34. Sitoplazma Benek Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve RA Hasta Grubunda Dağılımı (1/40 ve üzeri dilüsyonda) 55
- Çizelge 3.35. RA Hasta Grubu ANA IIF Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri (1/40 ve üzeri dilüsyonda) 56
- Çizelge 3.36. RA Hasta Grubu Kadın Bireylerde Boyanma Tipleri–Titre Dağılımı.56
- Çizelge 3.37. RA Hasta Grubu Erkek Bireylerde Boyanma Tipleri–Titre Dağılımı.57
- Çizelge 3.38. DFS 70 Pozitif IIF Sonuçları İle Bu Örneklerin Hep-2 Westernblot Test Sonuçlarının Karşılaştırması. 60

## ŞEKİLLER

Şekil 1.1. ANA IIF (Hep 2010) Pozitif Nükleer Boyanma Gösteren Örnekler .....	11
Şekil 1.2. ANA IIF Pozitif Sitoplazmik Boyanma Örnekleri.....	12
Şekil 1.3. Anti DFS-70 Pozitif ANA IIF Görüntüsü.....	13
Şekil 1.4. DFS70 Otoantijeninin Apoptoz İle Fragmanlarına Ayrılması Hipotezi (Ganapathy ve ark, 2004). .....	14
Şekil 3.1. ANA IIF Anti -DFS 70 Pozitif Görüntüleri .....	34
Şekil 3.2. DFS70 Pozitif Serumların Hep-2 Westernblot Çalışma Sonuçları. ....	58
Şekil 3.3. DFS70 Pozitif Serumların Hep-2 Westernblot Çalışma Sonuçları. ....	59

# 1 GİRİŞ

## 1.1 İmmün Sistem

İmmünoloji, immün sistemin ve vücuda yayılan patojenlere verdiği yanıtlarının incelendiği bir daldır. İmmünite, hastalığa özellikle enfeksiyon hastalıklarına karşı direnç olarak tanımlanır. Enfeksiyonlara karşı savunmayı sağlayan hücreler, dokular ve moleküllerin toplamına immün sistem adı verilir. Bu hücrelerin ve moleküllerin enfeksiyona yol açan mikroorganizmalara karşı düzenli olarak verdikleri tepkiye ise immün yanıt denir (Abbas ve Lichtman, 2007, s.:1-8).

İmmün sistem; ‘Doğal Bağışıklık’ ve ‘Edinilen Bağışıklık’ olmak üzere ikiye ayrılır. Edinsel bağışıklıkta; değişik hücre ve moleküllerin oluşturduğu, hücre içi ve hücre dışı mikroorganizmalara karşı savunma; hücrel (T lenfositler aracılığı ile) ve humoral immünite (B lenfositler aracılığı ile) ile sağlanır. Humoral immünite, B lenfositlerin ürettiği antikor denilen proteinlerden oluşur. Antikorlar dolaşıma ve mukoza sıvılarına salgılanarak kanda, gastrointestinal ve solunum yolları gibi mukoza organlarının lümenlerinde mevcut olan mikropları ve mikrobik toksinleri etkisiz hale getirirler. İmmün sistemin tüm bu görevleri yerine getirirken ki en önemli özelliği birçok mikroorganizmaya karşı immün yanıt oluştururken bireyin öz antijenlerine karşı yanıt oluşturmamasıdır (Abbas ve Lichtman, 2007, s.:161-176).

## 1.2 İmmünolojik Tolerans

Tolerans, belli koşullar altında, öz antijen reseptörlerinin etkilenmesi sonucunda lenfositlerin aktive olması yerine ölmeleri veya cevapsız kalmalarıdır. İmmünojenik tolerans, antijenin uyardığı immün cevaptaki inhibisyon olarak da tanımlanabilir.

Toleransa neden olan antijenlere ‘tolerojenler’, immün cevaba yol açanlara ‘immünojenler’ denir. Normal koşullarda bütün öz antijenler tolerojendir. İmmünojenik antijenler ise spesifik immüniteyi uyarırlar ve bu antijenlerle tekrarlanan karşılaşmalar sonucunda sekonder immün cevap artar (Tokgöz, 1997).

### **1.2.1 B Lenfositlerin Tolerans Mekanizmaları**

Olgunlaşmamış B lenfositler, kemik iliğinde öz antijenlere kuvvetli bağlanırlarsa, ya negatif seçim yoluyla öldürülürler yada reseptörlerinin özgüllüğünü değiştirirler. B lenfositler, kemik iliğinde öz antijenleri tanıdığında, immünglobulin (Ig) genleri yeniden düzenlenerek yeni bir immünglobulin hafif zinciri yapabilirler. Böylece bu yeni hafif zincir daha önceden düzenlenmiş ağır zincirle birleşerek önceki öz antijene özgül olmayan yeni bir algaca dönüşebilir. Bu olay *yeniden düzenlenme* (receptor editing) dir.

B lenfosit gelişimi sırasında merkezi tolerans mekanizmasının bozulmasının otoimmüniteye yol açması olasıdır (Abbas ve Lichtman, 2007, s.:161-176). Patojenik otoantikorların üretimi, öz antijenlere karşı toleransın bozulmasının önemli bir işaretidir.

### **1.3 Otoimmünite, Otoantikorlar ve Otoimmün Hastalıklar**

Otoantikorlar, vücudun kendi öz antijenlerine karşı oluşur, oysa ki immün sistemde görevli hücrelerin ‘Tolerans mekanizması’ ile çalışması beklenir. Otoantikorlar, bireylerde sistemik otoimmün romatolojik hastalıkların (veya organ spesifik otoimmün hastalıkların) belirteci olabilecekleri gibi, sağlıklı bireylerde de bulunabilirler (Solomon ve ark, 2002). Otoantikorlar, doğal ve patojenik

otoantikolarlar olarak iki gruba ayrılır. Fritzler'e (2008) göre otoantikolarların fonksiyonel rolü kesinlik kazanmamıştır; bazı otoantikolar patojenik, bazıları hastalığa spesifik ve bazıları ise ilerde oluşacak hastalığa işaret edebilecek yapıdadır. Doğal otoantikoların, insan serumunda düşük konsantrasyonlarda bulunan ve herhangi bir organa spesifik olarak oluşmayan özellikte olduğu ileri sürülmektedir (Gleicher ve ark, 2007). Hatta bazı doğal otoantikoların koruyucu etkileri olduğu da düşünülmektedir (Shoenfeld ve Toubi, 2005; Shoenfeld ve Poletaev, 2005). Patojenik otoantikolar ise, öz antijenlere karşı toleransızlığın göstergesidir.

Otoimmün hastalıkların oluşmasına; genetik, çevre, hormonlar, stres ve immünolojik faktörler gibi birden çok değişken neden olabilir. RA'lı, SLE'li, Fibromiyalji Sendrom'lu ve Jüvenil Kronik Artrit'li hastaların (Herrmann ve ark, 2000) %80'ninin, bu otoimmün hastalıkların oluşmasından önce duygusal stres yaşadığı ileri sürülmektedir (Stojanovich, 2009). Çocukluk çağında yaşanan travmatik stresin, yetişkin dönemde otoimmün hastalıkların oluşmasını arttırdığı yönünde çalışmalarda mevcuttur (Dube ve ark, 2009). Bu şekilde toleransın bozulmasında, en çok da çevresel faktörlerin ve takiben genetik değişimlerin etkisi gösterilebilir (Elkon ve Casali, 2008). Genetik değişiklikler, periferik ve immün sistemdeki lenfositlerin otoreaktivitesini değiştirir. Farklı koşullarda yaşayan, genetik olarak benzer popülasyonlarda yapılan çalışmalar otoimmün hastalıkların ortaya çıkışında çevresel faktörlerin önemini göstermiştir. Monozigotik ikizlerde bile aynı hastalığın görülme sıklığının %50'lilerde kalması ve etnik kökenden bağımsız olarak hastalık insidansının belirli coğrafi bölgelerde yaşamayla artması sonuçta tetikleyici çevresel faktörler üzerinde araştırmaların yoğunlaşmasını sağlamıştır. Çevresel faktörler içerisinde en çok üzerinde durulan konu enfeksiyonlardır. Enfeksiyonların otoimmün hastalıkların gelişimi üzerinde iki yönlü etkisi vardır. Enfeksiyonların otoimmün hastalıkların oluşumunu tetikleyebileceği gibi, son yıllarda giderek artan sayıda veri, bazı enfeksiyonlarında otoimmünitenin gelişimini önlediği düşündürmektedir (Doğu, 2005).

Self toleransın işlev görmemesi ve otoantikör üretimi, otoimmün hastalıkların oluşmasına sebep olacaktır. Oluşan otoimmün hastalıklar sonucu otoantikör aracılı doku hasarı ortaya çıkmaktadır.

Otoantikörler, hücrenin çeşitli antijenik yapılarına karşı oluşabilmektedir. Sistemik otoimmün hastalıklarda mevcut olan otoantikörlerin büyük bölümü, bu hastalıkların ayırt edici tanısında kullanılabilir. Otoimmün hastalıkların çoğunda self reaktif T hücreler esas olayların başlatıcısı ve yürütücüsüdür fakat T hücrelerin saptanması zor olduğu için otoimmün hastalık araştırmalarında, serum örneklerinden otoantikör tayini daha rutin bir yaklaşımdır (Aydınтуğ, 2005). 1960 ve 1970'lerde, birçok araştırmacı, sistemik otoimmün hastalıkların tanısı için otoantikörler ile çalışılması konusunda anlaşmış ve bazı immünolojik hastalıkların tanısında otoantikörlerin çok önemli klinik belirteçler olduğu konusunda hem fikir olmuşlardır (Chan ve ark, 2007). Nükleer ve sitoplazmik birçok otoantikör karakteristik olup, teşhiste oldukça yararlıdır (Hong ve ark, 2003). Titre ve boyanma şekline dayalı pozitif ANA tarama testini mutlaka ekstrakte edilmiş hücre antijen (ENA) testi takip etmelidir (Damoiseaux ve Tervaert, 2005). Eğer ANA tarama testi negatif çıkarsa, diğer tanımlama testlerinin yapılmasına büyük ölçüde gerek olmayacaktır (Stinton ve Fritzler, 2007).

#### **1.4 Anti-Nükleer Antikörler ve Klinik Önemi**

Anti nükleer antikörler (ANA); hücre çekirdeğindeki yapılara karşı oluşan antikörlere verilen genel isimdir. ANA'lar çoğunlukla sistemik otoimmün hastalıkların teşhisinde kullanılır (Bagnasco ve ark, 2007). ANA testlerinde hücre çekirdeğinin yanı sıra hücre sitoplazmasındaki bazı antijenlere karşı oluşan otoantikörleri de saptamak mümkün olur. Hedef antijenler genelde; hücre yapısında bulunan çeşitli nükleoproteinler, enzimler, doğal ve denatüre olmuş DNA, histonlar, RNA ve ribonükleer proteinler, çözülebilen hücresele reseptörler ve mitoz ile ilişkili

proteinler olabilmektedir. Nükleer antijenik yapılara karşı oluşan otoantikolar genellikle immunglobulin G (IgG) sınıfı antikolardır (Aboyussef, 2004).

Hücrenin çekirdeğinde veya sitoplazmasında bulunan self antijenlere karşı oluşan otoantikolar, indirekt immün floresan (IIF) yöntemi ile tayin edilebilir. Indirekt immün floresan testi ANA'ların rutin tayininde, ilk olarak tanımlandıkları 1954 yılından beri yaygın olarak kullanılmaktadır. Substrat çok değişken olabilmekle birlikte, genelde insan epitelyum hücreleri-2000 (Hep-2) hücreleri kullanılmaktadır ve bu sayede SLE ve Sjögren sendromunun tanısında yüksek duyarlılık elde edilebilir (Hoffman ve ark, 2002). Testte hayvanlara ait (maymun, sıçan, fare gibi) karaciğer, böbrek, mide doku kesitleri substrat olarak kullanılmış olup, günümüzde Hep-2 hücreleri daha yaygın kullanılmaktadır. Hücre siklusunun değişik aşamalarında eksprese olan antijenlere karşı oluşan otoantikolar, bu tip hücre kültürlerinde kolaylıkla saptanabilir (Muro, 2005). ANA IIF yönteminde nükleus ve sitoplazmik otoantikolar, sayısı otuza yakın farklı boyanma modeli gösterir. ANA'lar genelde, hücre çekirdeğinde bulunan protein ve nükleik asitleri hedef almaktadır (Ganapathy ve Casiano, 2003). Bu hücreler düz cam yüzeylere etanol veya asetonla fiske edilir ve bu şekilde inkübasyon sırasında otoantikoların hücre içine girmeleri mümkün olur. Cam yüzeye fiske edilmiş substrat üzerine dilüe edilmiş test serumu eklenir ve inkübasyona süresi boyunca, substrat üzerindeki antijenler ile serum içindeki otoantikoların bağlanması sağlanır. 'Fluorescein IsoThioCyanate (FITC)' ile konjuge ikinci bir antikor (IgG, IgA, IgM gibi) olan konjugat ile bu bağlanma floresan mikroskopta görünür hale getirilir ve değerlendirilir. Indirekt immün floresan boyanma modelleri, değişik antikoların mevcudiyetini göstermektedir. Örneğin; Homojen boyanma tipi; histon, çift zincirli DNA (dsDNA) ve/veya nükleosomlara karşı otoantikoların varlığını gösterir.

İndirekt immün floresan çalışmalarında belli boyanma şekilleri oluşturan bazı antikolar, sistemik otoimmunopatilerin karakteristik özelliğidir. Birçok durumda bu otoantikolar, onlarla ilişkili hastalıklar için ön bir klasifikasyon sağlarlar (Burmester ve Pezzutto, 2006, s.:182). Fritzler (2008), birçok çalışmada, spesifik otoantikoların ön klinik aşamada saptanabildiğini ve otoimmün hastalıkların

oluşmasında gösterge olabileceği ama risk tayininde ve ön klinik taramada şuan için geniş çaplı kullanılmadığını ileri sürmüştür.

Romatolojik hastalıkların tanısında ANA testinin yararlı olduğu bildirilmiştir (Appleby, 2007). Konnektif doku hastalıkları karakteristik otoantikörlerin varlığı ile ilişkilidir (Burmester ve Pezzutto, 2006, s.:182).

Romatolojik hastalıklarda ve sağlıklı insanlarda ANA pozitiflik oranları Çizelge 1.1'de (Kavanaugh ve ark, 2000), otoantikora spesifik ANA (IIF) boyanma modelleri ve hastalıklarla ilişkileri Çizelge 1.2'de gösterilmiştir.

ANA pozitifliğinde kendini gösteren otoantikör varlığı; ELISA, immünblot ve benzeri yöntemlerle teyit edilebilir.

Anti nükleer antikörler, çok çeşitli hastalıklarda ve sağlıklı bireylerde, özellikle ileri yaşlarda tesbit edilebilir. Anti nükleer antikör pozitifliği görebileceğimiz hastalıklar; aktif SLE (%95-100), ilaç ile indüklenmiş SLE (~%100), skleroderma (%60-80), Sjögren sendromu (%40-70), romatoid artrit (%30-50) dir (Kavanaugh ve ark, 2000).

**Çizelge 1.1.** Romatolojik Hastalıklarda ve Sağlıklı Bireylerde ANA Pozitiflik Oranları (Kavanaugh ve ark, 2000)

Hastalık	ANA Pozitiflik Oranı (%)
Tanı için ANA testinin çok yararlı olduğu hastalıklar: SLE Sistemik Sklerozis (Skleroderma)	95-100 60-80
Tanı için ANA testinin bazen yararlı olduğu durumlar: Sjögren sendromu İdyopatik inflamatuvar miyozit (dermatomiyozit veya polimiyozit)	40-70 30-80
Hastalığın takibi ve prognozunda ANA testinin yararlı olduğu durumlar: Üveyitle birlikte olan juvenil kronik oligoartiküler artrit Raynaud fenomeni	20-50 20-60
Pozitif ANA test sonucunun tanı kriterlerinden biri olduğu hastalıklar: İlaca bağlı SLE Otoimmün karaciğer hastalığı Yumuşak bağ dokusu hastalığı	~100 ~100 ~100
Tanı için ANA testinin yararlı olmadığı hastalıklar: Romatoid Artrit Multiple skleroz İdyopatik trombositopenik purpura Tiroid hastalıkları Diskoid lupus İnfeksiyon hastalıkları Maligniteler Silikon meme implantlı hastalar Fibromiyalji	30-50 25 10-30 30-50 5-25 Değişken Değişken 15-25 15-25
Sağlıklı insanlar: ANA Titresi $\geq 1:40$ $\geq 1:80$ $\geq 1:160$ $\geq 1:360$	20-30 10-12 5 3

**Çizelge 1.2.** Otoantikora Spesifik ANA (IIF) Boyanma Modelleri Ve Hastalıklarla İlişkileri (Elkon ve Casali, 2008)

Otoantikör Boyanma Modeli	Hedef Organ veya Antijen	Birlikte Bulunduğu Hastalık
Homojen /Diffüz	dsDNA, Kromatin, histon	SLE, DIL, SSc, NLS
Periferel/rim	Nükleer zar	SLE, APS, AH
Nükleoar	PM/ScI(75 ve 100)Fibrilların (U3-RNP), RNAP I/III, NOR 90 (hUBF)	dcSSc, SLE, PM, RP
Benekli	Sm, RNP, SSA/Ro, SSB/La, PCNA, RNA Polimeraz II, III, U1-RNP Topol, Ku, Mi-2	SLE, SSc, SJS, MCTD, SCLE, NLS
Sentromer	CENP-A, B, C	RP, 1cSSc
Mitotik apparatus	CENP-F, MSA-2, NuMA 1, NuMA 2 (HsEg5)	SLE, SJS
PCNA	PCNA	SLE
Sitoplazmik	Hücre organelleri; Ribozomlar, mitokondri, lisosomlar, Golgi kompleksi, GW cisimleri, tRNA sentetaz, Jo-1, PL-7, PL-12, RibP proteinleri, Po, P1, P2, SRP	PM, DM, SLE, SJS, PBC, SSc

### 1.4.1 ANA IIF Testinde Hücre Çekirdeğinde Gözlenen Boyanma Şekilleri ve Hastalıklar İle İlişkileri

ANA IIF yönteminde hücre çekirdeğinde otoantikorlarla ilişkili çeşitli boyanma şekilleri gözlenebilir (Şekil 1.1).

- Homojen: Histon, dsDNA ve/veya nükleozomlara (histon ve DNA kompleksi) karşı otoantikorların varlığını gösterir (Muro, 2005). Bu boyanma şekli SLE, ilaçla indüklenmiş lupus, romatoid artrit, juvenile kronik artrit ve sistemik skleroz gibi hastalıklarda tespit edilebilir.
- Nükleer Membran: Otoantikorlar, nükleer membrandaki laminlere (A, B1, B2, C) gp120 gibi nükleer pore kompleks integral proteinlerine, laminle birlikte bulunan proteinlere (LAP 1A, LAP 2) karşıdır. Kronik hepatit, vaskülitler, trombositopeni ve SLE gibi miks tip kronik otoimmün hastalıklarda tespit edilirler. (Kavanaugh ve ark, 2000).
- Benekli :
  - I. Büyük Benekli (Nükleer matriks): Otoantikorlar başlıca heterojen nükleer ribonükleoproteinlere (hnRNP) karşı olabilir, SLE, RA ve MCTD gibi hastalıklarda (hnRNP-A1, A2, B2) ve sklerodermada (hnRNP-C1, C2 ve I)
  - II. Kaba Benekli: Sm ve U1-snRNP'e karşı otoantikor varsa gözlenen bir boyanma modeli olup; MCTD ve SLE'de tesbit edilebilir.
  - III. İnce Benekli: Bu boyanmada antikorlar SSA (Ro), SSB (La), RNA Polimeraz II ve III, Ku, Ki ve Mi-2'ye karşı olabilir. SLE, sjögren, skleroderma, myositis ve MCTD gibi hastalıklarda gözlenir.
  - IV. Yoğun İnce Benekli: Antikor, ~75kd'luk lens epitelyum kaynaklı büyüme faktörüne (LEDGF) karşı olup, sağlıklı kişiler, alopecia areatalı ve atopik dermatitli hastalarda görülebilmektedir. (Watanabe ve ark, 2004; Tutkak ve ark, 2008; Okamoto ve ark, 2004; Sugiura ve ark,2007).

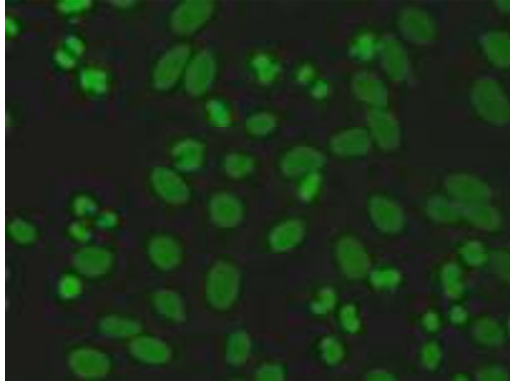
- V. Sentromer: Bu antikolar CENP-B, -A, -C ve daha nadir olarak CENP-D'ye karşıdır. CENP-F antikoları bu boyanma şeklini göstermezler. Sentromer boyama şekli CREST sendromu, primer biliyer siroz, Raynoud's fenomeninde saptanabilir.
- Nükleolar:
    - I. Nükleolar Homojen: Bu boyanma şekli anti Th/To antikoları olarak bilinir ve 40kDa'luk iki küçük ribonükleoproteinlere karşı olduğunda gözlenebilirler. Th/To antikoları sistemik sklerozis, SLE, polimiyozitis ve romatoid artritte saptanabilir.
    - II. Nükleolar Küme: Sistemik sklerozis için yüksek spesifikle hastaların %5'inde ve pulmoner hipertansiyonda görülür.
    - III. Nükleolar Benekli: SLE, RA ve MCTD'de de gözlenen RNA Polimeraz I (RNAP) kompleksine karşı antikoları gösterilebilir.

#### 1.4.2 ANA IIF Testinde Hücre Sitoplazmasında Gözlenen Boyanma Şekilleri ve Hastalıklar İle İlişkileri

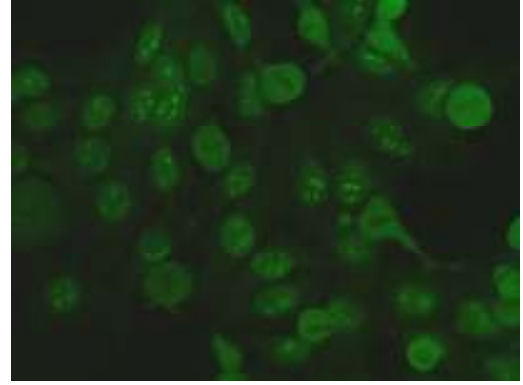
ANA IIF yönteminde hücre sitoplazmasında otoantikolarla ilişkili çeşitli boyanma şekilleri gözlenebilir (Şekil 1.2).

- **Sitoplazmik İnce Benekli:** Aminoaçıl-tRNAsentetazlara (jo-1, PL7, PL12) karşı olup idyopatik (otoimmün) miyozitis (polimiyozit/dermatomiyozit, overlap sendromunda miyozitis, yumuşak bağ dokusu hastalıkları) için diyagnostik belirteçdir. Anti Jo-1 (histidil-tRNA sentetaz) ve anti-EJ (glisil-tRNA sentetaz antikoları klinik miyozit gelişmeden 5 ay önceden tespit edilebilmektedir. (Bizzaro, 2007 ; Sarkar ve Miller, 2004).
- **Sitoplazmik Büyük Benekli:** boyanma sitoplazmaya yayılmış olup lisosomlar ve endosom gibi organellere karşı otoantikoları gösterir.

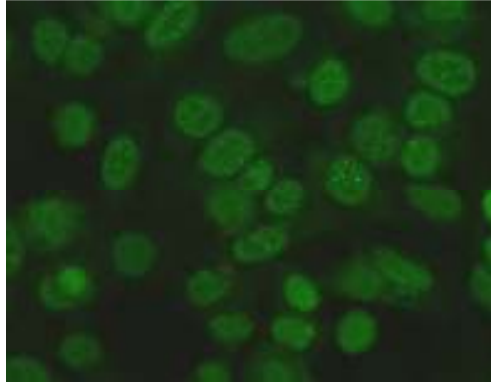
- **Sitoplazmik Kaba Benekli İpliksi (Mitokondri):** Boyanma çoğunlukla M2'ye karşı gözlenir ve primer biliyer karaciğer sirozu, diğer kronik karaciğer hastalıkları, SLE ve sistemik sklerozda görülebilirler.
- **Sitoplazmik Homojen:** Otoantikolar ribozomal P fosfoproteinlerden PO, P1 ve P2'ye karşı ve diğer antijen hedefleri 28S Trna , S10, JA, L12 ve L5/5S'ye karşı oluşurlar. Bazen dsDNA antikolarının yokluğunda SLE'li hastaların %10-20'sinde tesbit edilebilirler.
- **Sitoplazmik Golgi:** SLE,Sjögren sendromu ve diğer kronik romatolojik hastalıklarda saptanabilir. Sitoplazmanın perinükleer bölgesinde düzensiz granüler boyanma ile karakterizedir (Muro, 2005).
- **Sentriol:** Skleroderma, CREST, ve Sjögren sendromu ve diğer otoimmün hastalıklarda saptanabilir.
- **Midbody:** Mitotik hücrelerin midbody kısmında bulunan proteinler olup çoğu halen tam olarak tanımlanamamıştır, bu otoantikolar sistemik skleroz ve Raynaud fenomeninde görülebilmektedir.



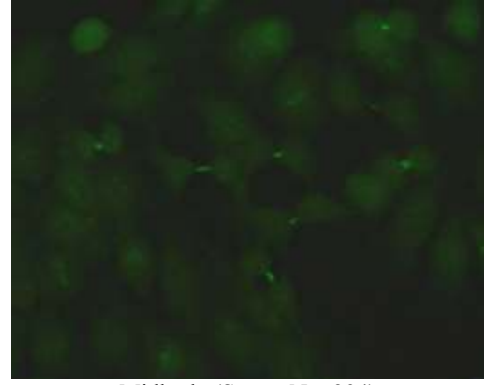
Homojen Boyanma (Serum No: 437)



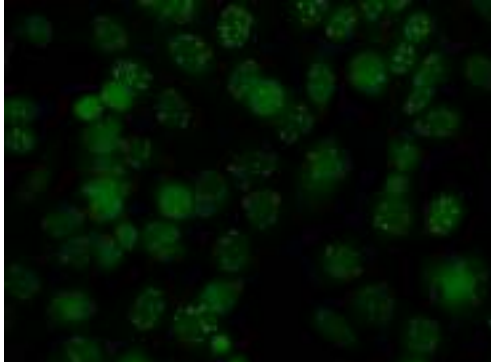
Nükleolar Boyanma (Serum No: 74)



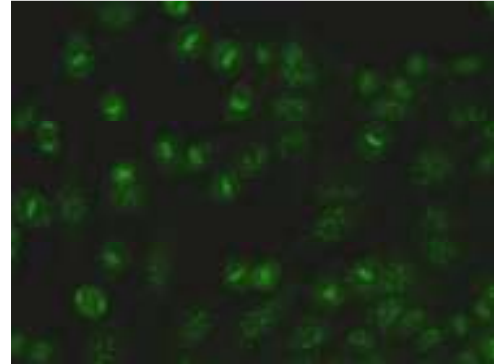
Benekli Boyanma (Serum No: 411)



Midbody (Serum No: 294)

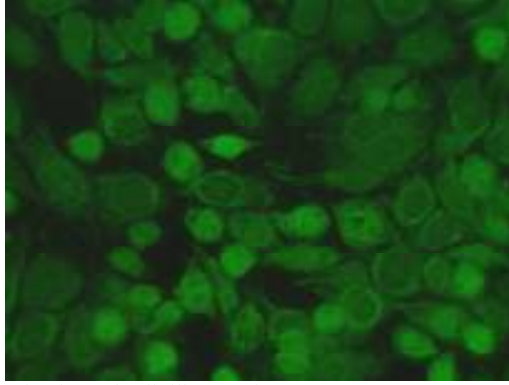


Az Noktalı Boyanma (Serum No: 5)

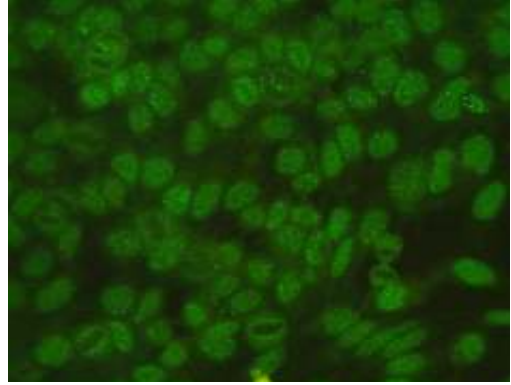


Sentromer (Serum No: 8)

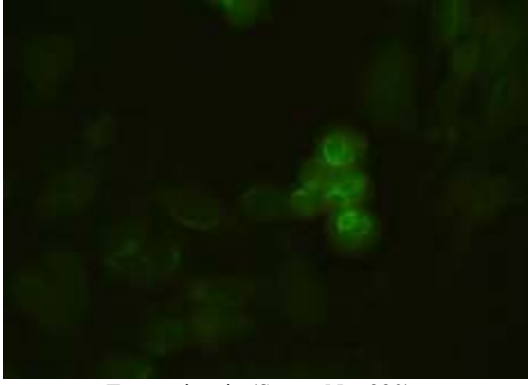
**Şekil 1.1.** ANA IIF (Hep 2010) Pozitif Nükleer Boyanma Gösteren Örnekler



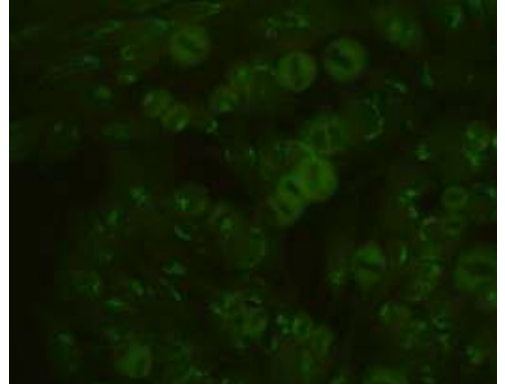
Sitoplazmada Fibriller Tarzda Boyanma (Serum No: 320)



Sitoplazmada Benekli Boyanma (Serum No: 259)



Tropomiyozin (Serum No: 220)

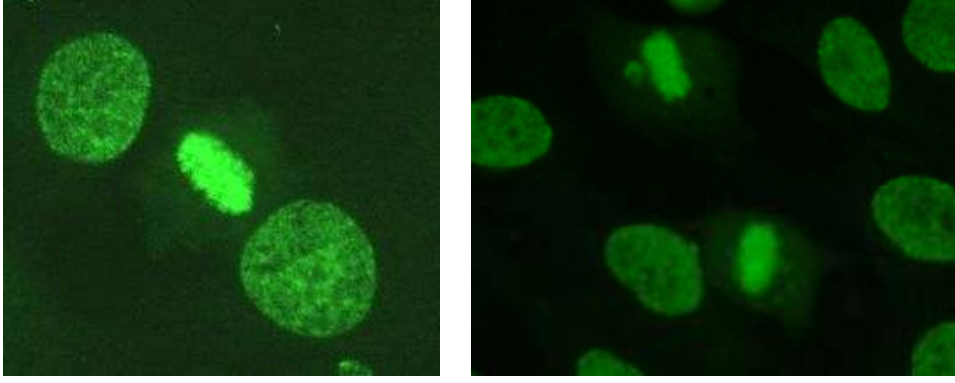


Golgi (Serum No: 122)

**Şekil 1.2.** ANA IIF Pozitif Sitoplazmik Boyanma Örnekleri

### 1.5 LEDGF/ Anti-DFS 70 Otoantikoruna

Anti-DFS70 otoantikorunun oluşturduğu boyanma modeli, ANA IIF tarama testi ile saptanabilmektedir. Boyanma şekli, mitotik hücrelerin kromozomunun ve interfazdaki nükleusun yoğun ince benekli boyanma göstermesi ile karakterizedir (Şekil 1.3). Bu boyanma şekli, belirgin bir şekilde homojen ve yoğun ince benekli boyanma tipinden ayırt edilebilmektedir (Watanabe ve ark, 2004).

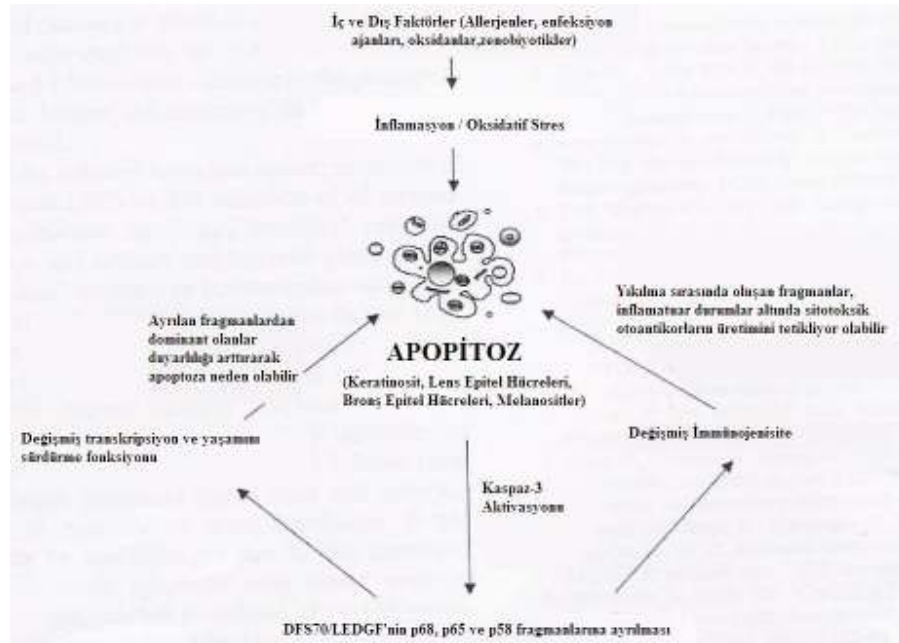


**Şekil 1.3.** Anti DFS-70 Pozitif ANA IIF Görüntüsü

Anti-DFS70, LEDGF (Lens Epithelium-derived growth factor) ve transkripsiyon koaktivatör p75 olarak da adlandırılan, önemli biyolojik fonksiyonları olan, rutin ANA IIF taramasında sıkça saptanan ama aynı zamanda kesin olarak otoimmün hastalıklarla ilişkisi bilinmeyen bir otoantikor olarak tanımlanabilir (Ganapathy ve Casiano, 2003). Muro ve ark.'ları (2008) DFS-70 antijeninin moleküler ağırlığının yaklaşık 70 kDa olduğunu ileri sürerken, Dellavance ve ark.'ları (2005) ise DFS70 pozitif hasta serumları ile yaptıkları blot çalışmasında 75 kDa civarında band oluşumunu göstermişlerdir. LEDGF/DFS 70 proteininden; transkripsiyon aktivatörü, HIV-1 transporter ve strese karşı hücre direncini artırıcı yani hücrenin hayatını kurtarıcı olarak da bahsedilmektedir (Sugiura ve ark, 2007).

Ganapathy ve ark.'ları (2003), Anti-DFS70 otoantikorunun (LEDGF otoantikoru) hedef antijeni için farklı bir hipotez öne sürmüşlerdir. Araştırmalarında cevabını aradıkları soru; normal öz antijenlerin nasıl oluyorda immünojenik özellik kazanıp, kendilerine otoantikor cevabı oluşmasını sağladıkları ve bunu takiben otoimmün hastalıklar oluşmasına neden olduklarıdır. Hipotezlerine göre, hücrelerin ölümü sırasında, hücrenin kendi otoantijenleri modifiye olarak, immünojenik özellik kazanmaktadır. Hücre ölümü sırasında (apoptoz, primer nekroz veya sekonder nekroz) hücre içi öz antijenler fragmanlara ayrılmakta ve bu fragmanlar normal fonksiyonlarını kaybederek, patojenik özellik kazanmaktadır.

Hipoteze göre, memeli hücrelerinin büyümesini destekleyen ve hücrenin ‘yaşamını devam ettirmesini’ sağlayan bir otoantijen olan LEDGF/p75 de apoptoz sırasında kaspaz3 ve kaspaz7 enzimleri fragmanlarına ayrılmakta (p65 ve p58 fragmanları) ve normalde hücre ölümü sırasında oluşan strese karşı hücreleri korurken, oluşturduğu fragmanlarla tam ters etki yapmaktadır. Diğer bir deyişle, LEDGF/p75, apoptoz sırasında fragmanlarına ayrıldığında, oluşan fragmanlar, apoptozu arttırıcı özellik kazanmakta yada dentrik hücreleri tarafından lenfositlere sunulurken bu fragmanlara ve LEDGF/p75’e karşı otoantikor oluşumuna neden olmaktadır.



**Şekil 1.4.** DFS70 Otoantijeninin Apoptoz İle Fragmanlarına Ayrılması Hipotezi (Ganapathy ve ark, 2003).

Hipoteze göre (Şekil 1.4), iç ve dış faktörler nedeniyle (allerjenler, enfeksiyon ajanları, bozulmuş immün sistem vs.) keratinosit, lens epitelyum, bronş epitelyum ve mealonit hücrelerinde apoptoz başlamakta ve oluşan öz antijen fragmanları, ya apoptozu arttırıcı etki etmekte yada immünojenik özellik kazanıp otoantikor üretimine neden olarak yine apoptozu arttırmaktadır.

Bu hipotezi kuran Ganapathy ve ark.'ları (2003), LEDGF antijeninin bir öz antijen olduğunu ve hücrelerin yaşadığı streslere karşı onları koruyucu bir fonksiyonu

olduğunu, bu fonksiyonunu ise stres karşısında, Hsp27, alfaB-crystallin, Hsp90 ve AOP2 gibi proteinleri aktive ederek yaptığını ileri sürmektedirler.

LEDGF/DFS 70 antijeninin ekspresyonunun; endoplazmik retikulum stresi nedeniyle arttığı da ileri sürülmüş ve LEDGF/DFS 70 antijeninin baskın olarak bazal epidermal hücrelerin nükleusunda bulunduğu ve farklılaşma sırasında sitoplazmaya geçtiği de belirtilmiştir (Sugiura ve ark, 2007).

Çizelge 1.3’de DFS 70’in çeşitli hastalıklarda ve sağlıklı bireylerde yapılan çalışmalar, yöntemler ve yüzdeleri verilmiştir (Ganapathy ve Casiano, 2003).

**Çizelge 1.3.** DFS 70 Otoantikoruna İlgili Çeşitli Otoimmün Hastalıklarda Ve Sağlıklı Bireylerde Yapılan Çalışmalar (Ganapathy ve Casiano, 2004)

Kategori	DFS70 pozitif örnek sayısı / Toplam örnek sayısı (%)	Saptama Yöntemi
Atopik dermatit • Ochs ve ark.'ları, 2000 • Ayaki ve ark.'ları, 2002	19/64 (29,7) 15/21 (71,4)	IIF, ImmunBlot ELISA
Atopik dermatit – Katarakt • Ayaki ve ark.'ları, 2002	8/8 (100)	ELISA
Vogt-Harada sendromu • Yamada ve ark.'ları, 2001	24/36 (66,7)	ELISA
Astım • Ochs ve ark.'ları, 2000	8/50 (16)	IIF, ImmunBlot
İnterstisyel Sistit • Ochs ve ark.'ları, 2000	9/13 (8,7)	IIF, ImmunBlot
Sjögren sendromu • Ochs ve ark.'ları, 2000 • Watanaber ve ark.'ları, 2004	2/29 (6,9) 2/30 (6,7)	IIF, ImmunBlot IIF, ImmunBlot
Sedef hastalığı • Ochs ve ark.'ları, 2000	1/22 (4,5)	IIF, ImmunBlot
Kronik yorgunluk sendromu • Ochs ve ark.'ları, 2000	2/60 (3,3)	IIF, ImmunBlot
Skleroderma • Ochs ve ark.'ları, 2000 • Watanaber ve ark.'ları, 2004	1/40 (2,5) 0/50 (0)	IIF, ImmunBlot IIF, ImmunBlot
Sistemik Lupus Eritematozus • Ochs ve ark.'ları, 2000 • Watanabe ve ark.'ları, 2004	0/36 (0) 1/55 (2)	IIF, ImmunBlot IIF, ImmunBlot
Romatoid Artrit • Ochs ve ark.'ları, 2000 • Watanabe ve ark.'ları, 2004	0/30 (0) 0/40 (0)	IIF, ImmunBlot IIF, ImmunBlot
Polimiyozit/ Dermamiyozit • Watanabe ve ark.'ları, 2004	0/25 (0)	IIF, ImmunBlot
Sağlıklı Kontroller • Ochs ve ark.'ları, 2000 • Yamada ve ark.'ları, 2001 • Watanabe ve ark.'ları, 2004	0/39 (0) 8/37 (21,6) 64/597 (11)	IIF, ImmunBlot ELISA IIF, ImmunBlot, ELISA
Kan Bankası Donörleri • Ayaki ve ark.'ları, 2002	35/650 (5,4)	ELISA

DFS70/LEDGF/p75 antijeninin, prostat tümör dokularında fazla miktarda eksprese edildiği gösterilmiştir (Muro ve ark, 2008) Bunlara ek olarak, Kazumitsu ve ark'ları (2007) Atopik Dermatit (AD)'li hastalardaki Anti-DFS-70 oranını %30 olarak verirken, Sugiura ve ark'ları (2007), AD'li hastalarda, LEDGF/DFS 70 antijeninin, nükleer bir öz antijen olduğunu ve keratohiyalin granüllerinde fonksiyonel bir rolü olduğu fikrini ortaya atmışlardır.

DFS-70 antikorunun erkeklere göre kadınlarda daha sık rastlandığı görülmüştür. Cinsiyet farklılığında, salgılanan hormonların etkili olduğu düşünülmektedir (Ochs ve ark, 2000).

Antijenik yapının lokalizasyonundan daha önemli olan nokta ise bu antijene karşı oluşan otoantikorun klinik önem taşıyıp taşımadığıdır. Anti DFS-70 otoantikorunun doğal bir otoantikor olduğu ve sağlıklı bireylerde hiçbir antijen uyarımı olmaksızın bulunduğu da ileri sürülmüştür (Watanabe ve ark, 2004). Watanabe ve ark.'ları (2004), DFS-70 antijeninin timusta, diğer dokulardan fazla eksprese edildiğini de belirtmişlerdir.

Şimdiye kadar Anti-DFS-70 otoantikoru farklı hasta gruplarında çalışılmıştır. Anti-DFS-70 otoantikorunun en yüksek prevalansının Atopik dermatit (AD)'li Japon hastalarda olduğu ortaya konmuştur ve oranı %30,0 olarak belirtilmiştir ikinci en yüksek prevalansın ABD'li astım vakalarında; %16,0 bunun yanı sıra yine ABD'li İnterstitiel sistit hastalarında bu oranın %8,7 olduğunu ifade etmişlerdir (Watanabe ve ark, 2004). ABD'li sağlıklı bireylerde yapılan çalışmalarda DFS-70 otoantikorunun oranını %0-2,5 arasında vermişlerdir (Watanabe ve ark, 2004). 650 sağlıklı kan donörü ile yapılan çalışmada ise Anti-DFS70 antikorunun prevalansı %5,4 olarak saptanmıştır (Watanabe ve ark, 2004).

Anti-DFS70 otoantikorunun, AD hastalarının, yaklaşık %30'un da bulunması, bu otoantikorun, AD'li hastalarda baskın bir otoantikor olduğunu düşündürmüştür (Sugiura ve ark, 2007).

Atopik dermatitli hastalarda ki Anti-DFS70 otoantikorunun oranının, astım ve interstiel sistit hastalarinkinden daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır (Muro ve ark, 2006). Anti DFS 70 otoantikoru, diğer bir deyişle Anti-LEDGF, yaşa bağlı katarakt ve Vogt Kayanagi Harada hastalıklarında da saptanmıştır (Okamoto ve ark, 2004). Alopecia Areta (AA)'lı hastalarda yaptıkları çalışmalar sonucunda da, artan sıklıktaki Anti DFS-70 antikorunun varlığının bu hastalığın etiyolojisi ile ilişkili olduğu göstermiş ve AA'lı hastalarda DFS-70 antikorunun pozitiflik oranı %20 olarak saptamıştır (Okamoto ve ark, 2004).

Sağlıklı bireylerde de, herhangi bir hastalık belirtisi olmaksızın ANA pozitifliği görülebildiği ve bu durumun ANA pozitifliğinin anlamı açısından soru işareti bıraktığı vurgulanabilir (Muro ve ark, 2006). Muro ve ark.'larının (2008) yaptığı araştırma sonucunda, sağlıklı bireylerin %10'un da Anti-DFS70 antikoru saptanırken, otoimmün romatolojik hastalıklı bireylerin çok düşük bir yüzdesinde saptanması, bu otoantikoron belki de, o bireyin romatolojik hastalığa sahip olmadığını gösteren bir belirteç olduğunu ve hatta bu otoantikoron otoimmün romatolojik hastalıklara işaret etmemekle beraber, herhangi bir hastalık ile de ilişkisinin olmayabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Araştırmamızın amacı, DFS-70 otoantikoronu, sağlıklı Türk toplumunda ve bazı romatolojik hastalıklarda oranını saptamaktır. Bu amaçla, kan merkezinden seçilen sağlıklı bireylerde ve çeşitli otoimmün hastalıklarda (SLE, Skleroderma ve Romatoid artrit) Anti-DFS70 otoantikoru ve diğer anti nükleer antikorlar IIF yöntemiyle araştırıldı. Elde edilen verilerin sadece DFS-70 otoantikoruyla ilgili değil, tüm ANA IIF boyanma tipleri açısından, ileride yapılacak diğer çalışmalara ışık tutacağına inanmaktayız.

## **2 GEREÇ ve YÖNTEM**

### **2.1 Gereç**

#### **2.1.1 Kontrol Grubu Serum Örneklerinin Toplanması ve Saklanması**

Araştırmamızda kullanılan insan serum örnekleri, Ankara Üniversitesi İbn-i Sina Hastanesi Kan Merkezi ve Ankara Üniversitesi Cebeci Kan Merkezine yapılan kan bağışlarından, yaş ve cinsiyet farkı gözetmeksizin rastgele, hepatit grupları negatif olan kan donör serumları kullanılmıştır. Ankara İbn-i Sina Hastanesi kan merkezinden, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarına HbsAg, Anti HCV ve HIV Ag/Ab testleri için gönderilen örneklerden, HbsAg, Anti HCV ve HIV Ag/Ab testleri negatif bulunan serum örnekleri çalışmamızda kullanılmıştır. Her bir serum örneğinden yaklaşık 300 mikrolitre çalışmamız için ependorf tüplerine ayrılmış ve çalışma gününe kadar -20 °C derin dondurucuda saklanmıştır.

#### **2.1.2 SLE, RA ve Skleroderma Hasta Grupları**

Bu çalışma için 67 SLE'li, 31 RA'lı ve 18 Skleroderma'lı hasta grubu oluşturulmuştur. SLE'li 67 birey; artrit, nörolojik bozukluk, ışığa karşı duyarlılık, disk şeklinde kızarıklık gibi tanı kriterlerine göre tanı konmuş bireyleridir (Tan ve ark, 1982). 31 RA'lı birey; serumda romatoid faktör bulunması, romatoid nodüller ve el eklemlerinde iltihap bulunması vs. gibi tanı kriterlerine göre tanı konmuş bireylerdir (Pincus ve ark, 1994). 18 Skleroderma'lı birey; deride sertleşme, serolojik ve deri dışı bulgular vs. gibi tanı kriterlerine göre tanı konmuş bireylerdir (Leroy ve ark, 1988).

### 2.1.3 Çalışmada Kullanılan Laboratuvar Gereçleri

Çalışmada kullanılan laboratuvar gereçleri; derin dondurucu (Bosch marka, -20 °C'lik), floresan mikroskop (EuroStar II, Zeiss marka, Almanya), santrifüj (Hettich marka), karıştırıcı (FALC INS. Mix 20 marka), 10-100 µl ve 100-1000µl'lik ayarlanabilir otomatik pipetler (HTL marka), çalkalayıcı (BIOSAN Mini Rocker marka), Arçelik marka buzdolabıdır.

Tez metni boyunca sunulan tüm ANA IIF ve Hep-2 WB fotoğrafları, Zeiss marka floresan mikroskopta değerlendirilmiş ve Lumunera marka kamera ile fotoğrafları çekilmiştir.

Çalışmada kullanılan kitler;

1. ANA IIF kiti (EUROIMMUN, ALMANYA)
2. Anti-Hep-2 WesternBlot kiti (EUROIMMUN, ALMANYA)dir ve bu kitler bedelsiz olarak EUROIMMUN AG firması tarafından sağlanmıştır.

## 2.2 Yöntem

### 2.2.1 İndirekt İmmün Floresan (IIF) Yönteminin Uygulanması ve Prensibi

IIF testi vücut dışı bir test tekniği olup, hücre çekirdeğinde ve hücre sitoplazmasında bulunan antijenik yapılara karşı oluşmuş otoantikörlerin tayin yöntemidir. Tayin yönteminin sonuçları hem kalitatif hemde yarı kantitatif olarak saptanabilmektedir.

Prensip: Serum inkübasyonu sırasında, hasta serumunda var olan antikörler, slayt üzerindeki doku kesitlerinde veya fiske edilmiş hücrelerde bulunan ilgili antijenlere bağlanırlar. İnkübasyonu takiben gerçekleştirilen yıkama aşamasında bağlanmayan antikörler ve serum içeriği ortamdan uzaklaştırılır. Yıkama aşamasını takiben, ikinci kat, FITC ile konjuge antikör olan Anti-IgG antikörleriyle aynı doku alanları inkübe edilir. İlk inkübasyonda test serumundaki antikörler antijenlere bağlandı ise, bağlanan antikora ikinci kat işaretli antikör de bağlanacaktır. Eğer ilk inkübasyonda antijen-antikör bağlanması gerçekleşmediyse, yani hasta serumunda ilgili antikörler yok ise, konjugat inkübasyonunda herhangi bir bağlanma olmayacaktır. Konjugat inkübasyonunu takiben slaytın yıkama işlemi tekrarlanır ve bağlanmamış fazla IgG konjugat slayt üzerinden uzaklaştırılır. Yıkama aşamasını takiben kit içeriğinde bulunan 'embedding medium' (kapatma medyumu) ile slaytların üzerinde lameller kapatılır ve floresan mikroskopta değerlendirme yapılır.

Floresan ANA IIF testinin çalışılması:

1. ANA IIF kiti, +4 °C'lik buzdolabından ve çalışılacak serum örnekleri -20 °C'lik derin dondurucudan en az 40 dakika önceden, oda sıcaklığına ulaşması için çıkartıldı. ANA IIF kit içeriğinde bulunan ve test aşamasında kullanılacak tüm içerik daha hızlı oda sıcaklığına ulaşması için kutusundan dışarı çıkarıldı.

2. Oda sıcaklığına ulaşan serum örnekleri, yaklaşık 4 sn. süre ile iyice vortekslenerek karıştırıldı.
3. Kit içeriğinde bulunan PBS (Fosfat Tuz Tamponu) (pH 7.2), 1L distile su içerisinde çalkalanarak iyice karıştırıldı.
4. Elde edilen PBS çözeltisine yine kit içeriğinde bulunan 1 tüp Tween 20 solüsyonu eklendi. Tween 20'nin bu karışım içinde homojen dağılılabilmesi için karışım kabı yavaşça altüst edildi. Tween 20 deterjan yapısında bir solüsyon olup hızlı çalkalamalarda köpürmeye sebep olmaktadır, bu sebeple karıştırma işlemi yavaşça yapıldı. Hazırlanmış olan PBS-Tween 20 karışımı bu test çalışmasında, serum dilüsyonu ve yıkama aşamalarında kullanılacak ortak karışımdır.
5. Hasta listesi hazırlandı ve dilüsyon tüpleri numaralandırıldı. Üretici firmanında önerdiği gibi başlangıç dilüsyonu 1:100 olmak üzere serum dilüsyonu yapıldı. 1:100 dilüsyon oranı elde etmek için 10 mikrolitre serum örneği 990 mikrolitre PBS-Tween 20 karışımı içeren polistiren tüpe eklendi.
6. Dilüe edilen serum örnekleri tekrar yaklaşık 4 sn vortekslendi.
7. Dilüe edilen serum örneklerinden alınan 25 mikrolitre, inkübasyon tepsisi olarak adlandırılan numaralı hasta alanlarına sırası ile pipetlendi. Hücre ve doku içeren slaytlar bu inkübasyon tepsilerinin üzerine kapatılarak, serum inkübasyonu başlatıldı.
8. İnkübasyon, oda sıcaklığında, direkt güneş ışığından uzak bir şekilde 30 dakikada tamamlandı.
9. 30 dakikalık serum inkübasyonu tamamlandıktan sonra slaytlar, PBS-Tween 20 karışımı ile doldurulmuş yıkama küvetlerine kondu. Bu küvetlere konmadan önce slaytların üzerinden küçük bir beherle bir miktar PBS-Tween 20 karışımı döküldü ve slaytlar hemen yıkama küvetine konuldu. Her bir yıkama küvetine maksimum 4 slayt konarak yıkama yapıldı
10. Yıkama küvetinde 5 dakika tutulan slaytlar, bu süre sonunda yeni bir yıkama küvetine aktarılarak 5 dakika daha yıkandı.
11. Bu aşamada yeni inkübasyon tepsileri hazırlandı. Hasta sayısı kadar alana bu defa kullanıma hazır IgG konjugat (20 mikrolitre) pipetlendi.

12. Slaytların sadece arka yüzeyi silinerek konjugat pipetlenmiş inkübasyon tepsilerinin üzerine kapatıldı ve 30 dakika inkübe edildi. Inkübasyon direkt güneş ışığı almayan bir ortamda gerçekleştirildi.
13. 30 dakikalık konjugat inkübasyonu tamamlandıktan sonra slaytlar, PBS-Tween 20 karışımı ile doldurulmuş yıkama küvetlerine kondu. Bu küvetlere konmadan önce slaytların üzerinden küçük bir beherle bir miktar PBS-Tween 20 karışımı döküldü ve slaytlar hemen yıkama küvetine kondu. Her bir yıkama küvetine maksimum 4 slayt konarak yıkama yapıldı. Yıkama işlemi sürerken, kit içeriğinde bulunan lameller, inkübasyon tepsilerinin altında bulunan köpük alana yerleştirildi ve her bir hasta alanına denk gelecek şekilde kırmızı mercimek tanesi büyüklüğünde, yine kit içeriğinde bulunan kapatma medyumunu (embedding medium) damlatıldı.
14. Yıkama işlemi bittikten sonra slaytların sadece arka yüzeyi silindi ve lamellerin üzerine kapatıldı.
15. Slaytlar, bu şekilde mikroskopik değerlendirmeye hazırlandı.

### 2.2.2 Floresan Mikroskop Değerlendirmesi

ANA'lara karşı oluşmuş otoantikokların değerlendirilmesinde Zeiss marka floresan mikroskop kullanıldı. Mikroskopik değerlendirmede 20x ve 40x objektifler kullanıldı.

IIF alışma tekniği ile inkübe edilmiş slaytlar mikroskopta gösterdikleri boyanma Şekilleri açısından değerlendirildi. ANA negatif örneklerde hücrelerin nükleusunda ve sitoplazmasında belirgin floresan gözlenmez. Pozitif örneklerde ise hücre çekirdeğine ve sitoplazmasına karşı oluşmuş otoantikoklar, IIF testi sonucunda çok çeşitli ve hatta bazı otoantikoklar için karakteristik boyanma Şekilleri gözlenir.

Hücre ekirdeği ve sitoplazmasında oluşan boyanma Şekillerinin değerlendirmesinde Hep-20-10 hücrelerinin bulunduğu alan kullanılmıştır. Maymun karaciğerine ait ikinci doku alanında ise ek değerlendirme ve karşılaştırma yapılmıştır.

Hep-2 IIF testinde, Hep-20-10 hücrelerinin yanı sıra, ikinci bir doku olan maymun karaciğerinin bulunmasının sebebi; Hep-20-10 hücrelerinin olduğu alandaki boyanma Şekillerinin konfirmasyonunu yapabilmek ve varsa farklı bir boyanma Şeklini (otoantikokun varlığını) saptayabilmektir.

Mikroskop değerlendirilmesi ile elde edilen sonuçlar hasta listesine kaydedildi.

Pozitiflikler, floresan Őiddetine göre sınıflandırıldı. Artan floresan Şiddeti, bahsi geçen otoantikokun konsantrasyonunun yüksek olduğunu göstermektedir.

Dilüsyonlar ve floresan şiddeti ilişkisi;

- 1/40; (+) zayıf pozitif
- 1/100; +
- 1/320; ++
- 1/1000; +++
- 1/3200; ++++ olacak şekilde değerlendirme yapıldı.

### 2.2.3 Hep-2 WesternBlot (WB) Test Yönteminin Uygulanması ve Prensibi

Prensip: Westernblot test yöntemi ile, insan serum veya plazmasında insan Hep-2 hücrelerine karşı oluşmuş otoantikörleri kalitatif olarak saptanabilir. Test içeriğinde bulunan stripler üzerinde, Hep-2 hücre ekstraktı elektroforetik olarak yürütülmüş ve böylece molekül ağırlığına göre ayrılmıştır. Her stripin sonunda eklenmiş; rekombinant CENP B, doğal SS-A (60 kDa), ve rekombinant Ro-52 antijenlerini de bulundurur.

Serum inkübasyonu sırasında, hasta serumunda bulunan antikor, strip üzerindeki ilgili antijen ile bağlanır. Serum inkübasyonunu takiben yapılacak yıkama işlemi ile bağlanmayan serum içeriği uzaklaştırılır. Serum inkübasyonunda gerçekleşen bağlanmayı görünür kılmak için enzim bağlı IgG konjugat ile stripler muamele edilir. İkinci kat antikor olan konjugat antijen-otoantikör çiftine bağlandıktan sonra yıkama işlemi yapılır ve fazla, bağlanmamış konjugat ortamdaki uzaklaştırılır. Bu aşamadan sonra stripler substrat solüsyonu ile muamele edilir. Substrat solüsyonu, enzim bağlı konjugat ile ürüne dönüştürme kimyasal reaksiyonunu başlatır ve strip üzerinde, hastanın hangi antijene karşı otoantikörü olduğunu kanıtlayacak bant oluşturur.

Hep-2 WesternBlot test çalışması :

1. Tüm kit içeriği ve hasta serumları, çalışmaya başlamadan 40 dakika önce oda sıcaklığına ulaşması için derin dondurucu ve buzdolabından çıkartıldı.

2. Hep-2 WesternBlot kitinin içeriğinde bulunan tampon solüsyonu konsantre haldedir ve çalışmaya başlamadan önce çalışılacak örnek sayısına göre gerekli hacim her bir hasta için; 1,5 ml universal tampon üzerine 13,5 ml distile su olacak şekilde hesaplanarak seyreltildi. Seyreltilip hazırlanan bu tampon solüsyonu, striplerin ön ıslatma aşamasında, striplerin yıkama basamaklarında ve serum örneklerinin 1:51 oranında ki dilüsyonunda kullanıldı. Konsantre halindeki bu tampon distile su ile dilüe edildi. Her bir hasta için; 1,5ml universal tampon, 13,5ml distile su karıştırıldı. Hazırlanan bu karışım, aynı gün içinde kullanıldı.
3. Hep-2 WesternBlot kitinin içeriğinde bulunan IgG konjugat konsantre haldedir ve çalışmaya başlamadan önce çalışılacak örnek sayısına göre gerekli hacim hesaplanarak seyreltildi. Seyreltilip hazırlanan bu konjugat, testte ikinci kat antikör olarak kullanıldı. Konsantre haldeki IgG konjugat, 1 test için, 0,15ml konsantre konjugat üzerine, 1,35ml dilüe edilmiş tampon solüsyonu eklenerek hazırlandı. Hazırlanan bu karışım, aynı gün içinde kullanıldı.
4. Hep-2 WesternBlot kiti içerisinde bulunan substrat solüsyonu kullanıma hazır. Bu substrat solüsyonunun içeriği NBT/BCIP olarak belirtilmiştir.
5. Oda sıcaklığına ulaşmış stripler, kit içeriğinden çıkan inkübasyon kanallarına konuldu. Her kanal 1 hasta içindir ve tek kullanımlıktır. Kanallara yerleştirilen striplerin üzerine 1,5ml hazırlanan dilüe tampon konuldu ve çalkalayıcı üzerinde 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu aşamada stripler ıslatıldı.
6. 15 dakikalık süre sonunda kanaldaki sıvı aspire edildi ve 1:51 oranında dilüe edilmiş serum örnekleri 1,5 ml olarak kanallara aktarıldı. Serum dilüsyonu yine en başta hazırlanmış olan dilüe tampon ile yapıldı.
7. 1 saat çalkalayıcı üzerinde inkübe edildi.
8. Serum inkübasyonunun bitmesini takiben, inkübasyon kanallarından sıvılar aspire edildi ve hazırlanan dilüe tampon ile yıkama yapıldı. Her bir kanala 1,5 ml dilüe tampon eklendi ve bağlanmamış serum içeriğinin ortamdaki uzaklaştırılması sağlandı. Yıkama işlemi üç defa 1,5ml dilüe tampon ile yapıldı. Her 5 dakikanın sonunda kanallardan sıvı aspire edildi ve yeni

tampon solüsyonu eklendi. Yıkama işlemi, çalkalayıcı üzerinde, 3 kere 5'er dakika olarak tekrarlandı.

9. Yıkama işlemi bittikten sonra önceden hazırlanmış 1,5ml dilüe konjugat, her bir kanala eklendi. 1 saat çalkalayıcıda inkübe edildi.
10. Konjugat inkübasyonu sonrasında yıkama işlemi yukarıda anlatıldığı gibi aynen tekrarlandı.
11. Yıkama işlemi sonrası kullanıma hazır substrat kanallara eklendi ve 10 dakika çalkalayıcı üzerinde inkübe edildi. Bu aşamadan sonra stripler üzerinde kontrol bandı oluşmalıdır. Hasta pozitif sonuç var ise bunlar içinde bantlar ortaya çıkacaktır.
12. Substrat inkübasyonu tamamlandıktan sonra, sıvı kanallardan uzaklaştırıldı ve 3 kere 1'er dakika olmak üzere distile su ile yıkama yapıldı.
13. Son 1 dakikalık yıkamadan sonra stripler üretici firmanın değerlendirme kağıdına yapıştırılarak değerlendirme kağıdı kullanılarak değerlendirildi.

### **2.3 İstatiksel Analiz**

Kontrol grubu ve hasta grupları arasında yüzde oranlar karşılaştırılırken Ki-Kare testi yapıldı. Gruplar arasında ortalamalar karşılaştırılırken ise dağılım normal olmadığı için Mann-Whitney testi ile karşılaştırma yapıldı.

### 3 BULGULAR

#### 3.1 Kontrol Grubu Anti Nükleer Antikorlar (ANA) IIF Sonuçları

Yaptığımız araştırmaya kan donörlerinin oluşturduğu 536 sağlıklı birey alındı. Bu grupta indirekt immün floresan yöntemi ile ANA testi çalışıldı. Sonuçlar, boyanma tipleri açısından sınıflandırıldı. Araştırmamızın temel amacını oluşturan DFS-70 otoantikoru, 4'ü erkek, 6'sı kadın olmak üzere toplamda 10 sağlıklı bireyde saptandı.

Kontrol grubunun; 264'ü kadın (%49,2), 272'si erkek (%50,7) bireyden oluşturuldu. Çizelge 3.1'de Kadın-Erkek yaş dağılımı gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Kontrol Grubu Kadın-Erkek Yaş Dağılımı ve ANA IIF Pozitiflik Yüzdeleri.

Cinsiyet	n (Birey Sayısı)	Yaş Aralığı	Yaş Ortalaması	1/100 dilüsyon ve üzeri ANA Pozitifliği, (n, %)
Kadın	264	16-65	32,8	35, %13,2
Erkek	272	19-55	34,6	36, %13,2

Kontrol grubunu oluşturan 536 kişide; 1/100 dilüsyonda 71 kişide (%13,2) ANA pozitif bulundu. 1/40 dilüsyonda ise 72 kişide (%13,4) ANA zayıf pozitif olarak değerlendirildi. ANA IIF değerlendirilmesinin sonucunda ortaya çıkan boyanma şekilleri ve titrelerine ait bilgiler, Çizelge 3.2'de ve boyanma şekillerinin dağılımı ise Çizelge 3.3'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Sağlıklı Kontrol Grubunun (n= 536) Titrelere Göre Boyanma Tipleri ve Yüzdeleri.

Dilüsyon Oranı	Nükleer Boyanma Modeli (n=132)											Sitoplazmik Boyanma Modeli (n=66)						
	DFS-70	Homojen	Nükleolar	Benekli	Midbody	Sentriol	İçik şekilli	Az Noktalı	Nükleer Matris	Mitotik benek	NMP	Toplam	Golgi	Fibriller	Homojen	Atipik	Benek	Toplam
1/40	n	3	3	23	31	10	-	1	-	-	2	73	2	10	4	-	18	34
	%	0,5	0,5	4,3	5,8	1,8	-	0,2	-	-	0,4	13,6	0,4	1,9	0,7	-	3,3	6,3
1/100	n	4	4	11	14	3	1	1	1	5	1	46	1	9	1	5	9	25
	%	0,7	0,7	2,1	2,6	0,5	0,2	0,2	0,2	0,9	0,2	8,5	0,2	1,8	0,2	0,9	1,8	4,6
1/320	n	3	-	3	3	-	-	-	-	-	-	10	-	2	-	-	1	3
	%	0,5	-	0,5	0,5	-	-	-	-	-	-	1,9	-	0,4	-	-	0,2	0,5
1/1000	n	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	3	-	3	-	-	1	4
	%	-	0,2	0,2	0,2	-	-	-	-	-	-	0,5	-	0,5	-	-	0,2	0,7

DFS70: Dense fine speckled 70 (yoğun ince benekli boyanma), NMP: Nükleer Membran proteini

**Çizelge 3.3.** Sağlıklı Kontrol Grubunun (n=536) 1/100 ve Üzeri Dilüsyonda ANA IIF Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri.

	Nükleer Boyanma Modeli (n=59)											Sitoplazmik Boyanma Modeli (n=32)				
	DFS-70	Homojen	Nükleolar	Benekli	Midbody	Sentriol	İçcik şekil	Az Noktalı	Nükleer Matris	Mitotik benek	NMP	Golgi	Fibriller	Homojen	Atipik	Benek
Kadın n= 264	n	3	11	11	1	-	-	-	-	-	1	-	7	1	-	7
	%	1,1	4,1	4,1	0,4	-	-	-	-	-	0,4	-	2,6	0,4	-	2,6
Erkek n= 272	n	2	4	7	2	1	1	2	1	5	-	1	7	-	5	4
	%	0,7	1,5	2,6	0,7	0,4	0,4	0,7	0,4	1,8	-	0,4	2,6	-	1,8	1,5
Toplam n = 536	n	5	15	18	3	1	1	2	1	5	1	1	14	1	5	11
IIF Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu içinde %'si	%	0,9	2,8	3,3	0,5	0,2	0,2	0,4	0,2	0,9	0,2	0,2	2,6	0,2	0,9	2,0

DFS70: Dense Fine Speckled 70, NMP: Nükleer Membran Proteini

Çizelge 3.4’de DFS70 otoantikörünün sağlıklı bireylerde ve hasta gruplarındaki oranlarını gösterilmiştir.

**Çizelge 3.4.** DFS70 Boyanma Tipinin Kontrol ve Hastalık Gruplarında Dağılımı.

		DFS70		
		Negatif	Pozitif	Toplam
<b>Kontrol</b>	n	526	10	536
	Grup içi %	%98,1	%1,9	%100
<b>RA</b>	n	31	0	31
	Grup içi %	%100	%0 (p=1, p>0,05)	%100
<b>SLE</b>	n	67	0	67
	Grup içi %	%100	%0 (p=0,61, p>0,05)	%100
<b>Sikloroderma</b>	n	18	0	18
	Grup içi %	%100	%0 (p=1, p>0,05)	%100

1/40 ve üzeri dilüsyonda pozitif kontrol grubu örneklerinin ANA IIF sonuçları incelendiğinde en sık görülen boyanma şekli sırasıyla; 49 bireyde (%9,14) benekli tarzda boyanma, 38 bireyde (%7,1) nükleolar ve 29 bireyde (%5,4) sitoplazma benekli boyanma olduğu görülmüştür. Kadın ve erkek bireyler arasında çoğu boyanma şeklinin uyumlu sonuç verdiğini ve sadece sitoplazma benekli boyanma tipinin kadınlarda çok daha sık görüldüğünü söyleyebiliriz. Sitoplazma benekli boyanma şekli, 24 kadın (%9,1) ve 5 erkek (%1,8) bireyde sadece 5’i (%1,8) gözlenmiştir.

Hastalık grupları (SLE, RA ve skleroderma) ve kontrol grubu karşılaştırıldığında dikkati çeken bir nokta, her grupta en sık rastlanılan boyanma tipi benekli tarz boyanma olmuştur. Kontrol grubu ile RA, SLE ve Skleroderma’lı hasta gruplarında, benekli tarzda boyanma tipi açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0, p<0,05) ve Çizelge 3.5’de yüzdeler ayrıntılı olarak verilmiştir.

**Çizelge 3.5.** Benekli Boyanma Tipinin Kontrol ve Hastalık Gruplarında Dağılımı.

		Benekli Tarzda Boyanma		
		Negatif	Pozitif	Toplam
<b>Kontrol</b>	n	487	49	536
	Grup içi %	90,9%	9,1%	100,0%
<b>RA</b>	n	12	19	30
	Grup içi %	36,7%	63,3% (p=0, p<0,05)	100,0%
<b>SLE</b>	n	24	41	65
	Grup içi %	36,9%	63,1% (p=0, p<0,05)	100,0%
<b>Sikloroderma</b>	n	9	9	18
	Grup içi %	50,0%	50,0% (p=0, p<0,05)	100,0%

Kontrol grubunda ikinci sırada en sık tespit edilen boyanma şekli nükleolar boyanmadır. Nükleolar boyanma şekli açısından kontrol grubu ve hasta grupları istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve anlamlı bir farklılık saptanmıştır (p=0, p<0,005). Nükleolar boyanma şekli, hasta gruplarında daha yüksek oranda pozitiflik vermiştir. Çizelge 3.6’da bu oran farklılığı gösterilmiştir.

**Çizelge 3.6.** Nükleolar Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve Hastalık Gruplarının Toplamı İle Karşılaştırması.

		Nükleolar Boyanma Şekli		
		Negatif	Pozitif	Toplam
<b>Kontrol grubu</b>	n	499	37	536
	grup içi %	93,1%	6,9%	100,0%
<b>SLE,RA,Skleroderma</b>	n	85	31	116
	grup içi %	73,3%	26,7% (p=0, p<0,05)	100,0%

Kontrol grubunda üçüncü sırada en sık rastlanılan boyanma şekli sitoplazma benekli boyanmadır. Sitoplazma benekli boyanma şekli açısından kontrol grubu ve hasta grupları istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve anlamlı bir farklılık saptanmıştır (p=0, p<0,005). Sitoplazma benekli tarzda boyanma, hasta gruplarında daha yüksek oranda saptanmıştır. Çizelge 3.7’de bu oran farklılığı gösterilmiştir.

**Çizelge 3.7.** Sitoplazma Benekli Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve Hasta Grupları Açısında Yüzdeleri.

		Sitoplazmik Benek		
		Negatif	Pozitif	Toplam
<b>Kontrol grubu</b>	N	506	29	535
	Grup içi %	94,6%	5,4%	100,0%
<b>RA</b>	n	19	12	31
	Grup içi %	61,3%	38,7% (p=0, p<0,05)	100,0%
<b>SLE</b>	n	40	27	67
	Grup içi %	59,7%	40,3% (p=0, p<0,05)	100,0%
<b>Sikloroderma</b>	n	12	6	18
	Grup içi %	66,7%	33,3% (p=0, p<0,05)	100,0%

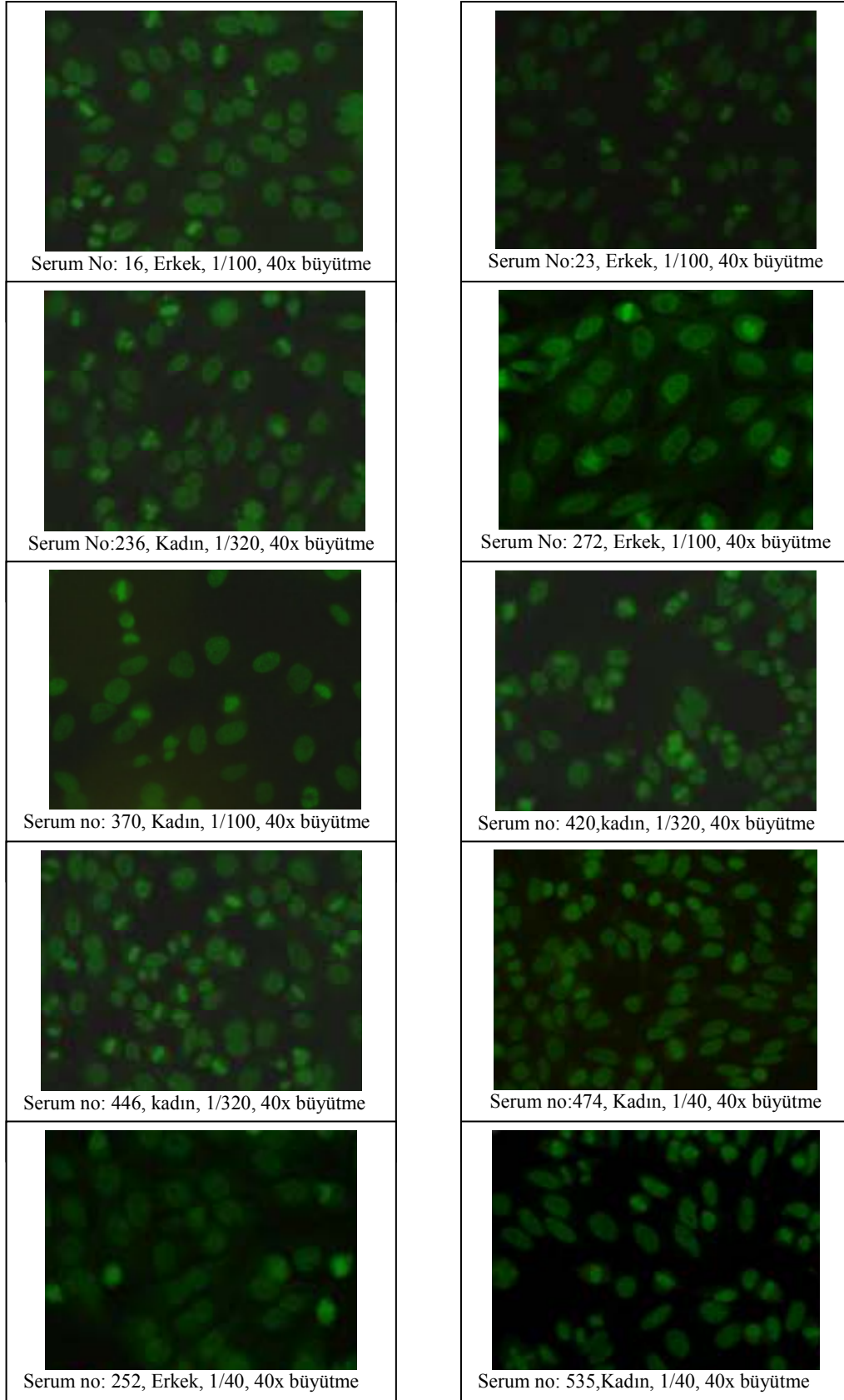
Kontrol grubunun %49,2'sini oluşturan kadın grubunun %13,2'si yani 264 bireyden 35'i 1/100 ve üzeri dilüsyonda ANA IIF pozitif olarak değerlendirilmiştir.

1/100 ve üzeri dilüsyonda sağlıklı kadın bireylerde en sık rastlanılan boyanma şekilleri sırasıyla; 11 bireyde (%4,2) benekli tarzda boyanma ve nükleolar boyanma, 7 bireyde (%2,6) sitoplazma benekli ve sitoplazma fibriller boyanmadır. DFS-70 boyanma şeklini 1/100 ve üzeri dilüsyonda 4 kadın bireyde (%1,5) saptanmıştır.

Kontrol grubunun %50,7'ini oluşturan erkek grubunun %13,2'si yani 272 bireyden 36'sı 1/100 ve üzeri dilüsyonda ANA IIF pozitif olarak değerlendirilmiştir.

1/100 ve üzeri dilüsyonda sağlıklı erkek bireylerde en sık rastlanılan boyanma şekilleri sırasıyla; 7 bireyde (%2,5) benekli tarzda boyanma ve sitoplazma fibriller boyanma, 5 bireyde (%1,8) mitotik benek ve sitoplazma atipik boyanmadır. DFS-70 boyanma şekli ise 1/100 ve üzeri dilüsyonda 4 erkek bireyde (%1,5) saptanmıştır.

Kontrol grubu ANA IIF sonuçlarında boyanma şekilleri Çizelge 3.8'de gruplandırılarak gösterilmiştir.



**Şekil 3.1.** ANA IIF Anti -DFS 70 Pozitif Görüntüleri

**Çizelge 3.8.** Kontrol Grubu ANA IIF Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri. (1/40 ve üzeri dilüsyonda)

IIF Boyanma Şekli	n	% (N=536)
Nükleolar	25	4,6
Sitoplazma Fibriller	18	3,5
Benekli	17	3,2
Sitoplazma Benekli	12	2,2
Benekli + Sitoplazma benekli	10	1,8
Midbody	8	1,5
DFS-70	7	1,3
Homojen + benekli	6	1,1
Nükleolar + Benekli tarzda	5	0,9
Golgi	3	0,5
Sitoplazma Atipik	3	0,5
Nükleolar + NMP	2	0,4
Benekli tarzda + Midbody	2	0,4

1'er olguda ise (%0,2) NMP, iç cisimciği, mitotik benek, Nükleolar+sitoplazma fibriller, sitoplazma benekli+sitoplazma homojen, DFS70+sitoplazma benekli, nükleolar+sitoplazma fibriller, benekli+az noktalı, DFS70+sitoplazma atipik, benekli+NMP, DFS+az noktalı, benek+sentrion, midbody+iç cisimciği, sitoplazma fibriller+sitoplazma atipik, NMP+mitotik benek, homojen+benekli+sitoplazma benekli, nükleolar+benekli+sitoplazma homojen, homojen+ nükleolar+ sitoplazma benekli, benekli+ sitoplazma fibriller+ sitoplazma benekli, nükleolar+sitoplazma homojen+sitoplazma benekli, nükleolar+ homojen+ sitoplazma benekli, benekli+mitotik benek+fibriller, midbody+mitotik benek+sitoplazma fibriller, boyanma şekilleri gözlemlendi.

Çizelge 3.9'da kontrol grubu kadın bireylerde saptanan boyanma tiplerinin titre bilgileri verilmiştir.

**Çizelge 3.9.** Kontrol Grubu Kadın Bireylerde Boyanma Tipleri–Titre Dağılımı.

		1/40	1/100	1/320	1/1000	1/3200
<b>Nükleer</b>	<b>DFS 70</b>	2	1	-	-	-
	<b>Homojen</b>	3	2	-	1	-
	<b>Nükleolar</b>	12	6	3	1	-
	<b>Benekli</b>	18	8	2	-	-
	<b>Midbody</b>	2	1	-	-	-
	<b>NMP</b>	1	1	-	-	-
<b>Sitoplazmik</b>	<b>Golgi</b>	1	-	-	-	-
	<b>Fibriller</b>	5	4	2	1	-
	<b>Homojen</b>	4	1	-	-	-
	<b>Atipik</b>	-	-	-	-	-
	<b>Benekli</b>	17	7	-	-	-

Çizelge 3.10’da kontrol grubu erkek bireylere ait boyanma tiplerinin titre bilgisi verilmiştir.

**Çizelge 3.10.** Kontrol Grubu Erkek Bireylerde Boyanma Tipleri–Titre Dağılımı.

		1/40	1/100	1/320	1/1000
<b>Nükleer</b>	<b>DFS 70 (n)</b>	1	3	-	-
	<b>Homojen (n)</b>	-	2	-	-
	<b>Nükleolar (n)</b>	11	4	-	-
	<b>Benekli (n)</b>	13	6	1	-
	<b>Midbody (n)</b>	8	2	-	-
	<b>Sentriol (n)</b>	-	1	-	-
	<b>İğ cisimciği (n)</b>	1	1	-	-
	<b>Az Noktalı (n)</b>	-	1	1	-
	<b>Nükleer Matriks (n)</b>	-	1	-	-
	<b>Mitotik benek (n)</b>	-	5	-	-
	<b>NMP (n)</b>	1	-	-	-
	<b>Sitoplazmik</b>	<b>Golgi (n)</b>	1	1	-
<b>Fibriller (n)</b>		5	5	-	-
<b>Homojen (n)</b>		-	-	-	-
<b>Atipik (n)</b>		-	5	-	-
<b>Benekli (n)</b>		1	2	1	1

Araştırmamızın ana temasını oluşturan Anti DFS-70 otoantikoruna ise 536 kişiden oluşan kontrol grubunda 10 bireyde (%1,9) saptanmıştır.

DFS-70 açısından pozitif olan 10 bireyden 6'sı (%60) kadın, 4'ü ise (%40) erkek bireydir. DFS-70 boyanma şeklinin yaş ve dilüsyon dağılımı Çizelge 3.11'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.11. DFS-70 Pozitif Kadın ve Erkeklerin Yaş ve Titre Dağılımı.**

n / Olgu No	Yaş / cinsiyet	Titre (Dilüsyon Oranı)
1 / 236	16 / k	1/320
1 / 82	30 / k	1/320
1 / 108	35 / k	1/320
1 / 16	24 / e	1/100
1 / 23	31 / e	1/100
1 / 31	32 / k	1/100
1 / 272	46 / e	1/100
1 / 199	20 / k	1/40
1 / 252	41 / e	1/40
1 / 137	51 / k	1/40

Çizelge 3.11'de DFS-70 pozitif 6 kadın bireyden; 2'si 1/40 dilüsyonda, 1'i 1/100 dilüsyonda, 3'ü 1/320 dilüsyonda değerlendirilmiştir. DFS-70 pozitif 4 erkek bireyden; 1'i 1/40 dilüsyonda, 3'ü 1/100 dilüsyonda değerlendirilmiştir.

DFS-70 boyanma şekli, yapılan IIF değerlendirmesinde 7 bireyde tek boyanma şekli olarak; 1 bireyde sitoplazma benekli (1/100, 1+) boyanma tipi ile beraber, 1 bireyde sitoplazma atipik (1/100, 1+) ve yine 1 bireyde az noktalı boyanma tipi (1/320, 2+) ile beraber saptanmıştır.

İstatiksel değerlendirmeye dayanarak, DFS-70 pozitif kadın ve erkek bireyler arasında dilüsyon oranları açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p=1,0$   $0,05 < p$ ). DFS-70 pozitif erkek bireylerden 3'ü 1/100 ve üstü dilüsyonda pozitif değerlendirilirken, sadece 1 erkek birey 1/40 dilüsyonda zayıf pozitif olarak değerlendirilmiştir. DFS-70 pozitif kadın bireylerden 4'ü 1/100 ve üstü dilüsyonda pozitif değerlendirilirken, sadece 2'si 1/40 dilüsyonda zayıf pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Kontrol grubunda, DFS-70 boyanma şeklinin pozitif ve negatif oluşuna göre yaş ortalamaları karşılaştırılmıştır ve Çizelge 3.12’de gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p=0,765$ ,  $0,05 < p$ ).

**Çizelge 3.12.** Kontrol Grubunun DFS-70 Boyanma Şekline Göre Yaş Aralıkları Açısından Dağılımı

DFS-70	Ortalama	n	Standart Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
Negatif	33,86	636	10,739	33,00	18	65
Pozitif	32,60	10	11,118	31,50	16	51
Toplam	33,84	646	10,738	33,00	16	65

### 3.2 Skleroderma Hasta Grubu Anti Nükleer Antikor (ANA) IIF Sonuçları

DFS-70 otoantikorunun sağlıklı bireyler dışında, otoimmün hastalık gruplarında da IIF taraması yapılmıştır ve Skleroderma hasta grubunda DFS-70 otoantikoru rastlanmamıştır.

Oluşturulan skleroderma hasta grubu 13’ü kadın (%72,2) ve 5’i erkek (% 27,8) olmak üzere toplam 18 bireyden oluşmaktadır. Çizelge 3.13’de Kadın–Erkek yaş dağılımı gösterilmiştir.

**Çizelge 3.13.** Skleroderma Hasta Grubu Kadın-Erkek Yaş Dağılımı ve ANA IIF Pozitiflik Yüzdeleri

Cinsiyet	n (birey sayısı)	Yaş Aralığı	Yaş Ortalaması	1/100 dilüsyon ve üzeri ANA Pozitifliği (n , %)
Kadın	13	19-55	34,5	9, % 69,2
Erkek	5	23-45	35,3	5, %100

Skleroderma hasta grubunu oluşturan 18 kişide; 1/100 dilüsyonda 14 kişi (%77,7) ANA IIF testinde pozitif bulundu. 1/40 dilüsyonda 2 kişi (%11,1) ANA IIF testinde zayıf pozitif olarak değerlendirildi.

Çizelge 3.14’de Skleroderma hasta grubuna ait boyanma şekillerinin dağılımı ve Çizelge 3.15’de dağılımı verilen boyanma şekillerinin titre bilgileri verilmiştir.

**Çizelge 3.14.** Skleroderma Hasta Grubunun (n=18) ANA IIF 1/100 ve Üzeri Dilüsyon Sonuçlarına Göre Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri

	Nükleer Boyanma Şekli (n=24)				Sitoplazmik Boyanma Şekli (n= 4)	
		Homojen	Nükleolar	Benekli	Sentromer	Benek
IIF boyanma şeklinin sayısı, %	n	6	6	8	4	4
	%	33,3	38,9	50,0	22,2	22,2

**Çizelge 3.15.** Skleroderma Hasta Grubunun (N=18) ANA IIF Sonuçlarına Göre Boyanma Şekillerinin Titre Dağılımı ve Yüzdesi

Dilüsyon oranı	Nükleer Boyanma (n=26)					Sitoplazmik Boyanma (n= 7)		
	Homojen	Nükleolar	Benekli	Sentromer	Toplam	Homojen	Benek	Toplam
1/40	-	1	1	-	2	1	2	3
%	-	5,5	5,5	-	11,1	5,5	11,1	38,8
1/100	4	1	4	-	9	-	4	4
%	22,2	5,5	22,2	-	50,0	-	22,2	22,2
1/320	1	-	1	-	2	-	-	-
%	5,5	-	5,5	-	11,1	-	-	-
1/1000	1	5	2	2	10	-	-	-
%	5,5	27,7	11,1	11,1	55,5	-	-	-
1/3200	-	-	1	2	3	-	-	-
%	-	-	5,5	11,1	16,6	-	-	-

1/40 ve üzeri ANA IIF pozitif skleroderma grubu örneklerinin sonuçları incelendiğinde en sık görülen ilk 3 boyanma şekli sırasıyla; 9 bireyde (%50,0) benekli tarzda boyanma, 7 bireyde (%38,9) nükleolar boyanma ve 6 bireyde (%33,3) homojen ve sitoplazma benekli boyanmadır. Kadın ve erkek bireyler arasında çoğu boyanma şeklinin uyumlu sonuç vermediği ama hem erkek hem de kadın bireylerde benekli tarzda boyanma şeklinin oran olarak diğer boyanma şekillerinden fazla bulunduğunu söyleyebiliriz.

Skleroderma hasta grubunda en sık rastlanılan ilk 3 boyanma şekilleri istatistiksel olarak incelenmiştir ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Sonuçta en sık rastlanılan birinci boyanma modeli olan benekli tarzda boyanma için iki grup arasında anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ( $p=0$ ,  $p<0,05$ ). Benekli tarzda boyanma şeklinin kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerdeki pozitiflik oranı % 9,1 iken skleroderma hasta grubunda bu oran %50,0 dir (Çizelge 3.16).

**Çizelge 3.16.** Benekli Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve Skleroderma Hasta Grubunda Dağılımı

			Benekli Boyanma		Toplam
			Negatif	Pozitif	
Grup	Kontrol	N	487	49	536
		grup içi %	90,9%	9,1%	100,0%
	Sikloroderma	N	9	9	18
		Grup içi %	50,0%	50,0%	100,0%
			(p=0, p<0,05)		

Skleroderma hasta grubunda en sık görülen 2. boyanma şekli nükleolar boyanmadır ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur ( $p=0$ ,  $p<0,05$ ). Nükleolar boyanma şeklinin oranı, kontrol grubunda %6,9 iken skleroderma hasta grubunda daha yüksek ve % 38,9 dur (Çizelge 3.17).

**Çizelge 3.17.** Nükleolar Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve Skleroderma Hasta Grubunda Dağılımı.

			Nükleolar Boyanma		Toplam
			Negatif	Pozitif	
Grup	Kontrol	N	499	37	536
		Grup içi %	93,1%	6,9%	100,0%
	Sikloroderma	N	11	7	18
		Grup içi %	61,1%	38,9%	100,0%
			(p=0, p<0,05)		

Skleroderma hasta grubunda en sık rastlanılan 3. boyanma şekli ise homojen ve sitoplazma benekli boyanmadır. Homojen boyanma şekli açısından skleroderma (%66,7) ve kontrol grubu (%33,3) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak, skleroderma hasta grubu anlamlı bir farklılık göstermiştir ( $p=0$   $p<0,05$ ) ve daha yüksek oranda bulunmuştur. Sitoplazma benekli boyanma şekli de homojen boyanma şekli gibi kontrol grubunda göre (%5,4), skleroderma hasta grubunda daha yüksek oranda

(%33,3) saptanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir ( $p= 0, p<0,05$ ).

Skleroderma hasta grubunun %72,2'sini oluşturan kadın bireylerin %84,6'sı yani 13 bireyden 9'u 1/100 ve üzeri dilüsyonda ANA IIF pozitif olarak değerlendirilmiştir. 1/100 ve üzeri dilüsyonda, kadın bireylerde en sık rastlanılan ilk 3 boyanma şekli sırasıyla; 5 bireyde (%27,7) nükleolar boyanma, 4 bireyde (%22,2) benekli tarzda boyanma ve 3 bireyde (%16,6) homojen ve yine 3 bireyde (%16,6) sitoplazma benekli boyanmadır.

Skleroderma hasta grubunun %27,8'ini oluşturan erkek bireylerin tümü ( $n=5$ ) ANA IIF pozitif bulunmuştur. Erkek bireylerde, 1/100 ve üzeri dilüsyonda en sık rastlanılan boyanma şekilleri sırasıyla; 4 bireyde (%22,2) benekli tarzda, 3 bireyde (%16,6) homojen ve sitoplazma benekli, 1'er bireyde (%5,5) nükleolar, sentromer ve sitoplazma benekli boyanma şekilleridir.

Skleroderma hasta grubu ANA IIF sonuçlarına ait boyanma şekilleri Çizelge 3.18'de gruplandırılarak yüzde oranları ile birlikte verilmiştir.

**Çizelge 3.18.** Skleroderma Hasta Grubu (N=18) 1/40 ve Üzeri Dilüsyonda ANA IIF Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri.

IIF Boyanma Şekli	N	%
Benekli	3	16,6
Nükleolar	2	11,1
Homojen + Benekli + Sitoplazmik Benekli	2	11,1
Homojen + Nükleolar + Benekli	2	11,1

1'er olguda ise (%5,5) sentromer, homojen+nükleolar, nükleolar+sentromer, benekli+sitoplazma benekli, sentromer+sitoplazma benekli, benekli+sentromer+sitoplazmik benekli, homojen+benekli+sitoplazma benekli+sitoplazmik homojen boyanma şekli bulunmuştur.

Çizelge 3.19'da Skleroderma hasta grubunda bulunan kadın bireylerde saptanan boyanma tiplerinin titre bilgileri verilmiştir.

**Çizelge 3.19.** Skleroderma Hasta Grubu Kadın Bireylerde Boyanma Tipleri – Titre Dağılımı.

		1/40	1/100	1/320	1/1000	1/3200
Nükleer	Homojen (n)	-	3	-	-	-
	Nükleolar (n)	1	1	-	4	-
	Benekli (n)	1	3	-	1	-
	Sentromer(n)	-	-	-	1	2
	Toplam	2	7	-	6	2
Sitoplazmik	Benekli (n)	-	3	-	-	-
	Toplam	-	3	-	-	-

Çizelge 3.20'de Skleroderma hasta grubu erkek bireylerine ait boyanma tiplerinin titre bilgisi verilmiştir.

**Çizelge 3.20.** Skleroderma Hasta Grubu (N=18) Erkek Bireylerde Boyanma Tipleri – Titre Dağılımı.

		1/40	1/100	1/320	1/1000	1/3200
Nükleer	Homojen (n)	-	1	1	1	-
	Nükleolar (n)	-	-	-	1	-
	Benek (n)	-	1	1	1	1
	Sentromer(n)	-	-	-	1	-
	Toplam	-	2	2	4	1
Sitoplazmik	Benekli (n)	2	1	-	-	-
	Homojen (n)	1	-	-	-	-
	Toplam	3	1	-	-	-

Skleroderma hasta grubunun ANA IIF çalışmasında, Anti-DFS70 otoantikoruna rastlanmamıştır ve bu sebeple bu örnekler ile Hep-2 WesternBlot çalışması yapılmamıştır.

Skleroderma hasta grubunun ANA IIF sonuçları incelendiği zaman en yüksek titrede (1/3200) sonuç veren boyanma tipleri; erkek bireylerde benekli tarzda ve kadın bireylerde sentromer boyanma olmuştur.

### 3.3 Sistemik Lupus Eritromatozus (SLE) Hasta Grubu Anti Nükleer Antikorlar (ANA) IIF Sonuçları

DFS-70 otoantikorusunun sağlıklı bireyler dışında, otoimmün hastalık gruplarında da taraması yapılmıştır ve SLE hasta grubunda DFS-70 otoantikoru tesbit edilmemiştir.

Oluşturulan hasta grubu 52 kadın (%77,6) ve 15 erkek (%22,4) birey olmak üzere 67 SLE'li hastadan oluşmaktadır. Çizelge 3.21'de Kadın-Erkek yaş dağılımı gösterilmiştir.

**Çizelge 3.21.** SLE Hasta Grubu Kadın-Erkek Yaş Dağılımı ve ANA IIF Pozitiflik Yüzdeleri

Cinsiyet	n (birey sayısı)	Yaş Aralığı	Yaş Ortalaması	1/100 ve üzeri ANA Pozitifliği (n, %)
<b>Kadın</b>	52	18-60	36,0	48, %92,3
<b>Erkek</b>	15	20-45	32,8	13, %86,6

SLE tanısı konmuş 67 bireyde; 1/100 dilüsyonda 61 kişi (%91,0) ANA IIF testinde pozitif bulundu. 1/40 dilüsyonda ise 2 kişi (%2,9) ANA IIF testinde zayıf pozitif olarak değerlendirildi.

Çizelge 3.22’de SLE hasta grubuna ait boyanma şekillerinin dağılımı ve Çizelge 3.23’de dağılımı verilen boyanma tiplerinin titreleri verilmiştir.

**Çizelge 3.22.** SLE Hasta Grubunun (n=67) 1/100 ve Üzeri Dilüsyonda ANA IIF Sonuçlarına Göre Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleeri

	Nükleer Boyanma Şekli (n=102 )							Sitoplazmik Boyanma Şekli (n=63)			
	Homojen	Nükleolar	Benekli	Periferik	Az Noktalı	Mitotik benek	NMP	Fibriller	Homojen	Atipik	Benek
n	38	17	37	7	1	1	1	8	3	33	19
%	56,7	25,3	55,2	10,4	1,5	1,5	1,5	12,0	4,5	49,2	28,3

**Çizelge 3.23.** SLE Hasta Grubunun (n=67) ANA IIF Sonuçlarına Göre Boyanma Şekillerinin Titre Dağılımı ve Yüzdesi.

Dilüsyon Oranı	Nükleer Boyanma (n=109)										Sitoplazmik Boyanma (n=79)				
	Homojen	Nükleolar	Benekli	Periferik	Az noktalı	Mitotik benek	NMP	Toplam	Fibriller	Homojen	Atipik	Benek	Toplam		
1/40	1	2	4	-	-	-	-	7	3	5	-	8	16		
%	1,5	3,0	6,0	-	-	-	-	10,4	4,4	7,4	-	12,0	23,8		
1/100	6	7	9	-	-	1	-	23	8	3	33	19	63		
%	8,9	10,4	13,4	-	-	1,5	-	34,3	12,0	4,4	49,2	28,3	94,0		
1/320	10	5	9	-	1	-	-	25	-	-	-	-	-		
%	14,9	7,4	13,4	-	1,5	-	-	37,3	-	-	-	-	-		
1/1000	13	4	14	1	-	-	1	33	-	-	-	-	-		
%	19,4	6,0	20,9	1,5	-	-	1,5	49,2	-	-	-	-	-		
1/3200	9	1	5	6	-	-	-	21	-	-	-	-	-		
%	13,4	1,5	7,4	8,9	-	-	-	31,3	-	-	-	-	-		

1/40 ve üzeri dilüsyonda ANA IIF pozitif SLE hasta grubu örneklerinin sonuçları incelendiğinde en sık görülen ilk 3 boyanma şekli sırasıyla; 42 bireyde (%62,7) benekli tarzda boyanma, 40 bireyde (%59,7) sitoplazma atipik boyanma ve 38 bireyde (%56,7) homojendir. Kadınlarda en sık görülen boyanma şekli homojen iken, erkeklerde en sık görülen boyanma şekli benekli olarak bulunmuştur.

SLE hasta grubunun en sık rastlanılan ilk 3 boyanma şekilleri istatistiksel olarak incelenmiştir ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Sonuçta en sık rastlanılan 1. boyanma şekli olan benekli boyanma için iki grup arasında anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ( $p=0$   $p<0,05$ ). Benekli boyanma şeklinin, kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerdeki pozitiflik oranı %9,1 iken, SLE hasta grubunda bu oran %63,1dir (Çizelge 3.24).

**Çizelge 3.24.** Benekli Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve SLE Hasta Grubunda Dağılımı (1/40 ve üzeri dilüsyonda)

Grup	Kontrol	N	Benek		
			Negatif	Pozitif	Toplam
		N	487	49	536
		Grup içi %	90,9%	9,1%	100,0%
	SLE	N	24	41	65
		Grup içi %	36,9%	63,1% ( $p=0$ , $p<0,05$ )	100,0%

SLE hasta grubunda en sık görülen 2. boyanma şekli sitoplazmik atipiktir ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur ( $p=0$   $p<0,05$ ). Sitoplazmik atipik pozitifliği kontrol grubunda %0,9 iken SLE hasta grubunda daha yüksek oranda ve %59,7dir. (Çizelge 3.25)

**Çizelge 3.25.** Sitoplazma Atipik Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve SLE Hasta Grubunda Dağılımı (1/40 ve üzeri dilüsyonda)

			Sitoplazma Atipik		
			Negatif	Pozitif	Toplam
<b>Grup</b>	<b>Kontrol</b>	N	531	5	536
		Grup içi %	99,1%	,9%	100,0%
	<b>SLE</b>	N	27	40	67
		Grup içi %	40,3%	59,7% ( p=0, p<0,05)	100,0%

SLE hasta grubunda en sık rastlanılan 3. boyanma şekli homojendir. Homojen boyanma şekli SLE hasta grubunda ve kontrol grubunda istatistiksel olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Homojen boyanma şekli, kontrol grubuna göre, SLE hasta grubunda daha yüksek oranda bulunmuştur. (Çizelge 3.26)

**Çizelge 3.26.** Homojen Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve SLE Hasta Grubunda Dağılımı (1/40 ve üzeri dilüsyonda)

			Grup		
			Kontrol	SLE	Toplam
<b>Homojen</b>	<b>Negatif</b>	N	527	28	555
		Grup içi %	98,5%	41,8%	92,2%
	<b>Pozitif</b>	N	8	39	47
		Grup içi %	1,5%	58,2% ( p=0, p<0,05)	7,8%

SLE hasta grubunda bulunan 52 kadın bireyden, 48'si (%92,3) 1/100 ve üzeri dilüsyonda ANA IIF pozitifliği gösterirken, 2'si (%3,8) 1/40 dilüsyonda zayıf pozitif olarak değerlendirilmiştir. 1/100 ve üzeri dilüsyonda kadın bireylerde en sık rastlanılan ilk 3 boyanma şekli sırasıyla; 31 bireyde (%59,6) homojen, 27 bireyde (%51,9) benekli tarzda boyanma ve sitoplazma atipik, 16 bireyde (%30,7) sitoplazma benekli boyanmadır.

SLE hasta grubunda bulunan 15 erkek bireyden 13'ü (%86,7) 1/100 ve üzeri dilüsyonda ANA IIF pozitif sonuç verirken, 2 birey ise (%13,3) ANA IIF negatif olarak değerlendirilmiştir.

1/100 dilüsyonda ANA IIF sonuçları erkek grubu içinde değerlendirildiğinde en sık rastlanılan ilk 3 ,boyanma modeli; 10 kişide (%66,6) benekli tarzda boyanma, 7 kişide (%46,6) homojen, 6 kişide (%40) nükleolar ve sitoplazma atipikdir.

SLE hasta grubu ANA IIF sonuçlarına ait boyanma şekilleri Çizelge 3.27'de gruplandırılarak yüzde oranları ile birlikte verilmiştir.

**Çizelge 3.27.** SLE Hasta Grubu ANA IIF Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri (1/40 ve üzeri dilüsyonda)

IIF Boyanma Şekli	n	%
Homojen + benekli + sitoplazma benekli	4	6,0
Benekli + sitoplazma fibriller + sitoplazma benekli	3	4,5
Homojen + sitoplazma atipik + sitoplazma benekli	3	4,5
Benekli + sitoplazma atipik + sitoplazma benekli	3	4,5
Homojen + Benekli + Sitoplazma fibriller + Sitoplazma Atipik	3	4,5
Homojen + Nükleolar + Benekli + Sitoplazma Atipik	3	4,5
Nükleolar + benekli + Sitoplazma atipik + sitoplazma benekli	3	4,5
Benekli	2	3,0
Homojen	2	3,0
Homojen + Sitoplazmik benekli	2	3,0
Homojen + sitoplazma atipik boyanma	2	3,0
Benekli + sitoplazma atipik boyanma	2	3,0
Homojen + benekli + sitoplazma atipik	2	3,0
Homojen + benekli + sitoplazma fibriller + sitoplazma atipik	2	3,0

1'er olguda (%1,5) nükleolar, nükleolar+benekli, homojen+benekli, benekli+sitoplazma fibriller, homojen+periferal, homojen+periferal+sitoplazma atipik, homojen+nükleolar+sitoplazma homojen, nükleolar+benekli+sitoplazma benek, homojen+benek+sitoplazma fibriller, benek+sitoplazma fibriller+sitoplazma benekli, homojen+sitoplazma homojen+sitoplazma atipik, benekli+sitoplazma homojen+sitoplazma benekli, homojen+periferal+sitoplazma atipik, nükleolar+benekli+sitoplazma atipik, NMP+sitoplazma atipik+sitoplazma benekli, homojen+nükleolar+sitoplazma fibriller+sitoplazma atipik, homojen+benek+sitoplazma homojen+sitoplazma atipik, nükleolar+mitotik benekli+sitoplazma fibriller+sitoplazma benekli, homojen+nükleolar+periferal+sitoplazma atipik, homojen+periferal+ sitoplazma homojen+sitoplazma atipik, nükleolar+ benekli+ sitoplazma fibriller+sitoplazma homojen, homojen+nükleolar+sitoplazma fibriller+sitoplazma homojen+sitoplazma atipik, homojen+nükleolar+periferal+sitoplazma atipik+sitoplazma benekli, nükleolar+benekli+sitoplazma homojen+sitoplazma benekli+sitoplazma atipik, homojen+periferal+benekli+sitoplazma benekli+sitoplazma atipik, homojen+nükleolar+benekli+sitoplazma atipik+sitoplazma benekli, homojen+nükleolar+benekli+az noktalı+sitoplazma atipik boyanma şekilleri saptanmıştır.

Çizelge 3.28'de SLE hasta grubunda bulunan kadın bireylerde saptanan boyanma tiplerinin titre bilgileri verilmiştir.

**Çizelge 3.28.** SLE Hasta Grubu Kadın Bireylerde Boyanma Tipleri–Titre Dağılımı

		1/40	1/100	1/320	1/1000	1/3200
<b>Nükleer</b>	<b>Homojen (n)</b>	1	5	7	10	9
	<b>Nükleolar (n)</b>	1	5	3	2	1
	<b>Benekli (n)</b>	4	6	6	11	4
	<b>Periferal (n)</b>	-	-	-	-	6
	<b>Mitotik benek (n)</b>	-	1	-	-	-
	<b>NMP (n)</b>	-	-	-	1	-
	<b>Toplam</b>	6	17	16	23	20
	<b>Sitoplazmik</b>	<b>Fibriller (n)</b>	3	7	-	-
<b>Homojen (n)</b>		4	3	-	-	-
<b>Atipik (n)</b>		6	27	-	-	-
<b>Benekli (n)</b>		8	16	-	-	-
<b>Toplam</b>		21	53	-	-	-

Çizelge 3.29'da SLE hasta grubunda bulunan erkek bireylerde saptanan boyanma tiplerinin titre bilgileri verilmiştir.

**Çizelge 3.29.** SLE Hasta Grubu Erkek Bireylerde Boyanma Tipleri–Titre Dağılımı.

		1/40	1/100	1/320	1/1000	1/3200
Nükleer	Homojen (n)	-	1	3	3	-
	Nükleolar (n)	1	2	2	2	-
	Benekli (n)	-	3	3	3	1
	Periferal (n)	-	-	-	1	-
	Az Noktalı (n)	-	-	1	-	-
	<b>Toplam</b>	1	6	9	9	1
Sitoplazmik	Fibriller (n)	1	1	-	-	-
	Homojen (n)	1	-	-	-	-
	Atipik (n)	1	6	-	-	-
	Benekli (n)	-	3	-	-	-
	<b>Toplam</b>	3	10	-	-	-

SLE hasta grubunun ANA IIF çalışmasında DFS-70 otoantikoruna rastlanmamıştır ve bu sebeple bu örnekler ile Hep-2 Westernblot çalışması yapılmamıştır.

SLE hasta grubunun ANA IIF sonuçları incelendiği zaman en yüksek titrede (1/3200 dilüsyonda) sonuç veren boyanma tipleri; kadın bireylerde homojen (9 bireyde), periferal (6 bireyde), erkek bireylerde benekli tarzda boyanma (1 bireyde) olarak bulunmuştur.

#### **3.4 Romatoid Artrit (RA) Hasta Grubu Anti Nükleer Antikorlar (ANA) IIF Sonuçları**

DFS 70 otoantikorusunun sağlıklı bireyler dışında, otoimmün hastalık gruplarında da taraması yapılmıştır ve RA hasta grubunda Anti-DFS70 otoantikoruna rastlanmamıştır. Oluşturulan RA hasta grubu 23 kadın (%74,2) ve 8 erkek (%25,8) birey olmak üzere 31 RA'lı hastadan oluşmaktadır. Çizelge 3.30'da Kadın – Erkek yaş dağılımı gösterilmiştir.

**Çizelge 3.30.** RA Hasta Grubu Kadın-Erkek Yaş Dağılımı ve ANA IIF Pozitiflik Yüzdeleri.

Cinsiyet	n (birey sayısı)	Yaş Aralığı	Yaş Ortalaması	1/100 ve üzeri dilüsyonda ANA Pozitifliği (n , %)
<b>Kadın</b>	23	19-55	33,8	14, %60,8
<b>Erkek</b>	8	26-41	36,7	6, %75,0

RA tanısı konmuş 31 bireyde; 1/100 dilüsyonda 20 kişi (%64,5) ANA IIF testinde pozitif olarak bulundu. 1/40 dilüsyonda ise 9 kişi (%29,0) ANA IIF testinde zayıf pozitif olarak değerlendirildi.

Çizelge 3.31’de RA hasta grubuna ait boyanma modeli dağılımı ve Çizelge 3.32’de dağılımı verilen boyanma tiplerinin titreleri gösterilmiştir.

**Çizelge 3.31.** RA Hasta Grubunun (N=31) 1/100 ve Üzeri Dilüsyonda ANA IIF Sonuçlarına Göre Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleeri

	Nükleer Boyanma şekli (n=16)					Sitoplazmik Boyanma Şekli (n=13)				
	Homojen	Nükleolar	Benekli	Midbody	Az Noktalı	Fibriller	Homojen	Atipik	Benek	
n	4	3	8	1	1	1	3	1	8	
%	12,9	9,6	25,8	3,2	3,2	3,2	9,6	3,2	25,8	

**Çizelge 3.32.** RA Hasta Grubunun (n=31) ANA IIF Sonuçlarına Göre Boyanma Şekillerinin Titre Dağılımı ve Yüzdesi.

Dilüsyon Oranı	Nükleer Boyanma Şekli (n=36)										Sitoplazmik Boyanma Şekli (n=22)			
	Homojen	Nükleolar	Benekli	Midbody	Sentriol	İçcik Şekli	Az Noktalı	Toplam	Fibriller	Homojen	Atipik	Benek	Toplam	
1/40	2	2	10	2	1	1	-	18	2	3	-	4	9	
%	6,4	6,4	32,2	6,4	3,2	3,2	-	58,1	6,4	9,7	-	12,9	29,0	
1/100	4	2	8	-	-	-	1	15	-	3	1	8	12	
%	12,9	6,4	25,8	-	-	-	3,2	48,4	-	9,7	3,2	25,8	38,7	
1/320	-	1	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	
%	-	3,2	-	3,2	-	-	-	6,4	-	-	-	-	-	
1/1000	-	-	1	-	-	-	-	1	1	-	-	-	1	
%	-	-	3,2	-	-	-	-	3,2	3,2	-	-	-	3,2	

ANA IIF pozitif RA hasta grubu örneklerinin sonuçları incelendiğinde en sık rastlanılan ilk 3 boyanma şekli sırasıyla; 19 bireyde (%32,7) benekli, 12 bireyde (%20,7) sitoplazma benekli ve 6'şar bireyde homojen (%10,3) ve sitoplazmik homojen (% 10,3) dir. Kadın ve erkek bireyler arasında en sık görülen boyanma modelleri arasında ilişki vardır. Hem erkek hem de kadın bireylerde en sık rastlanılan ilk iki boyanma şekli benekli tarzda ve sitoplazma benekli boyanmadır.

RA hasta grubunun en sık rastlanılan ilk 3 boyanma şekilleri istatistiksel olarak incelenmiştir ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Sonuçta en sık rastlanılan 1. boyanma şekli olan benekli tarzda boyanma için iki grup arasında anlamlı bir farklılık vardır ( $p=0$ ,  $p<0,05$ ). Benekli boyanma şeklinin, kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerdeki pozitiflik oranı %9,1 iken, RA hasta grubunda bu oran %63,3dür (Çizelge 3.33).

**Çizelge 3.33.** Benekli Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve RA Hasta Grubunda Dağılımı (1/40 ve üzeri dilüsyonda)

			Benek		
			Negatif	Pozitif	Toplam
Grup	Kontrol	N	487	49	536
		Grup içi %	90,9%	9,1%	100,0%
	RA	N	11	19	30
		Grup içi %	36,7%	63,3%	100,0%

( $p=0$ ,  $p<0,05$ )

RA hasta grubunda en sık görülen 2. boyanma şekli olan sitoplazma benekli boyanmadır ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur ( $p=0$ ,  $p<0,05$ ). Sitoplazma benekli tarzda boyanma modeli pozitiflik oranı, kontrol grubunda %5,4 iken RA hasta grubunda daha yüksek oranda (%38,7) olarak saptanmıştır. (Çizelge 3.34)

**Çizelge 3.34.** Sitoplazma Benek Boyanma Şeklinin Kontrol Grubu ve RA Hasta Grubunda Dağılımı (1/40 ve üzeri dilüsyonda)

			Sitoplazma Benekli		
			negatif	Pozitif	Toplam
Grup	Kontrol	N	506	29	535
		Grup içi %	94,6%	5,4%	100,0%
	RA	N	19	12	31
		Grup içi %	61,3%	38,7%	100,0%

(p=0, p<0,05)

RA hasta grubunda en sık rastlanılan 3. boyanma şekli; Homojen ve sitoplazma homojendir. Her iki boyanma şeklide RA hasta grubunda ve kontrol grubunda istatistiksel olarak karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Homojen ve sitoplazmik homojen boyanma şekli, kontrol grubuna göre RA hasta grubunda daha yüksek oranda bulunmuştur.

RA hasta grubunda bulunan 23 kadın bireyden 14'ü (%60,9) 1/100 ve üzeri dilüsyonda ANA IIF pozitifliği gösterirken, 8'i (%34,7) 1/40 dilüsyonda zayıf pozitif olarak değerlendirilmiştir. 1/100 ve üzeri dilüsyonda kadın bireylerde en sık rastlanılan boyanma şekli sırasıyla; 7 bireyde (%30,4) sitoplazma benekli tarzda boyanma, 6 bireyde (%26,1) benekli tarzda boyanma ve 2 bireyde (%8,7) homojen ve sitoplazma homojendir.

RA hasta grubunda bulunan 8 erkek bireyden 6'sı (%75) 1/100 ve üzeri dilüsyonda ANA IIF pozitif sonuç verirken, 1 erkek 1/40 dilüsyonda zayıf pozitif olarak değerlendirilmiştir. 1/100 ve üzeri dilüsyonda erkek bireylerde en sık rastlanılan boyanma şekilleri sırasıyla; 3 bireyde (%37,5) benekli tarzda boyanma, 2 bireyde (%25) homojen ve nükleolar boyanmalardır.

RA hasta grubu ANA IIF sonuçlarına ait boyanma şekilleri Çizelge 3.35'de gruplandırılarak yüzde oranları ile birlikte verilmiştir.

**Çizelge 3.35.** RA Hasta Grubu ANA IIF Boyanma Tiplerinin Dağılımı ve Yüzdeleri (1/40 ve üzeri dilüsyonda)

IIF Boyanma Şekli	N	%
Benekli	5	16,1
Benekli + Sitoplazma homojen + Sitoplazma benekli	5	16,1
Sitoplazma Fibriller	2	6,4
Homojen + benekli + Sitoplazma benekli	2	6,4

1'er olguda (%3,2) nüklolar, sitoplazma atipik, sitoplazma benekli, homojen, midbody+iğcik şekilli fibril, nükleolar+az noktalı, benekli+midbody, benekli+sitoplazma benekli, homojen+benekli, sitoplazma benekli+sitoplazma homojen, nükleolar+benekli, homojen+nükleolar+benekli, nükleolar+midbody+sitoplazma benekli, homojen+benekli+sitoplazma fibriller, benekli+sentrion+sitoplazma benekli boyanma tarzı saptanmıştır.

Çizelge 3.36.'da RA hasta grubunda bulunan kadın bireylerde saptanan boyanma tiplerinin titre bilgileri verilmiştir.

**Çizelge 3.36.** RA Hasta Grubu Kadın Bireylerde Boyanma Tipleri–Titre Dağılımı.

		1/40	1/100	1/320	1/1000	1/3200
Nükleer	Homojen (n)	2	2	-	-	-
	Nükleolar (n)	2	-	-	1	-
	Benekli (n)	9	5	1	-	-
	Midbody (n)	1	-	1	-	-
	Sentrion (n)	1	-	-	-	-
	Toplam	15	7	2	1	-
Sitoplazmik	Fibriller (n)	2	-	-	1	-
	Homojen (n)	3	2	-	-	-
	Atipik (n)	-	1	-	-	-
	Benekli (n)	4	7	-	-	-
	Toplam	9	10	-	1	-

Çizelge 3.37'de RA hasta grubunda bulunan erkek bireylerde saptanan boyanma tiplerinin titre bilgileri verilmiştir.

**Çizelge 3.37.** RA Hasta Grubu Erkek Bireylerde Boyanma Tipleri–Titre Dağılımı.

		1/40	1/100	1/320	1/1000	1/3200
Nükleer	Homojen (n)	-	2	-	-	-
	Nükleolar (n)	-	2	-	-	-
	Benekli (n)	1	3	-	-	-
	Midbody (n)	1	-	-	-	-
	Spindle (n)	1	-	-	-	-
	Az Noktalı (n)	-	1	-	-	-
	Toplam	3	8	-	-	-
Sitoplazmik	Homojen (n)	-	1	-	-	-
	Benekli (n)	-	1	-	-	-
	Topalm	-	2	-	-	-

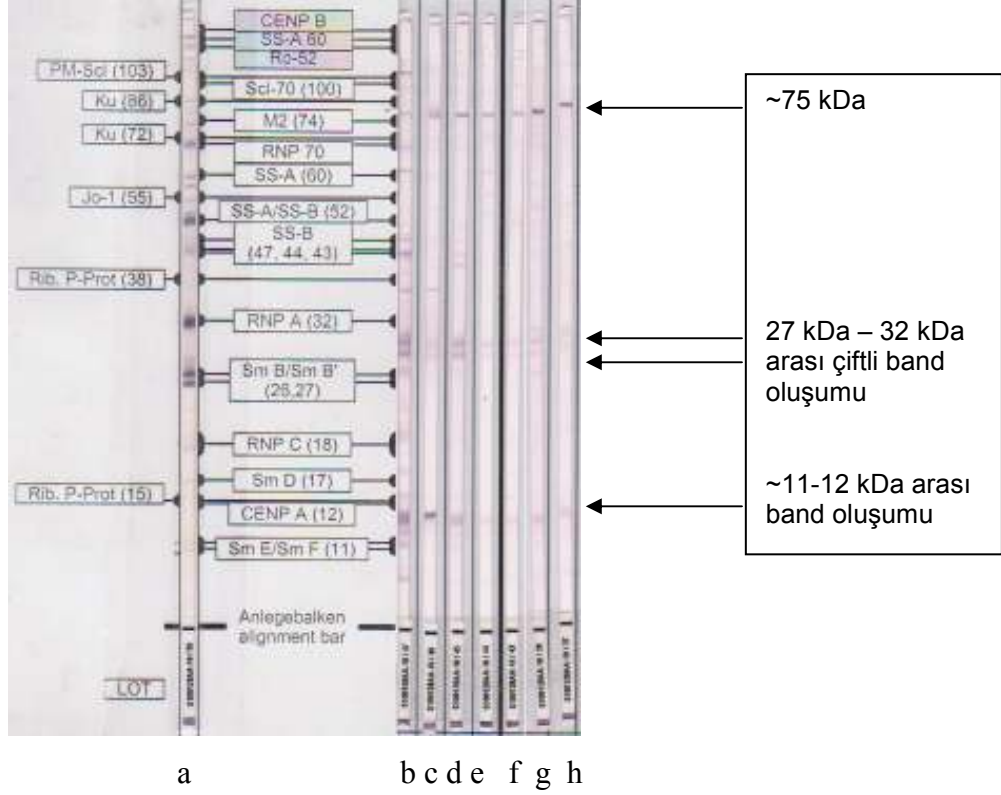
RA hasta grubunun ANA IIF çalışmasında DFS 70 otoantikoruyla rastlanmamıştır ve bu sebeple bu örnekler ile Hep-2 WesternBlot çalışması yapılmamıştır.

RA hasta grubunun ANA IIF sonuçları incelendiği zaman en yüksek titrenin (1/1000 dilüsyonda) sitoplazma fibriller ve nükleolar boyanma olduğu saptanmıştır.

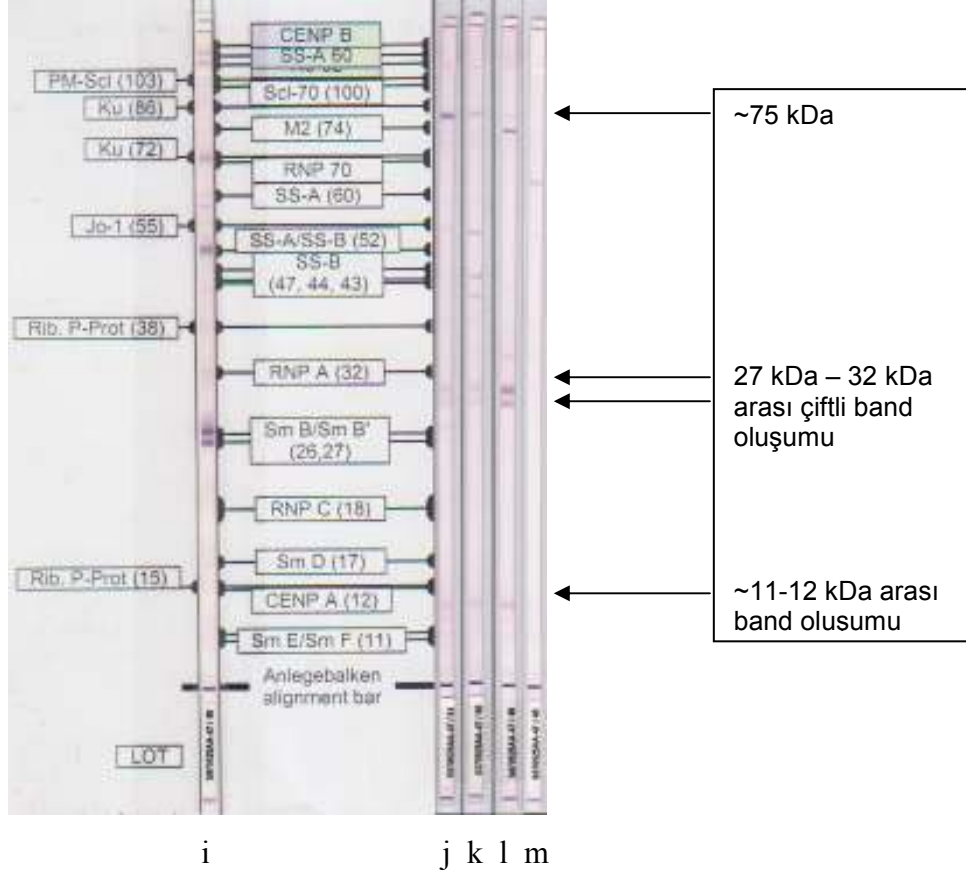
### 3.5 DFS-70 Pozitif Örneklerin Hep-2 WesternBlot Çalışmasında Değerlendirmesi

ANA IIF tarama çalışmasında DFS-70 pozitifliği gösteren 10 örnek, tanımlama amacı ile Hep-2 WesternBlot yöntemi ile çalışıldı. DFS-70 pozitif örneklerin Hep-2 WB çalışmasında ~75kDa civarında band oluşturması beklenmekteydi. Yapılan çalışma sonucu, IIF çalışmasında DFS-70 pozitifliği gösteren 10 örnekten tümü Hep-2 WB testinde ~75kDa civarında band oluşturmuştur. Üretici firmaya ait, bandların değerlendirilmesinde kullanılan değerlendirme kağıdında, oluşan bandların denk düştüğü aralık M2 (74 kDa) – Ku (84 kDa) arasındadır ve oluşan bandlar M2 (74

kDa)'nın biraz üstünde kalmaktadır. Şekil 3.1. ve 3.2.'de elde edilen band görüntüleri gösterilmiştir.



**Şekil 3.2.** DFS70 Pozitif Serumların Hep-2 Westernblot Çalışma Sonuçları.  
a. Değerlendirme stripi, b,c,d,e,f,g ve h DFS 70 pozitif hastalara ait stripler



**Şekil 3.3.** DFS70 Pozitif Serumların Hep-2 Westernblot Çalışma Sonuçları.  
i. Değerlendirme stripi, j,k ve l DFS 70 pozitif hastalara ait stripler, m DFS 70 negatif hastaya ait strip.

Anti-DFS 70 IIF pozitif sonuçlar ile bu örneklerin Hep-2 WB sonuçlarının karşılaştırması Çizelge 3.38'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.38.** DFS 70 Pozitif IIF Sonuçları İle Bu Örneklerin Hep-2 Westernblot Test Sonuçlarının Karşılaştırması.

ANA IIF DFS 70 Pozitif ÖrneklerinTitreleri	ANA IIF DFS-70 Örneklerin Hep-2 WB Band Sonuçları
(+) 1/40	Zayıf
(+) 1/40	Zayıf
(+) 1/40	Belirgin
+ 1/100	Belirgin
+ 1/100	Belirgin
+ 1/100	Belirgin
+ 1/100	Kuvvetli
++ 1/320	Kuvvetli
++ 1/320	Kuvvetli
++ 1/320	Kuvvetli

Çizelge 3.38.'de görüldüğü gibi DFS-70 örneklerin titrelerinin artışına paralel olarak Hep-2 WB çalışmasında oluşan 75kd civarındaki bandında kuvveti artmaktadır.

Oluşan band dağılımında göze çarpan bir diğer nokta ise DFS70 pozitif örneklerden; 3'ün kuvvetli, 4'ünde ise zayıf olmak üzere yaklaşık 10-11 kDa molekül ağırlığında denk gelen noktada oluşan banddır. DFS70 pozitif diğer 3 örnekte ise böyle bir band oluşmamıştır.

Diğer bir göze çarpan sonuç ise; RNP A (32kDa) bandının biraz altında, DFS-70 pozitif tüm örneklerde oluşan yaklaşık 28-31 kDa molekül ağırlığında 2'li bandlardır. Bu 2'li bandlar, 3 örnekte kuvvetli iken diğer 7 örnekte biraz daha zayıf olarak değerlendirilmiştir.

## 4 TARTIŞMA

Otoimmün hastalıkların tanı aşamasında, IIF yöntemi ile yapılan ANA taraması çok önemli bir basamaktır (Watanabe ve ark, 2004). Araştırmamızda, kontrol ve hasta gruplarında (SLE, RA ve Skleroderma), Anti DFS70 otoantikörünün yüzdesini IIF yöntemi saptamayı amaçladık. 536 kişiden oluşan kontrol grubunda 10 bireyde (%1,9) Anti-DFS 70 boyanma şekline rastlandı. Anti DFS70 boyanma şekli gösteren serum örnekleri ile Hep-2 WesternBlot çalışması yapıldı ve beklendiği gibi yaklaşık 75kDa moleküler ağırlıkta band oluşumu gözlemlendi.

Watanabe ve ark.'larının (2004) 597 sağlıklı hastane personeli ile yaptıkları çalışmada ise 119 birey (% 20) ANA IIF testinde pozitif sonuç vermiştir. 119 ANA pozitif bireyden 69'u (tüm grubunun %12'si , ANA IIF pozitiflerin % 58,0'i) Anti DFS70 boyanma şekli göstermiştir. Watanabe ve ark.'ları (2004) aynı zamanda Anti DFS70 pozitifliği gösteren serum örnekleri ile yaptıkları immunblot çalışmasında yaklaşık 70 kDa civarında band oluşumunu saptamışlardır. Bizzaro ve ark.'larının (2007) 20 kan donörü ile yaptıkları çalışmada örneklere ait tüm sonuçlar negatif bulunmuştur. Okamoto ve ark.'ları (2004), Alopecia areata ve sağlıklı kontrol bireylerinde yaptıkları taramada ise 105 sağlıklı birey kullanmışlardır. 105 sağlıklı bireyden 8'i (%7,6) Anti-DFS 70 boyanma şekli göstermiştir. Ayrıca bu çalışmalarında Anti-DFS 70 pozitif sonuç veren 8 bireyden 5'i kadın, 3'ü ise erkektir ve DFS 70 pozitif kadın sayısı erkeklerden yüksek olarak bulunmuştur.

Daniels ve ark.'ları (2005), 207 prostat kanserli erkek birey, 166 prostat kanserli olmayan sağlıklı erkek birey ve 82 erkek kan donörü kullanarak, bu bireylerde DFS70 (LEDGF/p75) antijeninin ekspresyon yüzdesini ve DFS 70 otoantikörünün varlığını saptamayı amaçlamışlardır. 166 sağlıklı erkek bireyin %24'ü ANA IIF pozitifliği gösterirken, bu 166 bireyden 7'si (Sağlıklı bireyler içinde % 4,21 , ANA IIF pozitifliği içinde %17,5) DFS-70 pozitifliği göstermiştir. Çalışmadaki 44 erkek

kan donörünün 2'si yani % 4,5'i ANA IIF pozitifliği gösterirken, bu ANA pozitiflikleri içinde DFS 70 pozitifliği gösteren birey sayısı 1 (kan donörleri içinde %2,3, ANA IIF pozitifliği içinde % 50) dir. Daniels ve ark.'larının (2004) kan donörlerinde saptadıkları DFS70 pozitif oranı %2,3 iken, biz kan donörlerinde %1,9 DFS70 pozitifliği yakaladık ve iki çalışmanın sonuçlarının yakın olduğunu gördük.

Kontrol grubunda (sağlıklı bireylerde) elde ettiğimiz sonuçlar, diğer çalışmaların sonuçları ile karşılaştırıldığında, elde ettiğimiz %1,9'luk DFS-70 pozitiflik oranının diğer araştırma sonuçlara göre düşük olduğu görülmektedir. Daniels ve ark.'larının (2005) erkek kan donör grubunda elde ettikleri Anti DFS70 pozitiflik oranı (%2,3), araştırmamızda ki kan donörü grubunda görülen DFS70 yüzdesine (%1,9) yakındır. Araştırma sonuçları arasındaki bu farklılığın, çalışmalarda kullanılan kontrol gruplarının farklı etnik kökenlerden olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Watanabe ve ark.'larının (2004), 597 sağlıklı hastane çalışanı ile yaptıkları araştırma sonucunda, sağlıklı hastane çalışanlarının %12'sinde Anti-DFS 70 pozitif sonuç elde edilmiştir . Çalışmadaki hastane personeli; hemşireler, doktorlar, ofis çalışanlarından oluşmaktadır. Sağlıklı hastane çalışanlarında bu kadar yüksek oranda Anti DFS70 otoantikoru (ve diğer otoantikorların) yüzdesine rastlanmasındaki nedenlerden birinin, hastane personelinin çalışma ortamlarından kaynaklı kimyasal maddelere maruz kalmalarından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Okamoto ve ark.'larının (2004), Alopecia areata'lı hastalarda Anti-DFS 70 taraması yaparken oluşturdukları sağlıklı birey grubunda, Anti-DFS 70 pozitifliği %7,6 iken, Daniels ve ark.'larının (2005), yaptığı araştırmada, prostat kanserli olmayan sağlıklı bireylerde Anti-DFS 70 oranı % 4,2 , aynı çalışmanın erkek kan donörlerinde ise bu oran %2,3 dür. Bu oranlar yine araştırmamızda elde ettiğimiz kontrol grubu, DFS 70 pozitiflik oranından fazladır. Araştırmamızda oluşturduğumuz kontrol grubu erkek bireylerinin Anti-DFS 70 pozitiflik oranı %1,5 dir ve Daniels ve ark.'larının (2005), araştırmasına göre daha düşük oranda bulunmuştur.

Muro (2001), Atopik Dermatitli hastaların çoğu zaman IgE antikor ürettiğini ama IgG sınıfı antikor üretiminin de bazen olabildiğini ve üretilen bu IgG antikorlarının bir kısmında DFS-70 otoantikoru olduğunu ileri sürmüştür.

Araştırmamızda, 18 bireyden oluşan Skleroderma hasta grubunda Anti DFS70 otoantikoru rastlanmamıştır. Ochs ve ark.'ları (2000), 40 bireyden oluşan skleroderma hasta grubunda yaptıkları IIF ve blot çalışmalarında, 1 bireyde (%2,5) DFS 70 pozitifliği yakalamışlardır. Aynı şekilde sklerodermalı 50 hastadan oluşan bir grupta IIF ve blot çalışması yapan Watanabe ve ark.'ları (2004), 50 sklerodermalı bireyden hiçbirinde DFS-70 otoantikoru saptayamamışlardır. Bu iki çalışma da, araştırmamızdaki skleroderma hasta grubunda elde ettiğimiz sonuç ile uyumluluk göstermektedir ve DFS 70 otoantikorunun skleroderma hastalık grubunda yüzdesinin düşük olduğu veya hiç olmadığı görülmektedir.

Çalışmamızda 67 bireyden oluşan SLE hasta grubunda ve 31 bireyden oluşan RA'lı hasta grubunda, Anti- DFS 70 otoantikoru rastlanmamıştır. Aynı şekilde Ochs ve ark.'ları (2000), 36 SLE'li hastada yaptıkları IIF ve blot çalışmalarında da Anti-DFS 70 otoantikoru rastlamamıştır. Watanabe ve ark.'larının (2004), 55 SLE'li hasta ile yaptıkları IIF ve blot çalışmasında yalnızca 1 hastada (%2,0) Anti-DFS 70 otoantikoru rastlanmıştır. Yine Ochs ve ark.'larının (2000) 30 RA'lı hastada yaptıkları çalışmada Anti- DFS 70 otoantikoru rastlanmazken, Watanabe ve ark.'larının (2004), 40 RA'lı hasta ile yaptıkları çalışmada yine DFS 70 otoantikoru rastlanmamıştır. Her iki araştırmacı grubunda SLE ve RA'lı hasta gruplarında elde ettikleri sonuçlar, bizim SLE ve RA'lı hasta gruplarındaki IIF çalışmasında elde ettiğimiz sonuçlar ile uyumluluk göstermektedir ve DFS 70 otoantikorunun yüzdesinin bu hastalık gruplarında düşük olduğu veya hiç olmadığı görülmektedir.

Anti DFS-70 otoantikörünün geniş çaplı bir taraması şüana kadar Türk toplumunda yapılmamıştır. Çalışmamız ile birlikte, Türk toplumunda ilk defa Anti-DFS 70 otoantikörünün taraması yapılmıştır ve klinik önemi saptanmaya çalışılmıştır.

Ülkemizde Tutkak ve ark.'larının (2008), 2. Akdeniz Klinik İmmünoloji Toplantısındaki tebliğlerinde, 4 aylık bir süre içinde 7855 adet serum örneği ANA IFA sonucu değerlendirilmiştir. 7855 örneğin %15,7'si ANA pozitif olarak değerlendirilirken %84,3'ü ise ANA IIF açısından negatif olarak değerlendirilmiştir. Bu grupta Anti DFS-70 otoantikörü 4. en sık rastlanılan boyanma şekli olup, %5,8 oranında saptanmıştır. Anti DFS-70 pozitif kadın oranı yine bu çalışmada da Anti DFS-70 pozitif erkek oranından fazla olarak bulunmuştur ve tez çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçla uyumluluk göstermiştir (Tutkak ve ark, 2008).

Bu çalışmada elde edilen Anti DFS-70 pozitif oranı (%5,8), tez çalışmamızda elde ettiğimiz orandan (%1,9) yüksektir. Bunun sebebi olarak test edilen kontrol grubunun farklılığına işaret edebiliriz. Tebliğ, rutin ANA tarama testi isteği ile laboratuara başvuran bireylerde oluşurken, tez çalışmamızdaki 536 sağlıklı birey, kan bankası donörüdür. Bu da toplumun farklı kesimlerinde elde edilecek bulguların farklı olabileceğini bize göstermektedir.

Anti DFS-70 otoantikörünün, kadın bireylerde, erkeklere oranla daha yüksek bulunmasının sebebini ise kadınların erkeklere göre daha duyarlı olmaları veya gebelik gibi antijenik uyarıya yol açan durumları daha fazla yaşamalarının neden olduğunu düşünmekteyiz.

DFS70 antijeninin moleküler ağırlığının saptanabilmesi için birçok araştırmacı blot testi çalışma yapmıştır. Okamoto ve ark.'ları (2004) ve Watanabe ve ark.'ları (2004), bu antijenin moleküler ağırlığını yaklaşık 70 kDa olarak gösterirken, en son yapılan çalışmalar, bizim Hep-2 WesternBlot test sonucumuzu doğrular şekilde, antijenin moleküler ağırlığının yaklaşık 74 kDa olduğunu göstermiştir (Dellavance ve ark.'ları,

2005; Daniels ve ark.'ları, 2005; Sugiura ve ark.'ları, 2007). Anti DFS70 pozitif hastaların Hep-2 WB çalışmasında saptadığımız, 27-32 kDa moleküler ağırlığı civarındaki çift band oluşumu ve yaklaşık 11-12 kDa civarında saptadığımız bandlar diğer araştırmacıların çalışmalarında saptanmamış veya çalışma sonuçlarında bu bulgulara yer verilmemiştir.

Sonuçta, Hep-2 WB testinde elde ettiğimiz sonuçlar, diğer araştırmacıların bulgularına paralellik gösterdi ve DFS70 antijeninin moleküler ağırlığının yaklaşık 75 kDa olduğu düşüncesini kuvvetlendirdi.

## 5 SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamız sonucunda, Anti DFS 70 otoantikoruna sadece kontrol grubunda saptanmıştır ve kontrol grubundaki (sağlıklı bireylerdeki) oranı %1,9dur. SLE, RA ve skleroderma hasta gruplarında, yani bazı sistemik otoimmün hastalık gruplarında, Anti DFS70 otoantikoruna rastlanmamıştır ve bu durum DFS70 otoantikorunun, otoimmün hastalık şüphesinden uzaklaştırıcı özelliğini güçlendirmiştir. Kan bankasından rastgele toplanan serumların, gelişmişlik düzeyi ve yaşam çevresi koşulları bilinmemektedir. Anti-DFS 70 pozitifliğinin düşük oranda saptanması yaşam koşullarıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir. Toplumun gelişmişlik düzeyi, çevresel etkenler ve stres bireyde otoantikor oluşmasına neden olabilir (Stojanovich, 2009) ve buna bağlı olarak otoimmün hastalıklarda artış olabilir. Ayrıca gıdalardaki katkı maddeleri, temizlik malzemelerinin içerdiği kimyasallar veya kozmetik ürünler bile otoimmün hastalıkların ve dolayısı ile otoantikor üretiminin artmasına neden olabilir. Bu nedenle toplumun farklı kesimlerinden alınacak örneklerle yapılacak çalışmalarla konu daha iyi bir şekilde aydınlatılabilir.

Şu ana kadar yapılan araştırmalar sonucunda, bir taraftan DFS70 otoantikorunun sağlıklı bireylerde daha sık rastlandığı ve doğal bir otoantikor olabileceği, aynı zamanda bu otoantikor pozitifliğinin, sistemik otoimmün hastalık şüphesinin göz ardı edilmesini sağladığı düşünülürken, diğer bir yandan Atopik Dermatit (AD), AD-katarakt, astım ve intersistiyel sistit ve Vogt-Harada sendromu gibi hastalıklardaki DFS70 otoantikoruna sıkça rastlanmasından söz edilmiştir (Ganapathy ve Casiano, 2003) ve bu sebeple bu noktada göz ardı edilmemelidir. Bu belirsizliği netleştirmek ise Anti- DFS70 otantikoru ile ilgili araştırmaları genişleterek ve farklı ülkelerde, farklı etnik gruplarla çalışma yaparak mümkün olacaktır. Araştırmalar sırasında tek bir test tekniğine bağlı kalmaksızın, farklı yöntemler kullanarak, yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar elde edilmesi engellenebilir.

## ÖZET

### **Sistemik Otoimmün Romatolojik Hastalıklarda ve Sağlıklı Bireylerde DFS70 Otoantikoları**

Bu çalışmamızın amacı, rutin Anti Nükleer Antikor (ANA) indirekt immün floresan (IIF) çalışmalarında sıklıkla saptanmaya başlanan ama hakkında çok fazla araştırma yapılmamış olan Anti dense fine speckled 70 (Anti DFS-70) otoantikörünün, diğer bir adı ile Anti LEDGF/p75, Türk toplumundaki görülme sıklığını araştırmaktır. Elde edilen sonuçlar ışığında bu otoantikörün olası öneminin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Anti DFS-70 otoantikörünün ANA IIF tarama testinde oluşturduğu boyanma şekli; mitotik hücrelerin kromozomunun ve interfazdaki nükleusun yoğun ince benekli boyanması şeklindedir.

Anti DFS-70 otoantikörü, diğer araştırmacılar tarafından; Alopecia aerata, astım, sistit, prostat kanseri, atopik dermatit ve sağlıklı bireylerden oluşan gruplarda araştırılmıştır. Yaptığımız araştırmayla birlikte Anti DFS-70 otoantikörü, Türk toplumunda da geniş çaplı olarak araştırılmış olmuştur.

Çalışmamızda 536 bireyden oluşan kan donörü kontrol grubu olarak; otoimmün hastalık grubu olarak; 63 SLE tanılı birey, 18 Skleroderma tanılı birey ve 31 RA tanılı birey kullanılmıştır. ANA IIF testinde, Anti DFS-70 pozitif sonuç veren örnekler, Hep-2 WB testinde ayrıca çalışılmıştır. ANA IIF testinde, Anti DFS-70 pozitif sonuç veren tüm örnekler, WB testinde yaklaşık 75 kDa civarında band oluşturmuştur.

Elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak, Anti DFS-70 otoantikörünün sağlıklı bireylerde, otoimmün hastalıklı bireylere göre daha sık görüldüğü, Anti DFS-70 otoantikörünün varlığının, sistemik otoimmün hastalıklar ihtimalinden uzaklaştırdığı düşünülmüştür.

**Anahtar Sözcükler:** DFS-70, LEDGF, Otoantikör, Sistemik Otoimmün Hastalıklar, Yoğun İnce Benekli Boyanma

## SUMMARY

### **DFS 70 Autoantibodies In Systemic Autoimmun Rheumatological Diseases and In Turkish Healty Individuals**

Purpose of this study is to investigate the incidence of Anti DFS-70 autoantibody, in the other name LEDGF/p75, in Turkish population because this pattern is started to be common in routine ANA IIF tests but there isn't too much research about this autoantibody. With the results we had, we goal to evaluate importance of this autoantibody.

Anti DFS-70 autoantibody gives a staining model like; dense fine speckles in mitotic cell chromosomes and nucleus of cells in interphase stage in ANA IIF test.

Anti DFS-70 autoantibody investigated in Alopecia areata, asthma, interstitial cystitis, prostate cancer, atopic dermatitis and healthy people by other investigators. With our research, DFS 70 autoantibody is investigated in Turkish population.

In our study we created groups as; 536 healthy blood bank donors, 63 SLE patient, 18 scleroderma patients and 31 rheumatoid arthritis. Positive Anti DFS-70 samples in ANA IIF test, also tested in Western Blot test. As we expected, we found that all DFS-70 positive samples gave a band around 75 kDa.

Based on our results, we can think that DFS-70 autoantibody is more common in healthy controls than systemic autoimmune disease groups and the presence of DFS-70 autoantibody, changes direction away from systemic autoimmune disease possibility.

**Key Words:** autoantibody, dense fine speckled, DFS70, LEDGF/p75, systemic autoimmune diseases

## KAYNAKLAR

- ABBAS, A. K., LICHTMAN, A. H. Çeviri editörleri Camcıoğlu, Y., Deniz, G. (2007). Temel İmmünoloji İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları. I. Baskı. İstanbul Medikal Yayıncılık. Bölüm 1.
- ABOYUSSEF, M. (2004). The value of the anti-nuclear antibodies (ANA). *ASJOG*; **1**: 68-71. 12.
- AYDINTUĞ, O.T. (2005). Sistemik Otoimmün Hastalıklarda Otoantikör Testlerinin Tanısal Önemi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Otoimmünite Ve Otoimmün Hastalıklar Sempozyumu, Özet Kitabı. s.: 83-84.
- APPLEBY, B. (2007). Are Anti-Nuclear Antibodies Common in Affective Disorders? A Review of the Past 35 Years. *Psychosomatics 2007*; **48**:286-289.
- BAGNASCO, M., GRASSIA, L., PESCE, G. (2007). The management of the patient with unexpected autoantibody positivity. *Autoimmunity Reviews*, **6**: 347 - 353.
- BIZZARO, N. (2007). Autoantibodies as predictors of disease: the clinical and experimental evidence. *Autoantibody Reviews*, **6**: 325-333.
- BIZZARO, N., TONUTTI, E., VISENTINI, D., ALESSIO, MG., PLATZGUMMER, S., MOROZZI, G., ANTICO, A., VILLALTA, D., PILLER-RONER, S., VIGEVANI, E. (2007). Antibodies to the lens and cornea in anti-DFS70-positive subjects. *Ann N Y Acad Sci.*, **1107**: 174-83.
- BURNESTER, G., PEZZUTTO, A. (2006). Renkli İmmünoloji Atlası. Nobel Tıp Kitabevleri, s.:182,183

CHAN, E. K. L., FRITZLER, M. J., WIJK, A., ANDRADE, LUIS E.C., REEVES, W. H., TINCANI, A., MERONI, P. L. (2007). AutoAbSC.Org -- Autoantibody Standardization Committee in 2006. *Autoimmun Reviews*, **6(8)**: 577-80.

DAMOISEAUX, J. G. M. C., TERVAERT, J. W. C. (2005). From ANA to ENA : How to proceed? *Autoimmunity Reviews*, **5**: 10-17.

DANIELS, T., ZHANG, J., GUTIERREZ, I., ELLIOT, M. L., YAMADA, B., HEEB, M. J., SHEETS, S. M., WU, X., CASIANO, C. A. (2005). Antinuclear autoantibodies in prostate cancer: Immunity to LEDGF/p75, a survival protein highly expressed in prostate tumors and cleaved during apoptosis. *The Prostate*, **62(1)**: 14-26.

DELLAVANCE, A., VIANA, V. S. T., LEON, E. P., BONFA, E. S. D. O., ANDRADE, L. E. C., LESER, P. G. (2005). The clinical spectrum of antinuclear antibodies associated with the nuclear dense fine speckled immunofluorescence pattern. *The Journal of Rheumatology*, **32(11)**: 2144-9.

DOĞU, F. (2005). Sistemik Otoimmün Hastalıklarda Otoantikör Testlerinin Tanısal Önemi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Otoimmünite Ve Otoimmün Hastalıklar Sempozyumu, Özet Kitabı. s:23.

DUBE, S. A., FAIRWEATHER, D., PEARSON, W. S., FELITTI, V. J., ANDA, R. F., CROFT, J. B. (2009). Cumulative childhood stress and autoimmune diseases in adults. *Psychosom Med* 2009, **71**: 243-50.

ELKON, K., CASALI, P. (2008). Nature and functions of autoantibodies. *Nature Reviews Rheumatology*, **4(9)**: 491-498.

FRITZLER, M. J. (2008). Challenges to the use of autoantibodies as predictors of disease onset, diagnosis and outcomes. *Autoimmunity Reviews*, **7(8)**: 616-20.

- GANAPATHY, V., CASIANO, C. A. (2004). Autoimmunity to the nuclear autoantigen DFS70 (LEDGF): what exactly are the autoantibodies trying to tell us? *Arthritis & Rheumatism*, **50(3)**: 684-688.
- GANAPATHY, V., DANIELS, T., CASIANO, C. A. (2003). LEDGF/p75: a novel nuclear autoantigen at the crossroads of cell survival and apoptosis. *Autoimmunity Reviews* **2**: 290-297.
- GLEICHER, N., BARAD, D., WEGHOFER, A. (2007). Functional Autoantibodies, a new paradigm in autoimmunity? *Autoimmunity Reviews* (2007), **7**: 42-45.
- HERRMANN, M., SCHÖLMEIER, J., STRAUB, R. H. (2000). Stress and Rheumatic Diseases. *Rheumatic Diseases Clinic of North America* (2000) November, **26(4)**: 737-63, viii.
- HOFFMAN, I. E. A., PEENE, I., VEYS, E. M., KEYSER, F. D. (2002). Detection of Specific Antinuclear Reactivities in Patients with Negative Anti-nuclear Antibody Immunofluorescence Screening Tests. *Clinical Chemistry*, **48(12)**: 2171-2176.
- HONG, H. S., CHUNG, W. H., HUNG, S. I., CHEN, M. J., LEE, S. H., YANG, L. C. (2003). Clinical Association of Anti-Golgi Autoantibodies and their Autoantigens. *Scandinavian Journal of Immunology*, **59**: 79-87.
- KAVANAUGH, A., TOMAR, R., REVEILLE, J., SOLOMON, DH., HOMBURGER, H.A. (2000). Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **124**: 71-81.
- LEROY, E. C., BLACK, C. M., FLEISCHMAJER, R, et al. (1988). Scleroderma (Systemic sclerosis): Classification, subsets and pathogenesis. *Journal of Rheumatology* 1988, **15**: 202-205.

- MURO, Y. (2001) Autoantibodies in atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Science*, **25(3)**: 171-178.
- MURO, Y. (2005). Antinuclear antibodies. *Autoimmunity*, **38(1)**: 3-9.
- MURO, Y., OGAWA, Y., SUGIURA, K., TOMITA, Y. (2006). HLA-associated production of anti-DFS70/LEDGF autoantibodies and systemic autoimmune disease. *Journal of Autoimmunity*, **26**: 252- 257.
- MURO, Y., SUGIURA, K., MORITA, Y., TOMITA, Y. (2008). High concomitance of disease marker autoantibodies in anti-DFS70/LEDGF autoantibody–positive patients with autoimmune rheumatic disease. *Lupus*, **17(3)**: 171-176.
- OCHS, RL., MURO, Y., SI, Y., GE, H., CHAN, EK., TAN, E.M. (2000). Autoantibodies to DFS 70 kd/transcription coactivator p75 in atopic dermatitis and other conditions. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **105(6 Pt 1)**: 1211-20.
- OKAMOTO, M., OGAWA, Y., WATANABE, A., SUGIURA, S., SHIMOMURA, Y. (2004). Autoantibodies to DFS70/LEDGF are increased in alopecia areata patients. *Journal of Autoimmunity*, **23**: 257-266.
- PINCUS, T., CALLAHAN, L. F., (1994), How many patients meet classification criteria for rheumatoid arthritis? *Journal of Rheumatology 1994*, **21(8)**: 1385-9.
- SARKAR, K., MILLER, F.W. (2004). Autoantibodies as predictive and diagnosticmarker of idiopathic inflammatory myopathies. *Autoimmunity*, **37**: 291-294.

- SHOENFELD, Y., TOUBI, E. (2005). Protective autoantibodies. *Rheumatology Arthritis* 2005, **52**: 2599-606.
- SHOENFELD, Y., POLETAEV, A. B. (2005). Natural autoimmunity in physiology and pathology. 1st Moscow International Conference, Moscow, Russia, September 15-17, 2005, vol. 5. *Autoimmune Review* 2006, p. 357-63.
- SOLOMON, D. H., KAVANAUGH, A. J., SCHUR, P. H. (2002). Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. *Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research)*, **47(4)**: 434-444.
- STINTON, L. M., FRITZLER, M. J. (2007). A clinical approach to autoantibody testing in systemic autoimmune rheumatic disorders. *Autoimmunity Reviews*, **7**: 77-84.
- STOJANOVICH, L. (2009). Stress and autoimmunity. *Autoimmunity Reviews*, **9(5)**: A271-6.
- SUGIURA, K., MURO, Y., NISHIZAWA, Y., OKAMOTO, M., SHINOHARA, T., TOMITA, Y., USUKURA, J. (2007). LEDGF/DFS70, A major autoantigen of atopic dermatitis, is a component of keratohyalin granules. *Journal of Investigative Dermatology*, **127**: 75-80.
- TAN, E. M., COHEN, A. S., FRIES, J. F., MASI, A. T., MCSHANE, D. J., ROTHFIELD, N. F., SCHALLER, J. G., TALAL, N., WINCHESTER, R. J. (1982). The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatology* 1982, **25(11)**:1271-7.
- TOKGÖZ, G. (1997). Klinik İmmünoloji. Antıp A.Ş. Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınlar, No:19. Bölüm 9-10.

TUTKAK, H., KAYASU, D., AKBAY, S., ALPAN, F., OZDEMIR, F., et al. (2008). Anti-DFS70/LEDGF antibodies; one of the high incidence antinuclear assay. *2.nd Mediterranean Clinical Immunology Meeting Antalya- Turkey, Abstract book*, p:80-81.

WATANABE, A., KODERA, M., SUGIURA, K., USUDA, T., TAN, E. M., TAKASAKI, Y., TOMITA, Y., MURO, Y. (2004). Anti-DFS70 Antibodies in 597 Healty Hospital Workers. *Journal of Autoimmunity*, **26(4)**: 252-257.

VILLALTA, D., TOZZOLI, R., TONUTTI, E., BIZZARO, N. (2007). The laboratory approach to the diagnosis of autoimmune diseases: Is it time to change? *Autoimmunity Reviews*, **6**: 359-365.

## ÖZGEÇMİŞ

### I. Bireysel Bilgiler

**Adı** Duygu

**Soyadı** Kayasü

**Doğum yeri ve tarihi** Ankara, 28 Kasım 1983

**Uyruğu** T.C.

**Medeni durumu** Bekar

**Askerlik Durumu**

**İletişim adresi ve telefonu** Doğukent Bulvarı Bahakent Sitesi E blok

No:31 Sancak- Ankara, (0312) 4419332

### II. Eğitimi

**2007-2010** Yüksek lisans ; Ankara Üniversitesi ,

Sağlık Bilimleri Enstitüsü , İç Hastalıklar A.B.D

Diyagnostik İmmünoloji B.D. (MD)

**2002-2007** Biyoloji Bölümü ,Hacettepe Üniversitesi (Ankara)

**1994-2001** Özel Arı Koleji , ANKARA

**Yabancı dili** İngilizce

**III. Ünvanları** Biyolog

### IV. Mesleki Deneyimi

**2008/ Eylül- 2010/ Nisan** Özmen Tıbbi Lab. Teş. A.Ş.

Pozisyon: Satış ve satış sonrası destek, Ankara Bölgesi Teknik Servis Hizmeti

### VII. Bilimsel Etkinlikleri

**2007/Ekim** 9. Düzen Laboratuvarlar Grubu

Biyokimya Günleri

**2008/Mayıs 1-4** I. Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiği Kongresi

**2008/Mayıs 1-4** A'dan Z'ye HLA Kursu