



T.C.

BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**ANTİ NÜKLEER ANTİKOR POZİTİFLİĞİ BULUNAN HASTALARDA OTO
ANTİKORLARIN VE HEMATOLOJİK PARAMETRELERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Sinan YILDIRIM

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Muharrem KISKAÇ

İSTANBUL-2020

T.C
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**ANTİ NÜKLEER ANTİKOR POZİTİFLİĞİ BULUNAN HASTALARDA OTO
ANTİKORLARIN VE HEMATOLOJİK PARAMETRELERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Sinan YILDIRIM

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Muharrem KISKAÇ

İSTANBUL-2020

TEZ ONAY FORMU

Kurum: Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi

Programın seviyesi: Yüksek Lisans () Doktora ()

Anabilim Dalı: İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez Sahibi: Sinan YILDIRIM

Tez Başlığı: Anti Nükleer Antikor Pozitifliği Bulunan Hastalarda Oto Antikorların Ve Hematolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi

İmza

Jüri Bşk. (Danışman)

Doç Dr Muharrem KISKAÇ

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Üye

.....

Üye

.....

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıda belirtilen jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

BEYAN

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi, bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr. Sinan YILDIRIM

İstanbul-2020

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri ile yol gösteren, asistanlığım sürecinde her anlamda destek olan, motive eden, tezimin her aşamasında yardımcı olan sayın Doç. Dr. Muharrem Kısaç'a öncelikle şükranlarımı sunarım.

Mesleki anlamda en iyisini yapabilmek için bilgi ve deneyimleriyle bize yol gösteren, çalışma disiplini ve azmiyle örnek olan saygıdeğer rektör hocamız Prof. Dr. Rümeyza Kazancıoğlu'na, asistanlığımız sürecinde bize her anlamda destek olan anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Hacı Mehmet Türk'e, uzmanlık eğitimimde tecrübelerinden faydalandığım Prof. Dr. Ertuğrul Taşan, Prof. Dr. Özcan Karaman, Prof. Dr. Hakan Şentürk, Prof. Dr. Ali Tüzün İnce, Prof. Dr. Meltem Gürsu, Doç. Dr. Güven Çetin, Doç. Dr. Pınar Soysal, Dr. Öğr. Üyesi Ali Eser, Doç. Dr. Mehmet Zorlu, Doç. Dr. Mustafa Çakırca, Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Adil Çamlı'ya ve dahiliye uzmanlarımıza sonsuz teşekkür ederim.

Tecrübeleriyle ve bilimin ışığıyla yol gösteren, ihtiyaç duyduğum her konuda yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Mesut Şeker, Doç. Dr. Ömer Celal Elçioğlu ve Doç. Dr. Cumali Karatoprak'a teşekkürü borç bilirim.

Çalışma sürecimde tecrübeleri ile benden desteklerini esirgemeyen Sağlık Yöneticisi Abdulselam Mentеш ve Sağlık Hukukçusu Mehmet Doğukan Ağdemir'e teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık eğitimim boyunca her zaman destek olan, her biriyle birbirinden farklı ve güzel hatıralar biriktirdiğim asistan arkadaşlarıma ve yan dal uzmanlarımıza teşekkür ederim.

Eğitim hayatı boyunca bana desteklerini her daim çok yakından hissettiren aileme çok teşekkür ederim.

Dr. Sinan YILDIRIM

ANTİ NÜKLEER ANTİKOR POZİTİFLİĞİ BULUNAN HASTALARDA OTO ANTİKORLARIN VE HEMATOLOJİK PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Giriş ve Amaç: Sistemik otoimmün hastalıkların toplumdaki sıklığı %1 ila 2 arasında olup önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir. Bu nedenle sistemik otoimmün hastalıkların erken tanısı önem taşımaktadır. Sistemik otoimmün hastalıkları destekleyen klinik bulguları olan hastalarda tanısız amaçlı, şüpheli klinik bulguları olan hastalarda ise bazı hastalıkları dışlamak için ve otoimmün hastalığı olan hastaları sınıflandırmak için ANA testi yapılması faydalıdır. HEp-2 hücreleri kullanılarak gerçekleştirilen indirekt immünfloresan (IIF) yöntemi, ANA saptanmasında kullanılan en duyarlı ve altın standart yöntemdir. ANA testinin sonuçlarında titre ve boyama modeli önem taşımaktadır. Güncel kılavuzlar sistemik otoimmün hastalık tanısı için ANA sınır değeri olarak 1/160 titreyi öngörmektedir. ANA testinin yüksek titrede bulunması, otoimmün hastalık açısından uyarıcıdır ancak tek başına tanı koydurucu değildir. IIF testi ile ANA pozitifliği saptanan hastalarda, antijen tipinin ortaya çıkarılması ve IIF testinin doğrulanması amacıyla; immüno blot ve ELISA testi önerilmektedir. Çalışmamızın amacı; ANA pozitif bulunan hastaların, ANA titresinin değerlendirilmesi, ANA boyanma paternlerinin belirlenmesi ve ANA subtiplerinin tayini ile birlikte ANA titrelerine göre sitopeni gelişme ihtimalinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Yöntem: Bu çalışmamıza, IFA yöntemi ile çalışılan ANA testi 1/160 titre ve üstünde pozitif saptanan 622 hasta dahil edilmiştir. Anti-ds DNA ve ENA profili (SS-A, SS-B, SCL-70, anti-SM, SM-RNP, anti-sentromer, ENA nükleozomu, anti-ribozomal-P protein) içerisinde en az 3 ANA subtipi çalışılan 18 yaş üzeri kişilerin sonuçları retrospektif olarak taranmıştır. Hastaların demografik ve laboratuvar verileri ile ANA titre ve paternleri karşılaştırılmıştır.

Bulgular: ANA pozitif saptanan 622 hastanın, 539 (%86,7)'u kadın, 83 (%13,3)'ü erkek idi. Hastaların yaş ortalaması 46,7 saptanmıştır. Bu hastaların 565 (%90,8)'i nükleer patern, 56 (%9)'sı sitoplazmik patern ve 1 (%0,16)'i mitotik boyanma paterni göstermiştir. 168 kişide (%27) 1/160 titre, 153 kişide (%24,5) 1/320 titre, 101 kişide (%16,2) 1/640 titre, 79 kişide (%12,7) 1/1280 titre ve 121 kişide (%19,4) 1/2560 titre saptanmıştır. 1/640 ve üzerindeki titreler ile 1/640 altındaki titreler karşılaştırıldığında, hemoglobin, lökosit, trombosit, kreatinin, AST, ALT, CRP, Anti-TG, Anti-TPO, C3 ve C4 değerleri ile anlamlı bir ilişki

bulunmamıştır. ANA titresi ile sedimentasyon, RF ve AMA ile pozitif yönlü korelasyon saptanırken lökosit, hemoglobin ve C3 ile negatif yönlü korelasyon saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmamızda ANA pozitifliği kadınlarda daha sık saptanmıştır. Yaş dağılımı literatürle uyumlu olarak 46,7 saptanmıştır. ANA titresi arttıkça sistemik otoimmün hastalıklar daha sık görülmektedir. Çalışmamızda en sık IFA boyanma paterni olan nükleer homojen ve ince benekli boyanmalar bulunmuştur. En sık saptanan ANA subtipleri ise SSA ve SSB idi. Sistemik otoimmün hastalık düşünülen ve ANA pozitifliği bulunan hastalarda, immünblot ve ELISA yöntemi ile anti-dsDNA ve anti-ENA profili çalışmanın erken tanı ve hasta takibinde klinik olarak yararlı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: otoimmün hastalık, antinükleer antikor, IFA, ELISA



EVALUATION OF AUTO ANTIBODIES AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH ANTI-NUCLEAR ANTIBODY POSITIVE SUMMARY

ABSTRACT

Introduction and Aim: The prevalence of systemic autoimmune diseases in the population is between 1 and 2% and it is an important cause of morbidity and mortality. Therefore, early diagnosis of systemic autoimmune diseases is important. ANA test is useful for diagnostic purposes in patients with clinical findings supporting systemic autoimmune diseases, to exclude certain diseases in patients with suspicious clinical findings and to classify patients with autoimmune diseases. The indirect immunofluorescence (IIF) method using HEp-2 cells is the most sensitive and gold standard method used in ANA detection. The titer and staining pattern is important in the results of the ANA test. Current guidelines suggest 1/160 ANA titer as the main cut-off value for the diagnosis of systemic autoimmune disease. The high titer of ANA is cautionary for autoimmune disease, but it is not diagnostic tool by itself. In order to reveal the antigen type in patients with ANA positivity IIF test is suggested and to confirm the IIF test; Immunoblot and ELISA test are recommended. The purpose of our study; It was aimed to evaluate the risk of development of cytopenias according to ANA titers by evaluating the ANA titer, determining the ANA staining patterns, and evaluating the ANA subtypes in patients with ANA positive.

Method: In this study, 622 patients who were found to be positive for 1/160 titer and above ANA test, using IFA method were included. The results of people over the age of 18 with at least 3 ANA subtypes were studied among anti-ds DNA and ENA profile (SS-A, SS-B, SCL-70, anti-SM, SM-RNP, anti-centromere, ENA nucleosome, anti-ribosomal-P protein) were reviewed retrospectively. Patients demographic and laboratory data were compared with ANA titers and staining patterns.

Results: Out of 622 patients with ANA positive, 539 (86,7%) were female and 83 (13.3%) were male. The average age of the patients was found to be 46,7. 565 (90,8%) of these patients showed nuclear pattern, 56 (9%) showed cytoplasmic pattern and 1 (0,16%) mitotic staining pattern. Titer 1/160 in 168 subjects (27%), titer 1/320 in 153 subjects (24,5%), titer 1/640 in 101 subjects (16,2%), titer 1/1280 in 79 subjects (12,7%) and 1/2560 titer in 121 subjects (19,4%) was determined. When the titres of 1/640 and above were compared with the titers below 1/640, no significant relationship was found with the hemoglobin, leukocyte, thrombocyte, creatinine, AST, ALT, CRP, Anti-TG, Anti-TPO, CCP, C3 and C4 values. A

positive correlation was found between ANA titer and sedimentation, RF and AMA, while a negative correlation was found with leukocyte, hemoglobin and C3.

Conclusion: ANA positivity was found more frequently in women in our study. The age distribution was found to be 46.7, consistent with the literature. Systemic autoimmune diseases are more common as the ANA titer increases. Nuclear homogeneous and fine speckled staining, which is the most common IFA staining pattern, was found in our study. The most common ANA subtype was SSA and SSB positivity. It is thought that studying anti-dsDNA and anti-ENA profile with immunoblot and ELISA method will be clinically useful in early diagnosis and follow-up of patients with ANA positivity in patients with suspected systemic autoimmune disease.

Keywords: autoimmune disease, antinuclear antibody, IFA, ELISA

KISALTMALAR

μ : Mikron

μl: Mikrolitre

μm: Mikrometre

ACA: Anti sitoplazmik antikor

ACR: American College of Rheumatology

APA: Anti fosfolipid antikor

AIRE: Otoimmün düzenleyici gen

AMA: Anti mitokondriyal Antikor

ANA: Antinükleer Antikor

ANCA: Anti Nötrofil Sitoplazmik Antikor

Anti-CCP: Anti- Cyclic Citrullinated Peptide

Anti-hnRNP: Anti-heteronükleer ribonükleoprotein

Anti-SM: Anti-Smith

Anti- Tg: Anti Tiroglobulin Antikoru

Anti-TPO: Anti Tiroid Peroksidaz antikoru

APA: Antifosfolipid antikorlar

APC: Antijen sunucu hücreler

APS: Antifosfolipid Sendrom

APECED: Otoimmün poliendokrinopati, Kandidiyazis, Ektodermal distrofi

ASMA: Anti Smooth Muscle Antibody

BDH: Bağ Doku Hastalıkları

BCR: B Hücre Reseptörleri

CENP: Sentromer proteini

CLIFT: Crithidia luciliae substrat olduğu immün fiksasyon testi

CREST: Kalsinozis, Raynoud Fenomeni, Özefagal Dismotilite, Sklerodaktili, Telenjektazi

CRP: C reaktif protein

CTLA-4: Sitotoksik T lenfost ilişkili antijen-4

DcSSc: Diffuz kutenoz sistemik skleroz

DFS 70: Yoğun ince benekli

DIL: ilaçla indüklenmiş lupus

DLCO: Karbonmonoksit difizyon testi

DMARD: Hastalık modifiye edici antiromatizmal ilaç

DNA: Deoksi Ribonükleik Asit

DM: Dermatomyozit

dsDNA: Çift İplikli DNA

EBV: Ebstein Barr virus

EIA: Enzim İmmunoassay

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ENA: Ekstrakte Edilebilir Nükleer Antijen

FANA: Floresans ANA

FVC: Force Vital Kapasite

FOX-P3: Forkhead Box P3

HEp-2: İnsan epidermoid larinks karsinom hücreleri

HLA: İnsan Lökosit Antijenleri

IB: İmmünoblotting

ID: İmmündefüzyon

IDDM: İnsüline Bağlı Diabetes Mellitus

IIF: İndirek immün floresans

IFA: İndirekt Floresan Antikor

Ig: İmmunglobülin

IL: İnterlökin

ILD: İnterstisyel Lung Disease

IFN γ : İnterferon gama

IRMA: İmmünoradyometrik assay

IU: İnternasyonel ünite

kDa: kilodalton

LATS: Long- acting Thyroid Stimulator

LcSSc: limited kutanoz sistemik skleroz

LE: Lupus Eritematozuz

LEDGF: Lens epitelyum kaynaklı büyüme faktörü

LKM: Liver kidney mikrozomal

MCP: Metakarpofalangial eklem

MCTD: Miks Connective Tissue Disease

MDA-5: Melanom farklılaşması ile ilişkili protein-5

MHC: Major Histokompatibilite Kompleksi

MPA: Mikroskopik polianjitis

MPO: Miyeloperoksidaz

MS: Multipl skleroz

MTP: Metatarsofalangial

NLS: Neonatal lupus sendromu

NUMA: Nükleer mitotik aparat

PAH: Pulmoner arterial hipertansiyon

PCNA: oğalan hücre nükleer antijeni

PIP: Proksimal interfalangial eklem

PM: Polimyozit

PML: Promyelositik lösemi

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PR-3: Anti-proteinaz 3

PTPN-22: Protein tirozin fosfat nonreseptör tip-22

RA: Romatoid artrit

RF: Romatoid Faktör

RIA: Radyoimmün assay

RNA: Ribonükleik asit

RNP: Ribonükleoprotein

RPGN: Rapidly progresif glomerulonefrit

SCLE: Subakut kutanoz lupus eritematosus

SSA: Sjögren Sendrom A

SSB: Sjögren Sendrom B

SLE: Sistemik Lupus Eritematozus

SLICC: Systemic Lupus International Collaborating Clinics

SSc: Sistemik Sklerozis

SjS: Sjögren Sendromu

SRP: Sinyal tanıma partikülü

ssDNA: Tek İplikli DNA

tTG: Doku transglutaminazı

TIF-1: Transkripsiyonel aracı protein-1

TLR: Toll like reseptör

TCR: T Hücre Reseptörleri

TNF: Tümör Nekroz Faktör

UCTD: Undiferansiye Konnektif Doku Hastalığı

WG: Wegener granülomatozis



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY FORMU	I
BEYAN	II
TEŞEKKÜR.....	III
KISALTMALAR.....	VIII
İÇİNDEKİLER.....	XIII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XV
GRAFİKLER.....	XVI
TABLolar	XVI
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	- 1 -
2. GENEL BİLGİLER.....	- 1 -
2.1. Tarihçe	- 2 -
2.2. İmmünolojik Tolerans.....	- 2 -
2.2.1 T Hücre Toleransı.....	- 3 -
2.2.2 B Hücre Toleransı	- 3 -
2.3. Otoimmün Hastalığın Başlamasında ve Düzenlenmesinde Önemli Faktörler.....	- 4 -
2.3.1. MHC Kontrolü.....	- 4 -
2.3.2. Antijen Taklidi.....	- 4 -
2.3.3. Değiştirilmiş Proteinler	- 4 -
2.3.4. Posttranslasyonel Modifikasyon	- 4 -
2.3.5. Kovalent Modifikasyonlar.....	- 5 -
2.3.6. Proteinlerin Enzimle İşlenmesi	- 5 -
2.3.7. Düzensiz Proteinler.....	- 5 -
2.3.7. Sekestre Proteinler	- 5 -
2.3.8. Düzenleyici Proteinlerin Seviyesinde veya Aktivitesinde Bozulma	- 6 -
2.3.9. Yaşlanma	- 6 -
2.3.10. Doğal Otoantikörler.....	- 6 -
2.4. Otoantikörler	- 6 -
2.4.1 Anti Nükleer Antikör.....	- 7 -
2.4.2 ANA Boyanma Modellerinin Otoantikör ve Hastalık İlişkileri.....	- 9 -
2.4.3 ANA Subtipleri	- 22 -
2.4.4 Romatoid Faktör	- 25 -
2.4.5 Anti-CCP(siklik sitrülüne peptit) Otoantikörü	- 26 -
2.4.6 Anti-nötrofil Sitoplazmik Antikörler (ANCA).....	- 26 -
2.5 Otoantikör Tayininde Kullanılan Yöntemler	- 27 -
2.5.1 İmmüno Floresan Antikör(IFA) Testi	- 27 -

2.5.2 İmmünodiffüzyon	- 28 -
2.5.3 İmmünoblot.....	- 28 -
2.5.4 ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay)	- 29 -
2.6 Otoimmün Hastalıklar	- 29 -
2.6.1 Sistemik Otoimmün Hastalıklar	- 30 -
2.6.2 Organ spesifik otoimmün hastalıklar.....	- 36 -
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	- 37 -
3.1.Hasta Grubu	- 37 -
3.2 Yöntemler	- 37 -
3.3 İstatiksel Analiz	- 38 -
4.BULGULAR	- 39 -
5. TARTIŞMA	- 46 -
6.SONUÇLAR	- 52 -
7.KAYNAKLAR.....	- 53 -

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Nükleer homojen boyanma	- 11 -
Şekil 2: Nükleer ince benekli	- 11 -
Şekil 3: Nükleer kaba benekli boyanma.....	- 12 -
Şekil 4: Nükleer yoğun ince benekli (DFS70)	- 12 -
Şekil 5: Nükleolar homojen.....	- 13 -
Şekil 6: Nükleolar küme.....	- 13 -
Şekil 7: Nükleolar benekli boyanma	- 14 -
Şekil 8: Sentromer boyanma	- 14 -
Şekil 9: Sp100 nükleer nokta.....	- 15 -
Şekil 10: Nükleer az nokta(Cajal cisimciği).....	- 15 -
Şekil 11: Nükleer zarf boyanma modeli.....	- 16 -
Şekil 12: Nükleer por kompleks boyanma	- 16 -
Şekil 13: PCNA boyanma	- 17 -
Şekil 14: CENP-F boyanma	- 17 -
Şekil 15: NuMA1 boyama modeli.....	- 18 -
Şekil 16: NuMA2 boyama.....	- 18 -
Şekil 17: Mitoondriyal benzeri boyanma	- 19 -
Şekil 18: Sitoplazmik ince benekli boyanma	- 19 -
Şekil 19: Sitoskeletal boyama	- 20 -
Şekil 20: Sitoplazmik golgi boyanma	- 20 -
Şekil 21: Sitoplazmik büyük benekli boyanma	- 21 -
Şekil 22: Sitoplazmik homojen boyanma.....	- 21 -

GRAFİKLER

Grafik 1: Hastaların cinsiyet dağılımı	- 39 -
Grafik 2: Hastaların ortalama yaş dağılımı	- 39 -
Grafik 3: Hastaların patern dağılımı.....	- 40 -
Grafik 4: Hastaların titre dağılımı	- 40 -
Grafik 5: ANA pozitif hastaların oto antikor dağılımı.....	- 44 -

TABLolar

Tablo 1: Hastalıklara göre ANA pozitiflik oranları	- 39 -
Tablo 2: ANA (IFA) boyanma modellerinin otoantikor ve hastalık ilişkileri	- 39 -
Tablo 3: Oto antikor ve oto antijen ilişkili hastalıklar	- 40 -
Tablo 4: Oto antikor tayininde kullanılan yöntemler	- 40 -
Tablo 5: ANA pozitif organ spesifik ve sistemik otoimmün hastalıklar	- 44 -
Tablo 6: ANA titresi ile romatolojik ve hematolojik parametrelerin korelasyonu	- 44 -

1.GİRİŞ VE AMAÇ

İmmün sistem, vücudun dış etkenlere karşı savunulması ve vücudun varlığını devam ettirebilmesi için en önemli mekanizmalardan biridir. Bedenin işlevselliğini sürdürdürebilmesi için immün sistemin öz antijenlerle, yabancı antijenleri ayırt edebilmesi ve öz antijenlere karşı duysız kalması gerekir. İmmün sistemin öz antijenleri göz ardı etmesine immünolojik tolerans denir. İmmünolojik toleransın sağlanamaması ve immün sistemin vücudun öz antijenlerine karşı tepkisiyle oluşan tabloya otoimmünite adı verilir [1]. Otoimmünite gelişimini araştırmak için birçok çalışma yapılmış; genetik, hormonal, çevresel ve enfeksiyöz faktörlerin otoimmünite gelişiminde rol oynadığı anlaşılmıştır [3]. İmmün toleransın kaybolması, normalde kana karışmayan antikorların bariyerleri aşarak kana salınması, proteinlerin yapısında değişiklik olması gibi mekanizmalarla immünitenin tetiklenmesi otoimmüniteye neden olur.

[2,4]. Otoimmünite, popülasyona, demografik özelliklere ve kişiye göre değişebilir. Otoimmünite, etkilediği yer itibarıyla de farklı şekillerde olabilir. Tek bir organa özgü gelişebileceği gibi birden çok organı etkileyerek sistemik otoimmün hastalık da gelişebilir [1,2]. Otoimmün bozuklukların tanısı ve takibinde anti nükleer antikor (ANA) testi kullanılır ancak pozitif saptanması tek başına klinik olarak anlamlı değildir [5]. Sistemik lupus eritematosus (SLE) ve bağ doku hastalıklarında ANA pozitifliği %100'e yakınken [6] ANA testinin pozitif prediktif değeri bağ doku hastalıkları için %10'dan az, sistemik lupus eritematosus içinse %3'e kadar düşmektedir [5]. Bir çalışmada, ANA pozitif bulunan hastaların 10 yıllık takipleri sonucunda bağ doku hastalığının gelişim riskinin normal popülasyondan sık olduğu ancak bu verilerin ANA pozitif kişilerde ileride bir bağ doku hastalığı gelişeceğini kesin öngörmediği belirtilmiştir [7]. Bir başka çalışmada ise ANA'nın sitopenilerle ilişkisi araştırılmış ve anlamlı sonuçlara ulaşılmıştır [8].

Yukarıdaki bilgiler ışığında çalışmamızda ANA pozitif bulunan hastaların, ANA titresinin değerlendirilmesi, ANA boyanma paternlerinin belirlenmesi ve ANA subtiplerinin değerlendirilmesiyle birlikte sitopenilerin ANA titresine göre gelişme riskinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

İmmün sistemin temel görevi, bireyi zararlı dış etkenlerden korumak ve vücudun işlevlerini normal olarak sürdürdürebilmesini sağlamaktır. Ancak bazı durumlarda immün mekanizmaların

bireyin kendi doku ve organlarına karşı reaksiyon geliştirerek doku ve organların hasarlanmasına yol açtığı görülür. Vücudun kendi antijenlerine karşı immün reaksiyonlar geliştirmesine otoimmünite ve bunun sonucunda ortaya çıkan hastalıklara otoimmün hastalıklar denir. Sistemik otoimmün hastalığı olan hastaların serumlarında hücre elemanlarına karşı saptanan antikorlara otoantikor adı verilir [9]. Otoimmünite, hazırlayıcı genetik zeminde, self toleransın kaybolmasına yol açan birden fazla mekanizmanın karmaşık işbirliği ile oluşmaktadır. İmmün toleransın bozulmasıyla konağın kendi öz antijenlerine karşı oluşan otoantikorlar ve sitotoksik T lenfositleri aracılığıyla vücudun kendi hücre ve dokularına yönelik yıkıcı bir reaksiyon gelişir. Bundan dolayı doku ve organlarda hasara ve fonksiyon kaybına yol açarak sistemik lupus eritematosus (SLE), romatoid artrit (RA), insüline bağlı diabetes mellitus (IDDM), multipl skleroz (MS) ve sistemik sikleroz (SSc) gibi bir takım otoimmün hastalıklar gelişir [10].

2.1. Tarihçe

Otoantikorların oluşumlarına engel olmak için düzenleyici mekanizmaya ihtiyaç olduğu ilk defa 19. yy'da Erlich tarafından gündeme getirilmiştir. İmmün sistemin öz antijenlerine karşı tepki gösterdiğini ortaya atmış ve bu durum için horror autotoxicus (ototoksik dehşet) ifadesini kullanmıştır. Düzenleyici mekanizmaların otoantikor oluşumunu engellediği ya da toksik etkisini nötralize ettiğini savunmuştur. 1904'te Donath ve Landsteiner sifilizli hastalarda Donath-Landssteiner antikorunu göstermiştir [2]. Rivers ve arkadaşları tarafından 1933'te maymunlarda deneysel olarak otoimmün ensefalomyelit oluşturularak insanlarda demiyelinizan (multipl skleroz ve aşı sonrası ensefalomyelit) hastalıklara model olarak gösterilmiştir. Hargrave, Richmond ve Morton tarafından ilk kez 1948'de SLE hastalarında lupus eritematosus(LE) hücreleri tanımlanmış böylece 1950'lerden sonra antinükleer antikor (ANA) araştırmaları hız kazanmış ve 1954'de ANA terimi kullanılmaya başlanmıştır. ANA tanısında indirek immün floresan(IIF) yöntemi 1957'de kullanıma girmiş ve SLE tanısında LE hücre testine göre duyarlılığı daha yüksek bulunmuştur [11]. İmmünoglobulin G'nin yapısı 1969 yılında tanımlanmış ve birçok alanda halen güncelliğini sürdürmekte olan monoklonal antikorlara ilişkin teknikler 1975 yılında geliştirilmiştir. Organ naklinde taranan, insan lökosit antijeni (HLA) 1980'li yıllarda bulunmuştur [12].

2.2 İmmünolojik Tolerans

İmmünolojik tolerans, immün sistemin daha önceden karşılaşılan belirli bir antijene karşı duyarsız kalma durumudur [3].

2.2.1 T Hücre Toleransı

İmmün sistemimiz, yabancı antijenlere tepki göstermesine rağmen öz antijenlere tolerans gösterecek şekilde stratejiler geliştirmiştir. Efektör T hücresi, immün cevabı düzenleyen ana aktördür. Efektör T hücreleri, önceden sadece immün cevabı tetikleyen hücreler olarak bilirse de güncel çalışmalar hem edinsel hem de doğal immünitede negatif düzenleyici rollerini göstermiştir [13].

2.2.1.1 Santral T Hücre Toleransı

Merkezi T hücre toleransı, timusta gerçekleşir, sadece yabancı antijenleri tanıyan T hücrelerinin perifere dağılmasıyla birlikte kendi antijenlerine reaksiyon veren T hücrelerinin gelişimini tamamlayamamasıyla sonuçlanır. Timik epitelyal hücrelerin, yüksek aviditede T hücre reseptörü (TCR) ile majör doku uyumluluk kompleksi (MHC) oluşturarak apoptoza uğramasına negatif seleksiyon denir. Negatif seleksiyon, immün tolerans gelişimi için önemli bir mekanizma olmasına karşın %100 etkili bir sistem değildir [14].

2.2.1.2 Periferik T Hücre Toleransı

Timustaki delesyondan kurtulan ve periferde olgunlaşarak öz antijenlere karşı reaksiyon veren T hücrelerinin, yüzey reseptörleriyle kendi cevaplılığının kısıtlanması (anerji) veya düzenleyici T hücreleriyle efektör hücrelerin susturulması sonucunda periferik T hücre toleransı gelişir [15].

2.2.2 B Hücre Toleransı

Polisakkarit, lipid ve nükleik asit yapısındaki antijenlerin otoantikor yapımının engellenmesi için B lenfosit toleransı oluşturmaları gerekir. Kemik iliğinde B hücrelerinin gelişimi sırasında edinilen tolerans merkezi tolerans, periferik lenfoid dokularındaki otoreaktif B hücrelerinin olgunlaşmasını durduran mekanizmalar periferik tolerans olarak adlandırılır [16].

2.2.2.1 Santral B Hücre Toleransı

B hücresi, gelişiminin erken aşamasında B hücresi reseptörü (BCR) aracılığıyla otoreaktif hale gelir. B hücresi, reseptör düzenlenmesiyle BCR genlerini değiştirerek öz antijenlerine karşı duyarsız hale gelmesiyle veya otoreaktif B hücrelerinin kemik iliğinde klonal silme adı verilen bir işlemle ortadan kaldırılmasıyla birlikte santral tolerans kazanır [16].

2.2.2.2 Periferik B Hücre Toleransı

Merkezi toleranstan kurtulan otoreaktif B hücreleri, anerji olarak adlandırılan antijene yanıt vermeme durumuyla periferik tolerans kazanır [16].

2.3. Otoimmün Hastalığın Başlamasında ve Düzenlenmesinde Önemli Faktörler

Otoimmün hastalıklar, birçok moleküler ve hücrel mekanizmaları içerir. Bir otoimmün tepkinin başlamasına yol açan bir tek tetikleyici olsa bile otoimmün hastalıkların ortaya çıkması daha karmaşık bir süreçtir [17].

2.3.1. MHC Kontrolü

Otoimmün yanıtın yatkınlığının belirli HLA (Human Lökosit Antijeni) alelleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. HLA aleli, T hücrelerine antijen sunumu düzeyinde olaya dahil olur. HLA, uygun MHC varlığında, otoantijenin T hücrelerine sunulmasıyla otoantikor yanıtının meydana gelmesine sebep olur [17].

2.3.2. Antijen Taklidi

Otoimmün hastalıkların önemli bir tetikleyicisi, insanı enfekte eden mikroplar üzerindeki antijenlere karşı oluşan bağışıklık tepkileridir. İnsan proteinleri ile mikrop proteinleri arasında benzer dizi bölgelerinin bulunması, antijen taklidine sebep olur ve otoimmün hastalıkları tetikler. Sitokinler, aracı proteinler ve reseptörler gibi enfeksiyöz bir patojene bağışıklık tepkilerinde rol oynayan faktörlerdeki dengesizlik nedeniyle antijen taklidi gelişebilir [18].

2.3.3. Değiştirilmiş Proteinler

Bağışıklık sistemine toleransı olan proteinlerin değiştirilmesi otoimmün yanıtın neden olabilir. Değiştirilmiş gen ekspresyonu sonucunda oluşan protein mutasyonları, otoimmün yanıtı tetikleyen önemli antijen kaynağı sağlar. Otoimmün regülatör gen (AIRE)'de oluşan mutasyonlar, otoimmün poliendokrinopati, kandidiyaz ve ektodermal distrofi ile karakterize edilen APECED gelişiminden sorumludur [17].

2.3.4. Posttranslasyonel Modifikasyon

Öz proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonu otoantikor oluşumuna sebep olabilir. Örneğin, arginin deaminaz tarafından proteinlerdeki arjininin guanidinyum yan zincirlerinin sitrülasyonunun romatoid artrit patogeneğinde rol oynadığı gösterilmiştir [19].

2.3.5. Kovalent Modifikasyonlar

Öz proteinlerin kovalent modifikasyonu ile otoimmün yanıt gelişebilir. Oksidanların akut ve kronik inflamasyonda rol oynadığı bilinmektedir. Oksidanlar tarafından modifiye edilen tip II kollajen, romatoid artrit otoantijen olabilir [20].

2.3.6. Proteinlerin Enzimle İşlenmesi

Proteinlerin enzimle işlenmesi, otoimmün yanıtları tetikleyebilir. Örneğin çölyak hastalığı, HLA-DQ2 ve HLA-DQ8 ile ilişkilidir ve doku transglutaminazı (tTG) tarafından deamine edilen buğday gluteni alımından kaynaklanır [21].

2.3.7. Düzensiz Proteinler

Denatüre, düzensiz veya yanlış katlanmış öz proteinlere karşı bağışıklık yanıtı oluşabilir. Örneğin, ısı şok proteinleri ve diğer moleküler şaperonların işlevsel veya ekspresyon kusurları otoimmüniteyi tetikleyebilir [22].

2.3.7. Sekestre Proteinler

Daha önce immün sistem ile karşılaşmamış olan sekestre proteinler, travma gibi doku hasarına sebep olan bir olay sonucunda sistemik dolaşıma karışarak immün yanıtı neden olabilir.

2.3.7.1. Apoptoz

Bazı otoimmün bozukluklar apoptoz ile ilişkilendirilir. Apoptoz nedeniyle sitoplazma ve nükleer bileşenlerin ortaya çıkması, sitoplazma, hücre zarı ve çekirdeğin bileşenlerine karşı bağışıklık yanıtına neden olabilir [23].

2.3.7.2. Proteazomlar

Proteazom, hasarlı ve yanlış katlanmış proteinleri parçalayan, çekirdek ve sitoplazmada bulunan büyük protein kompleksidir. Proteazom kusurunun tip 1 diyabette rol oynadığı bildirilmiştir [24].

2.3.7.3. Nükleozomlar

Nükleozomlar, DNA(Deoksiribo Nükleik Asit)'yı hücre çekirdeğindeki kromozomlara paketler ve gen ekspresyonunu kontrol ederler. DNA ve dört çift histondan oluşurlar. Histon H2A, H2B, H3 ve H4 nükleozomun bir parçasıyken histon H1 ise iki nükleozom arasındaki bağlayıcı DNA'dır. Normalde bağışıklık sisteminden sekestre edilen nükleozomlar, bağışıklık

hücrelerine maruz kaldıklarında immünojenik hale gelebilir ve özellikle SLE'de otoimmüniteyi indükleyebilir [25].

2.3.8. Düzenleyici Proteinlerin Seviyesinde veya Aktivitesinde Bozulma

Bağışıklık sistemi, karmaşık hücrel ve moleküler etkileşimler tarafından düzenlenir. HLA dışı genlerden sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen-4 (CTLA4) geni, protein tirozin fosfat non-reseptör tip 22 (PTPN22), TNF (Tümör Nekrozis Faktör)- α , FOXP3 ve diğer otoimmün duyarlılık lokusları otoimmün hastalıklara yakınlıkla ilişkilendirilmiştir [26].

2.3.9. Yaşlanma

Bağışıklık sisteminin hücre aracılı işlevlerinin yaşla birlikte azalması nedeniyle, enfeksiyona, otoimmün hastalıklara ve malignitelere karşı korunmasız hale gelir [27].

2.3.10. Doğal Otoantikolar

Doğal otoantikolar, bakteriler, virüsler ve mantarlar gibi çeşitli ekzojen antijenlerin yanı sıra nükleik asitler, fosfolipitler, eritrositler, serum proteinleri, hücrel bileşenler, insülin ve tiroglobulin gibi kendi antijenlerini de bağlar. Doğal otoantikolar IgM sınıfıdır, polireaktiftir ve ilişkisiz birkaç antijeni orta derecede intrinsik afinite ile bağlarlar [17].

2.4. Otoantikolar

Otoimmün hastalıklar, konakçının öz antijenlerine karşı immün yanıtları sonucu oluşur [28]. Kendi molekülleri ile reaksiyona giren antikolar sağlıklı kişilerde de görülür ve doğal otoantikolar olarak adlandırılır. Doğal otoantikolar esas olarak IgM'dir, kendi antijenleri için orta derecede bir afinite ve yüksek avidite gösterir. Enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattını sağlarlar ve bağışıklık sisteminin homeostazına katkıda bulunurlar. Aksine, yüksek afiniteli, somatik olarak mutasyona uğramış IgG otoantikoları, hücre klirensi, antijen-reseptör sinyali veya hücre efektör fonksiyonları ile ilgili homeostatik yolların bozulduğu patolojik bir süreci yansıtır. Bazı otoimmün bozukluklarda, otoantikolar hastalık başlangıcından önce mevcut olabilir ve dikkate değer bir özgüllük gösterebilir. Bundan dolayı tanı ve tedavide fırsat sağlayan biyobelirteçler olarak hizmet edebilir. Miyastenia gravis ve pemfigus gibi organa özgü otoimmün hastalıklarda, otoantikolar doğrudan hedef organlara bağlanarak hedef organda hasara sebep olur. Sistemik otoimmün hastalıklarda, otoantikolar, fosfolipitler, hücre yüzey antijenleri ve nükleoprotein antijenleri ile reaksiyona girerek patojenik antijen-antikor kompleksleri oluşturur. Bu otoantikolar, komplemanın aktivasyonunun yanı sıra Toll like

reseptör (TLR)'lerin aktivasyonu yoluyla da dokularda ve organlarda hasara sebep olur. Plazmositik dendritik hücrelerde hücre içi TLR aktivasyonu, tip I interferon üretimine yol açarak hücre aktivasyonunu ve diğer enflamatuar sitokinlerin üretimini uyarır [29].

Otoimmün cevap, hücrenel veya humoral olarak gelişebilir. Humoral cevap sonucu oluşan antikorlara otoantikorlar denilir. Bu moleküllerden hücre bölünmesinde görevli özellikle 30 kadar proteine karşı otoantikor gelişmiştir. Nükleusa karşı gelişen otoantikorlara antinükleer antikorlar (ANA), sitoplazmik elemanlara karşı gelişenlere antisitoplazmik antikorlar (ACA) ve membranöz komponentlere karşı oluşanlara antimembran antikorlar veya antifosfolipid antikorlar (APA) denilmektedir [30].

2.4.1 Anti Nükleer Antikor

Anti nükleer antikor (ANA), hücrenin sitoplazma ve çekirdeğinde bulunan farklı antijenleri hedefleyen geniş bir otoantikor grubunu içerir. Antijenler bütün çekirdekli hücrelerde bulunurlar, transkripsiyon ve translasyonda rol oynarlar ayrıca yapısal protein olarak da görev alırlar [31]. Sistemik otoimmün hastalıkların taranması amacıyla en sık kullanılan otoantikor testi ANA'dır [32, 33]. İnsan epidermoid larinks karsinom (HEp-2) hücreleri kullanılarak gerçekleştirilen indirekt immünflorasan (IIF) yöntemi, ANA saptanmasında kullanılan en duyarlı ve altın standart olarak kabul edilen yöntemdir [34]. İndirekt immünfloresans yönteminde hasta serumu tampon solüsyonlarda seyreltikten sonra insan epitelyal hücrelerinin fikse edildiği (HEp-2 hücreleri) lamlara eklenir böylece antikorlar hücrelerin içerisine girip antijenlere bağlanırlar. Bu antikorlar floresan işaretli anti-insan antikorları ile işaretlenerek immün floresan mikroskopta incelenirler. IIF yöntemi ile homojen nükleer (DNA-histon kompleksi), periferik (dsDNA), ince granüler (ekstraktable nükleer antijenler (Sm, Ku, U1RNP, SSA ve SSB)), kaba granüler (anti-sentromer) ve nükleolar (RNA polimeraz ve nükleolar RNP kompleks) olmak üzere beş temel boyanma şekli gözlenir [35]. Bazı spesifik görüntüler sadece spesifik substratlar ile görülebilir. Örneğin anti-Ro ve anti-sentromer antikorlar sadece bölünmekte olan HEp-2 hücrelerinde gözlenebilirler [36]. Otoimmün hastalık veya bağ dokusu hastalığını destekleyen kliniği olan hastalarda tanısal amaçlı, hastalık aktivitesinin takibinde, şüpheli klinik bulguları olan hastalarda bazı hastalıkları dışlamak için ve otoimmün hastalığı olan hastaları sınıflandırmak için ANA testi faydalıdır [37].

ANA pozitifliğiyle beraber, sitoplazmada ve mitotik hücrelerde bulunan yapılara karşı oluşabilen otoantikorların varlığı da saptanabilmektedir. HEp-2 hücre serisinde nükleer

antijenlerin anlamlı ölçüde bulunması tanı duyarlılığını artırır. Ancak bu duyarlılık artışı özgüllükte bir azalmayı da beraberinde getirmiştir. ANA pozitifliği sağlıklı popülasyonda ve başka klinik durumlarda da görülebildiğinden pozitif sonuçların mutlaka klinikle birlikte yorumlanması gerekmektedir. Sağlıklı kişilerde düşük titre ANA pozitifliği genel olarak %15 oranında görülmekle birlikte %40 oranlarının saptandığı uluslararası raporlarda bulunmaktadır. Özellikle kadınlarda yaşla birlikte ANA pozitifliği artmaktadır (Tablo 1) [33,38].

ANA pozitifliği, organ spesifik otoimmün hastalıklarda, sistemik otoimmün hastalıklarda ve bazı enfeksiyonlarda saptanabildiği gibi %5 oranında sağlıklı genç erişkinlerde de bulunabilir (Tablo 1) [37,39]. Çok sayıda sağlıklı kişi ve diğer hastalık tanısı olan kişilerde de ANA pozitifliği saptanması üzerine ANA pozitifliği için daha yüksek bir sınır değer kullanımı gündeme gelmiştir. Güncel kılavuzlar otoimmün sistemik hastalık tanısı için ANA sınır değeri olarak 1/160 titreyi öngörür [38, 40]. ANA'nın yüksek titrede bulunması otoimmün hastalık açısından uyarıcıdır ancak tek başına tanı koydurucu değildir [41]. HEp-2 hücreleri, her seride benzer özellikte olduğundan ANA saptanmasında diğer doku örneklerine göre daha standart bir ortam sağlar. HEp-2 hücre serilerinde antiribosomal P protein antikoru, SSA/Ro antikoru ve Jo1 antikoru genellikle düşük düzeyde eksprese olduğundan "yalancı negatif" sonuçlarla karşılaşılabilir [11, 34]. Anti nükleer antikor, sistemik lupus eritematozus tanısında yaklaşık %93 duyarlılık ve %57 özgüllük gösterir. Negatif ANA sonucu SLE'yi dışlamada çok değerlidir ancak ANA pozitifliğinin tanı koydurucu rolü hastalıklara göre değişir (Tablo 1) [38].

Ticari otoantikor test kitleri değişik teknikler ile geliştirilmiştir. İndirekt immunfloresan (IIF), immunodifüzyon (ID), immunoblotting (IB), ELISA ve son zamanlarda geliştirilen lazer antijen ölçüm yöntemleri bu teknikleri kapsar [42]. Tanı kitleri içinde IIF testi tarama testi olarak kullanılmakta, antijen tipinin ortaya çıkarılması ve IIF testinin doğrulanması amacıyla diğer testler önerilmektedir [43]. IIF testi, ANA varlığını ortaya koyar buna karşın bazı durumlarda antikoru hangi antijene karşı olduğu tam olarak ayırtedilemeyebilir. Bu durumda diğer yöntemlerle antijen tiplendirmesi yapılır. Antijen tiplendirilmesi klinik açısından önemlidir. Çünkü ANA'ya spesifik antijen, ilgili hastalığın tanısında özgüldür. Örneğin, anti-dsDNA ve anti-Sm antikoru sistemik lupus eritematozusa spesifik görünürken anti-Scl70 ve anti-sentromer antikoru sistemik skleroz (SSc), anti-jo1 polimiyozit (PM), anti-SSA ve anti-SSB; Sjögren sendromu (SjS), SLE, SSc ve romatoid artritinde içinde bulunduğu sistemik romatizmal hastalıklarda saptanabilir [44]. IB yönteminde tek bir test

stripi ile birden fazla antijenin saptanabilmesi, striplerin saklanıp tekrar değerlendirilebilmesi avantaj oluştururken ekonomik olarak pahalı olması ve sınırlı sayıda antijeni tespit edebilmesi dezavantaj oluşturmaktadır [45]. Sonuç olarak, IIF testi ANA için tarama testi olarak kullanılırken IB testi tanımlama ve doğrulama testi olarak kullanılır [46].

Hastalık	ANA Pozitiflik (%)
SLE	93-100
Sistemik Sklerozis	60-80
Sjögren Sendromu	40-70
Dermatomyozit/Polimiyozit	30-80
Karmaşık Bağdokusu Hastalığı	100
Romatoid Artrit	40-60
İlacı Bağlı Lupus	80-95
Raynaoud Fenomeni	40
İnterstisyel Akciğer Hastalığı	Değişken
Jüvenil İdiopatik Artrit	15-40
Hashimoto Tiroiditi	50
Graves Hastalığı	50
Otoimmün Hepatit	70
Primer Biliyer Siroz	50-70
Enfeksiyon Hastalıkları	Değişken
Maligniteler	Değişken
Enflamatuvar Bağırsak Hastalığı	Değişken
Sağlıklı Erişkin	1/40 titre (%30-40), 1/80 titre (%12) ,1/160 titre (%5)

Tablo 1: Hastalılara göre ANA pozitiflik oranları [107]

2.4.2 ANA Boyanma Modellerinin Otoantikor ve Hastalık İlişkileri

İnsan epidermoid larinks karsinom (HEp-2) hücreleri kullanılarak gerçekleştirilen indirekt immünflorasan (IIF) yöntemi ANA saptanmasında kullanılan en duyarlı ve altın standart

olarak kabul edilen yöntemdir [34]. ANA testinin sonuçları; antikorların titresi ve antikorlar tarafından üretilen boyanma modeli olarak iki kısımda rapor edilir. Antikorların titresi, görünür floresan üreten en yüksek serum seyreltisini ifade ederken ANA boyanma modeli, HEp-2 hücre çekirdeğinde ve sitoplazmada antijenlerle reaksiyona giren otoantikorlar tarafından üretilen boyanmanın dağılımını ifade eder [47]. Uluslararası bir çalıştay, ANA boyama modellerinin isimlendirilmesi üzerine bir fikir birliğine varmaya çalıştı. Katılımcılar, tüm yetkin düzeydeki laboratuvarlar tarafından rapor edilmesi gereken 11 boyama modeli olduğunu öne sürdüler [47]. ANA boyanması nükleer, hücre döngüsü ile ilişkili ve sitoplazmik olmak üzere üç geniş kategoriye kapsar. Bu kategorilerin herbiri içerisinde ayrı modeller tanımlanır ve boyanma modellerini üreten otoantikorlar belirlenir.

ÇEKİRDEK İÇEREN ANA BOYANMA DESENLERİ

2.4.2.1 Nükleer Homojen

Homojen nükleer boyanma modeli histon proteinleri, nükleosom (histon-DNA kompleksi), çift sarmallı (ds) DNA veya tek sarmallı (ss) DNA'ya karşı otoantikorların varlığını göstermekle birlikte dinlenmekte olan hücrelerdeki çekirdeğin ve bölünen hücrelerde kromozom bölgesinin yaygın boyanmasını ifade eder [Şekil 1]. Anti-dsDNA antikorları gibi dolaylı immüno Floresan ile homojen boyanmadan sorumlu spesifik antikorlar, Crithidia luciliae enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) ile tespit edilerek tanıyı desteklemek için kullanılabilir. Homojen boyanma paterni, Belçika Leuven'deki Üniversite Hastanelerinde test edilen 9200'den fazla ANA pozitif serum örneklerinin %36'sında bildirilmiştir [48]. Homojen boyanma sistemik lupus eritematozus (SLE), ilaca bağlı lupus, Sjögren Sendromu (SjS), skleroderma (SSc) ve romatoid artrit (RA) gibi birçok farklı sistemik otoimmün hastalığı olan hastalarda tesbit edilebilir [49].

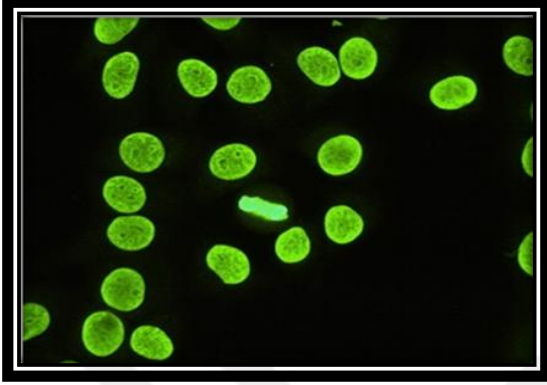
2.4.2.2 Nükleer Benekli

İnce, kaba ve yoğun ince olmak üzere üç tür nükleer benekli model tanımlanmıştır.

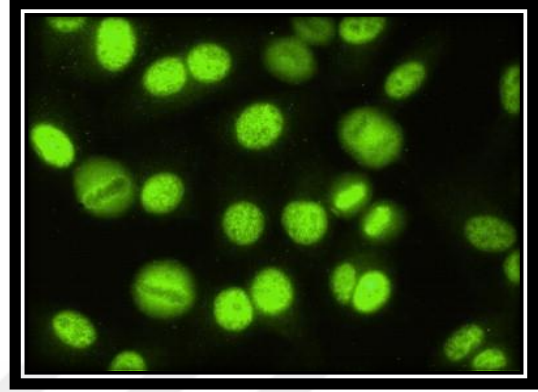
Nükleer İnce Benekli

İnce benekli boyanma, çekirdek boyunca mevcut olan yüzlerce ila binlerce noktayı ifade eder. Spesifik otoantikora bağlı olarak nükleolus boyanabilir veya boyanamaz. Sc170 (topoizomeraz I)'e karşı oluşan antikorlar dışında bölünen hücrelerde kromozom bölgesinin boyanması yoktur (Şekil 2). İnce benekli boyanmada Ro60, La, Topoisomerase I, Ku, Mi-2, transkripsiyonel aracı faktör (TIF)-1, melanom farklılaşması ile ilişkili protein-5 (MDA-5),

RNA helikaz, RNA polimeraz II ve III'e karşı antikorlar oluşabilir. Bu boyanma SLE, SjS, SSc, myozit ve karışık bağdokusu hastalığı (MCTD) gibi hastalıklarda gözlenebilir [49]. Nükleer ince benekli patern 9200'den fazla ANA pozitif serum örneğinin %20'sinde bildirilmiştir [48].



Şekil 1: Nükleer homojen boyanma



Şekil 2: Nükleer ince benekli

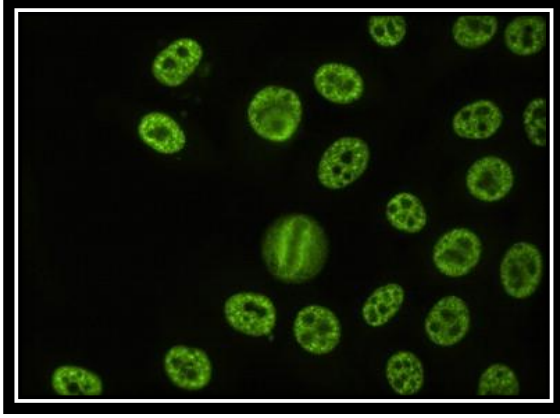
Nükleer Kaba Benekli

Kaba benekli boyanmada Sm ve U1-ribonükleoprotein (RNP)'e karşı otoantikor oluşur. Bu desende istirahat halindeki hücrelerde yoğun ve orta büyüklükte benekli boyanma izlenirken mitotik hücrelerdeki kromozomlarda boyanma yoktur (Şekil 3). SLE teşhisi için anti-Sm antikorlarının özgülüğü %55 ila 100 arasında iken duyarlılığı %10 ila 50 arasındadır [50]. U1RNP antijenlerine yönelik antikorlar MCTD'li tüm hastalarda mevcuttur ve bu hastalığın teşhisinin önemli bir bileşenidir [51].

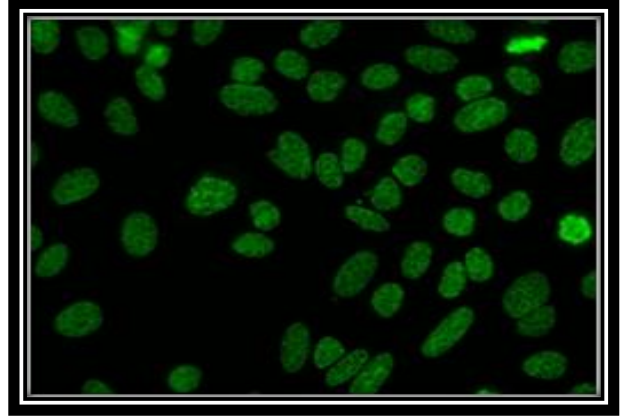
Nükleer Yoğun İnce Benekli Desen (DFS70)

Yoğun ince benekli (DFS70) boyanma modelinde, benekler nükleoller hariç interfaz hücrelerin çekirdeğinde dağılmıştır. Bu modelde, ince ve kaba benekli modellerden farklı olarak bölünen hücrelerdeki kromozomlarda benekler gözlenir (Şekil 4). Yoğun ince benekli desende, antikor 75 kilodalton (kDa)'luk lens epitelyum kaynaklı büyüme faktörüne (LEDGF) karşı olup sağlıklı kişiler, alopesi areatalı ve atopik dermatitli hastalarda görülebilmektedir [52, 53]. Yoğun ince benekli desen, bir çalışmada ANA pozitif hastaların %37'sinde bulunmuştur [54]. Yapılan çalışmalar, bu boyama modelini üreten antikorlara sahip hastaların alta yatan otoimmün hastalık prevalansının düşük olduğunu doğrulamıştır [55]. Bununla birlikte DFS70 boyama modeli, diğer otoantikorlar tarafından üretilen modelleri gizleyebilir. Otoimmün hastalık olasılığı yüksek olan hastalarda SSA, SSB, Sm,

U1RNP, Scl70 ve histon proteinlerine yönelik otoantikörleri saptamak için ek katı faz testleri gerekebilir.



Şekil 4: Nükleer kaba benekli boyanma



Şekil 3: Nükleer yoğun ince benekli(DFS70)

2.4.2.3 Nükleolar

Bu boyanma modelinde, mitoz aşamasındaki HEp-2 nükleolusları boyanmıştır. Homojen, kümelenmiş ve benekli olmak üzere üç farklı nükleolar boyanma modeli tanımlanmıştır. Antinükleolar antikörlerin prevalansı 9200'den fazla ANA pozitif serumun %17'sinde saptanmıştır [48]. Otoantikörler PM/Scl kompleksinin bileşenleri (PM/Scl-75, PM/Scl-100), U3RNP (fibrillarin), 7-2 RNP kompleksi (Th/To), RNA polimerazlar (I, II ve III) ve topoizomeraz I (Scl70) i hedef alır.

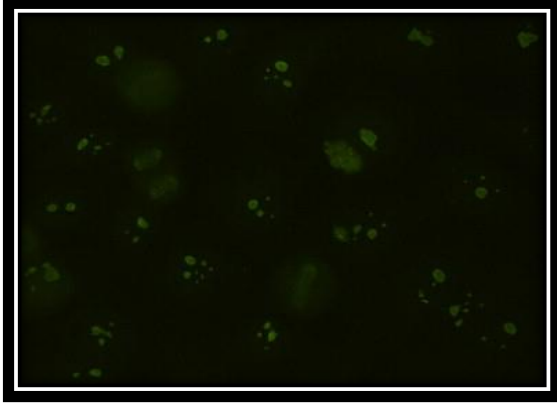
Nükleolar Homojen

Nükleolar homojen boyanma modelinde, nükleolusun homojen, nükleoplazmanın zayıf homojen boyandığı durumlarda PM/Scl kompleksine karşı antikör olabilir (Şekil 5) ve başlıca myositis/skleroderma overlap sendromunda %5 ila 10'unda mevcuttur. Sınırlı cilt hastalığı, azalmış akciğer ve böbrek hastalığı riski ile ilişkilidir ancak inflamatuvar miyozit riski artmıştır [56]. Th/To kompleksine yönelik antikörler, SSc'li hastaların %2 ila 5'inde mevcut olmakla beraber pulmoner fibroz ve renal kriz riskinde artış ile ilişkilidir [57].

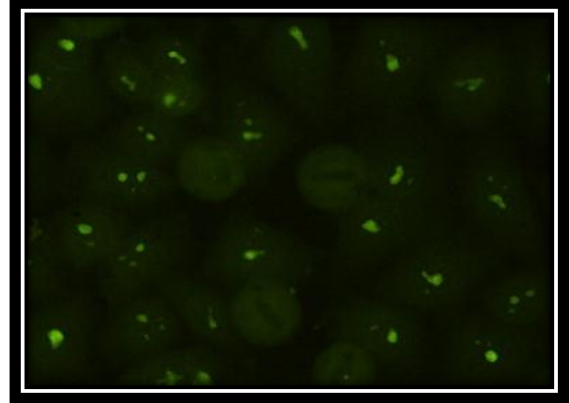
Nükleolar Küme

Nükleolar küme, istirahat halindeki hücrelerin nükleolusunda büyüklüğü ve şekli değişken küme(clumpy) tarzında boyanma gösterirken bölünen hücre kromatininde boyanabildiği durumlarda genellikle küçük nükleolar ribonükleoprotein (snRNP) 34 kDa'luk protein alt ünitesine karşı antikörlerin bulunduğunu gösterir (Şekil 6). Anti-U3RNP (fibrillarin)

antikorları, SSc'li hastaların %5 ila 10'unda bulunur ve yaygın deri hastalığı, pulmoner arter hipertansiyonu, pulmoner fibroz ve miyozit ile ilişkilidir [57].



Şekil 5: Nükleolar homojen



Şekil 6: Nükleolar küme

Nükleolar Benekli

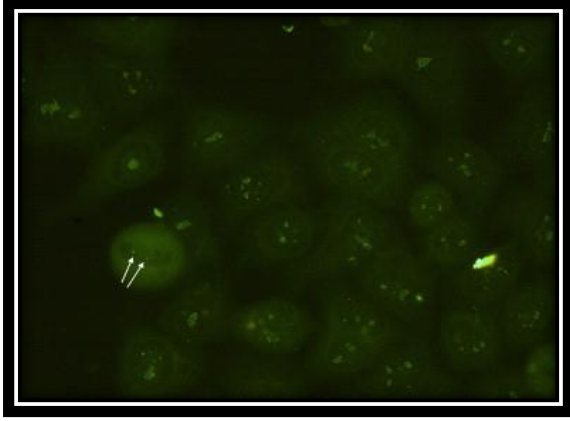
Nükleolar benekli desende, istirahat halindeki hücrelerin nükleoluslarında benekli tarzda nükleolar boyanma, çekirdekte ince benekli boyanma görülürken RNA polimerazlara yönelik antikorlar oluşur (Şekil 7). Bu desen, SSc'li hastaların yaklaşık %20'sinde tespit edilir ve bu hastalık için yüksek derecede spesifiteye sahiptir. Anti-RNA polimeraz antikorlarının varlığı, yaygın deri tutulumu ve artan renal kriz riski ile ilişkilidir. Pulmoner fibroz, anti-RNA polimeraz antikorları olan hastalarda nadirdir [58]. Sc170 (topoizomeraz I)'e yönelik antikorlar, nükleolar boyama modellerinin yanı sıra nükleer benekli boyanma modeli üretir.

2.4.2.4 Nükleer Nokta

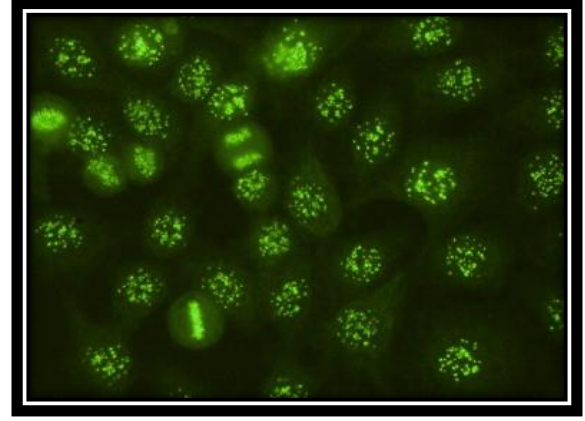
Sentromer, PML-Sp100, nükleer cisim ve Cajal cisimi olmak üzere üç tür nükleer nokta boyama modeli tanımlanmıştır. Nükleer nokta (Sp100) boyanma şeklinde, istirahat halindeki HEp-2 hücrelerinin nükleoplazmalarında boyutları değişken olabilen, hücre başına ortalama 10 ila 20 nokta şeklinde boyanma gösterirken mitotik hücre kromatinleri boyanmaz.

Sentromer

Sentromer boyama modeli, istirahat halindeki hücrelerin çekirdeğinde bulunan 30 ila 60 ayrı büyük beneklerin varlığı ve mitotik hücrelerin kromatininin belirgin benekli tarzda boyanması ile karakterize edilir. Benekler, ince ve kaba benekli desenlerde görülenlerden daha büyük ve daha az sayıdadır (Şekil 8). Sentromer boyama modelinde antikorlar CENP-A, CENP-B, CENP-C ve daha nadir olarak CENP-D'ye karşıdır. Sentromere karşı oluşan antikorlar, 9200'den fazla ANA pozitif serumun %3'ünde saptanmıştır [48].



Şekil 7: Nukleoler benekli boyanma



Şekil 8: Sentromer boyanma

Anti-sentromer antikorları, sınırlı SSc'ye sahip hastaların yaklaşık %30'unda mevcuttur. Antikorlar, kalsinoz ve pulmoner hipertansiyonla ilişkilidir. Anti-sentromer antikorları PBC'li hastaların yaklaşık %15'inde mevcuttur ve bu hastalar anti-sentromer antikor negatif hastalara göre daha kötü bir sonuca sahip olma eğilimindedir [59]. SjS'li hastaların %4 ila 15'inde ve SLE hastalarının yaklaşık %4'ünde anti-sentromer antikorlar mevcuttur [60, 61]. Anti-sentromer antikorları, sistemik bir otoimmün hastalığa dair kanıtı olmayan izole Raynaud fenomeni olan hastalarda da tespit edilebilir [62].

Promiyelositik Lösemi (PML)-Sp100 Nükleer Nokta

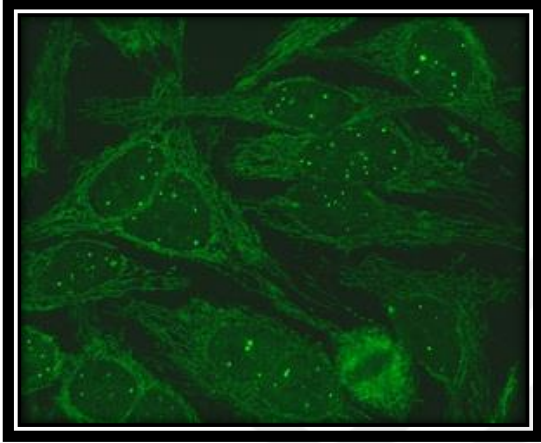
PML-Sp100 nükleer cisim boyama modeli, istirahat halindeki hücrelerin çekirdeğinde bulunan 5 ila 20 ayrı büyük benek varlığı ve mitotik kromozomların boyanmaması ile karakterize edilir (Şekil 9). Otoantikorlar Sp100 nükleer antijenine, promiyelositik lösemi proteinine (PML) karşı olup, sıklıkla primer biliyer sirozlu hastalarda (%30), SjS, SLE ve diğer kronik inflamatuvar bağ dokusu hastalıklarında tesbit edilebilirler [49]. PML-Sp100 nükleer cisimlere yönelik antikorlar, 9200'den fazla ANA pozitif serumun % 0,2'sinde tespit edilmiştir [48].

Anti-PML/Sp100 nükleer vücut antikorları, indirek immünfloresan (IIF) tarafından saptanan anti-mitokondriyal antikor (AMA)'a sahip olmayan primer biliyer siroz (PBC) hastalarının yaklaşık %40'ında mevcuttur ve bazı PBC hastalarında tek antikor belirteci olabilir [63].

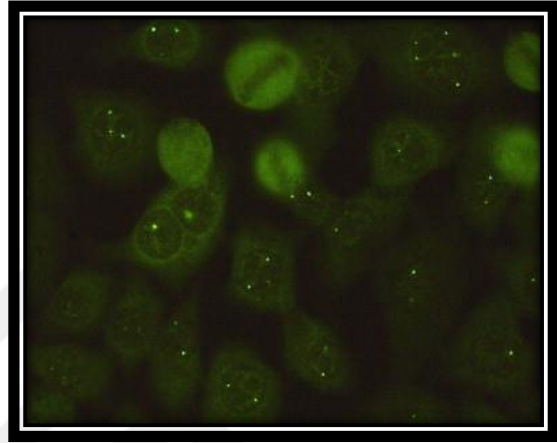
Nükleer Az Nokta (Cajal Cisimciği)

Nükleer az nokta boyanma modelinde istirahat halindeki HEp-2 hücrelerinin nükleoplazmalarında 80 kDa'luk bir protein olup Cajal cisimciği (p80-coilin) olarak bilinen

yapılara karşı otoantikörleri gösteren en fazla 8 adet nokta (ortalama 2-3 nokta) şeklinde boyanma gözlenir(Şekil 9). Cajal cisimciklerine yönelik otoantikörler, sağlıklı bireyler, SLE, SSc ve PM dahil olmak üzere nadiren SjS ve PBC'li hastalarda saptanabilir [64, 65, 66]. Cajal cisimciklerine yönelik antikörler, 9200'den fazla ANA pozitif serumun %1,3'ünde tespit edilmiştir [48].



Şekil 9: Sp100 nükleer nokta



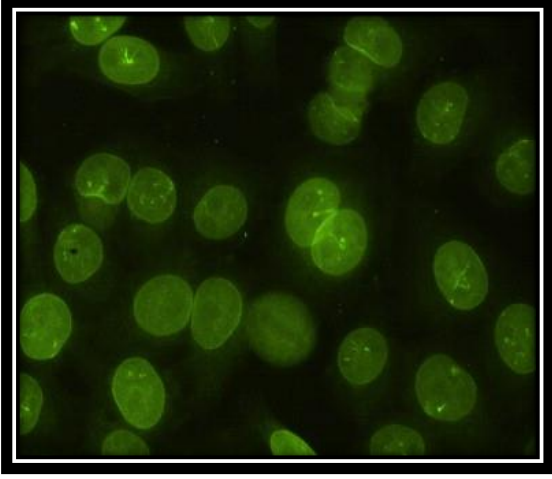
Şekil 10: Nükleer az nokta (Cajal cisimciği)

2.4.2.5 Nükleer Zarf

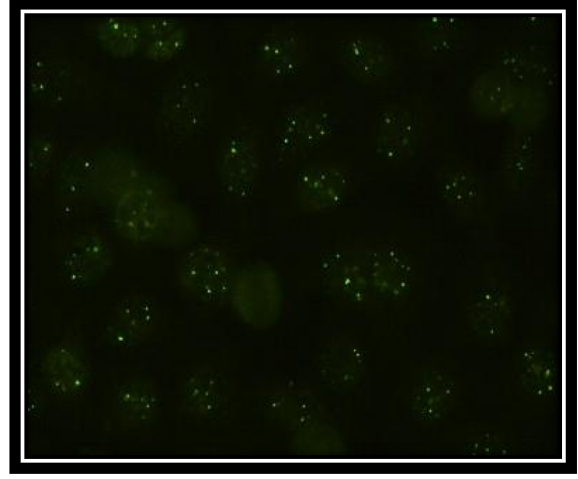
İki tür nükleer zarf boyanma paterni mevcuttur. Birincisinde nükleer zarf pürüzsüz, sürekli ve doğrusal boyanırken ikincisinde nükleer zarf, kesik ve doğrusal boyanır (Şekil 10). Bu paternde nükleer lamin proteinleri ve lamin ile ilişkili proteinlere yönelik otoantikörler; SLE, SjS, antifosfolipid sendromu (APS) ve otoimmün karaciğer hastalığı dahil olmak üzere geniş bir hastalık yelpazesinde bildirilmiştir [67]. Nükleer zarfın bileşenlerine yönelik otoantikörler, 9200'den fazla ANA pozitif serumun %0,5'inde tespit edilmiştir [48].

2.4.2.6 Nükleer Por Kompleks Paterni

Glikoprotein-210 kD (Gp210) ve nükleoporin-62 kD (Nup62) antijenlerine yönelik antikörler AMA pozitif PBC'li hastaların yaklaşık %20'sinde tespit edilir [59]. Anti-Gp210 antikörleri PBC hastalarda %25 duyarlı ve % 95'ten fazla özgül saptanmıştır (Şekil 11). PBC'li hastalarda anti-Nup62 antikörlerinin prevalansı yaklaşık %20 idi [68].



Şekil 11: Nükleer zarf boyanma modeli



Şekil 12: Nükleer por kompleks boyanma

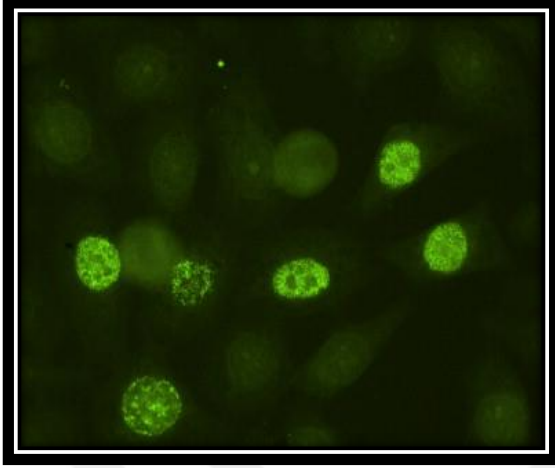
2.4.3. HÜCRE SİKLUSU İLE İLGİLİ BOYAMA DESENLERİ

2.4.3.1 PCNA (Çoğlan Hücre Nükleer Antijen)

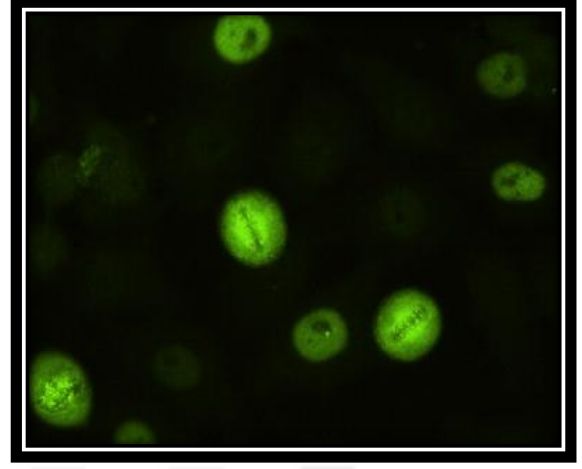
Çoğalan hücre nükleer antijen (PCNA) modelini üreten otoantikörlerin hedefi, DNA polimerazın delta zinciridir. PCNA, hücre döngüsünün G1 fazında nükleer benekli, S fazında yoğun nükleer homojen boyanırken mitotik hücreler boyanmaz (Şekil 12). PCNA boyama modelini üreten otoantikörler, 9200'den fazla ANA pozitif serumun %0,3'ünde tespit edilmiştir [48]. PCNA boyama modelini üreten otoantikörler, viral hepatit, maligniteler ve SLE gibi otoimmün hastalıklarda görülür [69].

2.4.3.2 CENP-F (Sentromer Protein-F)

CENP-F boyanma modelinde otoantikör, nükleer matriksin kinetokor (CENP-F) proteinine karşı olup hücre siklusuna bağlı olarak sadece bazı hücrelerde gözlenir. İstirahat halindeki hücrelerde değişik yoğunlukta ince benekli, metafazda kromatinler benekli, telefazda kromatinler boyanmaz ancak yoğun stoplazmik ve zayıf midbody boyanmaları gözlenir (Şekil 13). CENP-F boyama modelini gösteren hastaların yaklaşık yarısında altta yatan bir malignite vardır. İlişkili maligniteler arasında meme, akciğer, prostat kanseri ve lenfoma bulunur [70]. CENP-F boyama paterni 9200'den fazla ANA pozitif serumun %0,3'ünde tespit edilmiştir [48].



Şekil 13: PCNA boyanma



Şekil 14: CENP-F boyanma

2.4.3.3 Mitotik İğ Aparatı

Nükleer mitotik aparat-1 (NuMA1) ve nükleer mitotik aparat-2 (NuMA2) olmak üzere iki tür boyanma modeli tanımlanmıştır.

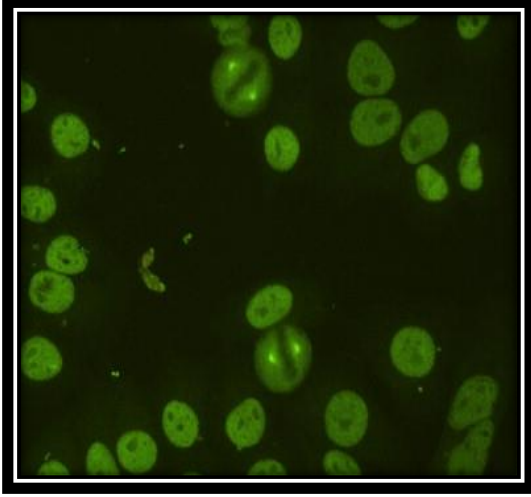
NuMA1 Boyama Modeli

NuMA1 boyanma modelinde, dinlenen hücrelerde benekli nükleer boyanma, bölünen hücrelerde sentrozomların yakınında sentromere uzanmayan iğlerin boyanması ve NuMA1'e karşı otoantikor mevcudiyeti vardır (Şekil 14). NuMA1 boyanan hastaların %20'sinde Sjögren sendromu, %12'sinde SLE ve %40'ında diğer otoimmün hastalıklar görülmüştür [71].

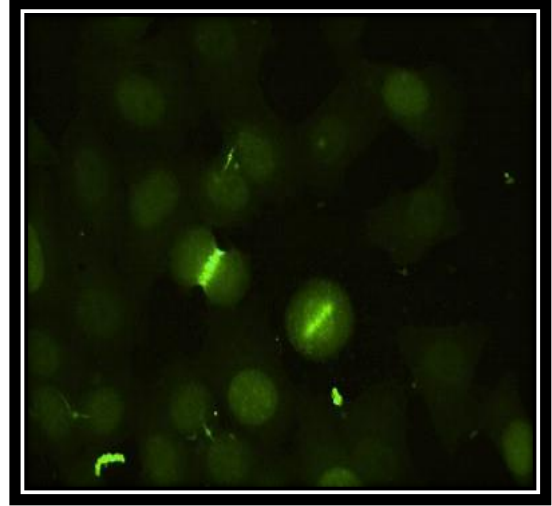
NuMA1 boyama paterni 9200'den fazla ANA pozitif serumun %0,7'sinde tespit edilmiştir [48].

NuMA2 Boyama Modeli

NuMA2 boyanma modelinde, mitotik hücrelerin sentrozomdan sentromere ve sentromerler arasında uzanan iğ liflerinin boyanmasıyla birlikte insan kinesin benzeri proteinlerine karşı otoantikor mevcuttur (Şekil 14). NuMA2 boyama modeli 9200 ANA pozitif serumun %0,06'sında tespit edilmiştir [48].



Şekil 15: NuMA1 boyama modeli



Şekil 16: NuMA2 boyama

2.4.3.4 Sentriol

Sentriol boyanma modelinde, istirahat halindeki hücrelerin stoplazmalarında 1 veya 2 nokta, mitotik hücrelerin iç mihver kutuplarında 2 nokta şeklinde boyanma, birçok sentrosomal antijene karşı; heat shock protein glycolytic sipesifik enolas (48 kDa), PCM-1(228 kDa), Pericentrine (220 kDa) karşı otoantikörleri gösterir. Bu nadir boyanma şekli Raynaud fenomeniyle birlikte SSc, CREST, SjS ve diğer otoimmün hastalıklarda saptanabilir [72].

2.4.4 SİTOPLAZMİK BOYAMA DESENLERİ

2.4.4.1 Sitoplazmik Kaba Benekli İpliksi (Mitokondriyal Benzeri)

Sitoplazmik kaba benekli ipliksi boyama modeli, HEp-2 hücrelerinde sitoplazma boyunca granüler ve filamentli boyanmanın olduğunu gösterir. Sitoplazmik kaba benekli ipliksi(mitokondri) boyanma, çoğunlukla M2'ye karşı gözlenir ve primer biliyer kolanjit (PBC), kronik karaciğer hastalıkları, SLE ve sistemik siklerozda görülebilirler (Şekil 16)[73]. AMA boyama modeli dolaylı immünofloresan (IIF) ile tespit edilirse, PBC'ye sipesifik otoantikörleri saptamak için katı faz analizleri gerekebilir [74].

2.4.4.2 Sitoplazmik İnce Benekli

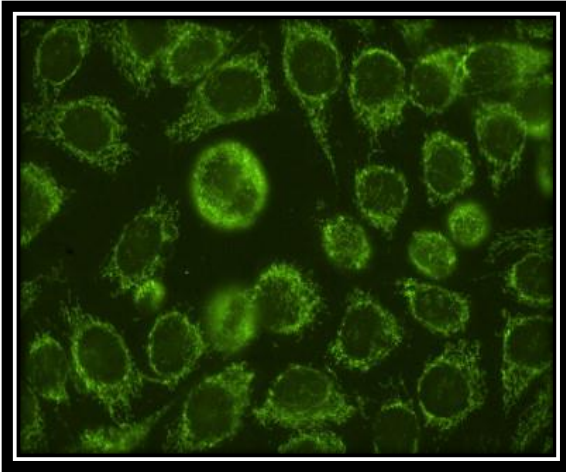
Sitoplazmik ince benekli boyanma istirahat halindeki HEp-2 hücrelerinin sitoplazması boyunca dağılmıştır (Şekil 17). Sitoplazmik ince benekli paternde antikörler aminoaçil-tRNA sentetazlar (Jo-1, PL7, PL12), ribozomal P proteinleri, Ro52 ve sinyal tanıma partikülü (SRP)'ye karşı oluşurlar. Bu antikörler otoimmün myozit (polimyojit/dermatomyozit, overlap

sendromunda myozit, konnektif bağ dokusu hastalıkları) için tanısal belirteçtir. Anti-Jo1 (histidil tRNA sentetaz) ve anti-EJ (glisil-tRNA sentetaz) antikoru klinik miyozit gelişmeden 5 ay önceden tespit edilebilmektedir [75, 76]. Anti-tRNA sentetaz antikoru, interstisyel akciğer hastalığı (ILD), miyozit, eroziv olmayan artrit, Raynaud fenomeni ve "makinet eli" ile tanımlanan bir DM /PM alt tipinin belirteçleridir. Jo-1(histidil tRNA sentetaz)'e karşı gelişen antikoru, PM'li hastaların %20 ila 30'unda ve ILD'li PM hastalarının %60 ila 70'inde bulunan en yaygın anti-tRNA sentetaz otoantikorudur [77].

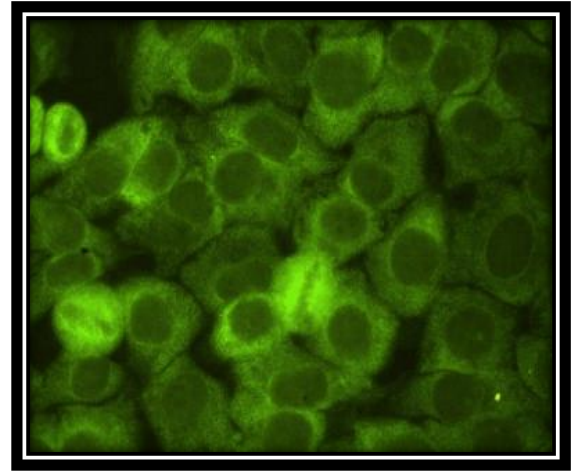
Ribozomal P antijenlerine yönelik antikoru, SLE'li hastaların %10 ila 20'sinde bulunur.

Anti-Ro52 antikoru, SLE'li hastaların yaklaşık %40'unda, Sjögren sendromlu (SjS) hastaların %75'inde, polimiyozitli hastaların %35'inde ve sistemik sklerozlu (SSc) hastaların %20'sinde mevcuttur [78]. Anti-Ro52 veya anti-Ro60 antikoru, neonatal lupus sendromu çocukları olan tüm kadınlarda mevcuttur.

Anti-sinyal tanıma partikülü (SRP) antikoru, inflamatuvar kas hastalığı olan hastaların yaklaşık %10'unda tespit edilir ve hızla ilerleyen, nekrotizan hastalığı olan hastaların bir alt kümesini tanımlar [79]. Sitoplazmik ince benekli boyama paternini üreten antikoru, 9200'den fazla ANA pozitif serumun %1,2'sinde mevcut saptanmıştır [48].



Şekil 17: Mitoondriyal benzeri boyanma



Şekil 18: Sitoplazmik ince benekli boyanma

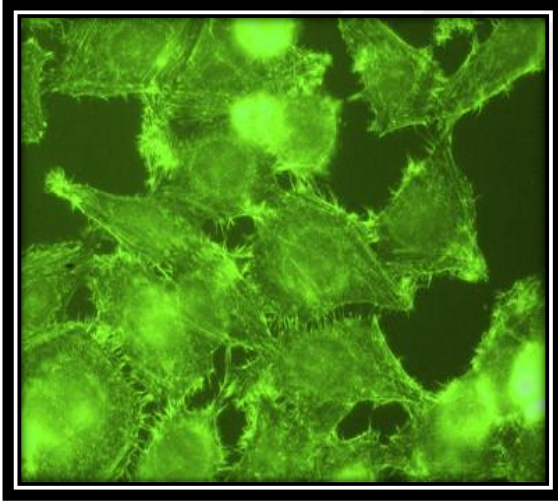
2.4.4.3 Sitoskeletal Boyama

Sitoskeletal boyama modeli, sitoplazmada bir lif ağının boyanması ile karakterizedir (Şekil 18). Bu modelde, aktin, aktin ile ilişkili proteinler, sitokeratin, tropomiyosin ve vimentine

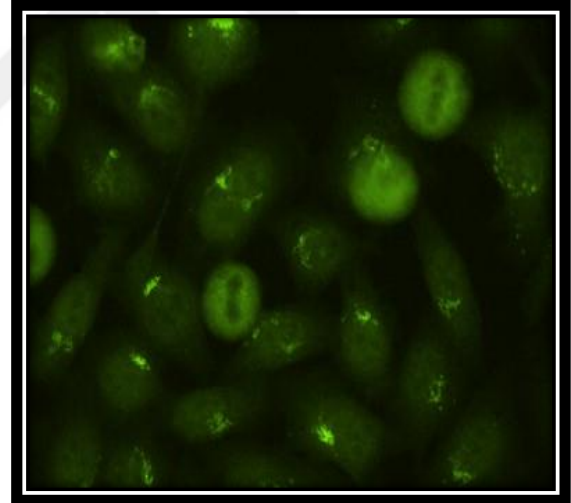
karşı antikor oluşabilir. Anti-aktin antikorları, Tip I otoimmün hepatit tanısı için nispeten spesifik belirteç olmasına rağmen viral hepatitli hastalarda da tespit edilebilir [80]. Hücre iskeletinin diğer bileşenlerine yönelik antikorlar hastalığa özgü olmadığından otoimmün hepatit şüphesi olan bir hastada, anti-aktin antikorlarının varlığı enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) ile araştırılmalıdır.

2.4.4.4 Golgi Cihazı

Sitoplazmik golgi boyanma modeli, HEp-2 hücre sitoplazmasında çekirdeğin sadece bir tarafına yakın, büyüklükleri farklı olabilen benekli tarzda boyanmadan oluşur (Şekil 19). Bu boyanma modeli golgin 110, golgin-67, golgin-95, golgin 97, golgin-160, golgin-245 ve gigante karşı otoantikorların varlığını gösterir [81]. Anti-Golgi aparat antikorları başlangıçta SjS'li bir hastadan alınan serumda tanımlanmış fakat golgi aparat boyanma modeli daha sonra SLE, RA, sarkoidoz, idiyopatik serebellar ataksi ve viral enfeksiyonlu hastalarda da tespit edilmiştir [82]. Golgi aparat boyama modeli 9200'den fazla ANA pozitif serumun %0,4'ünde tespit edilmiştir [48].



Şekil 20: Sitoskeletal boyama



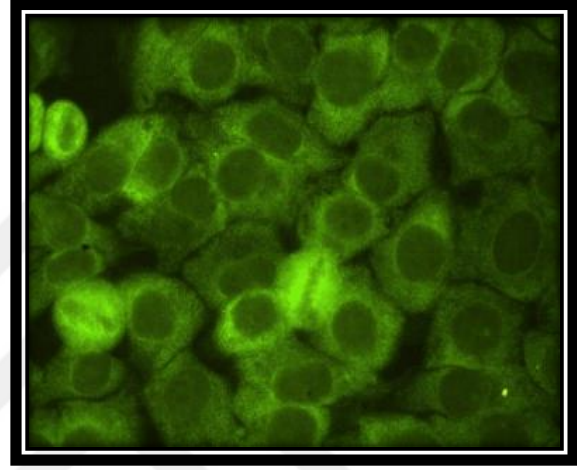
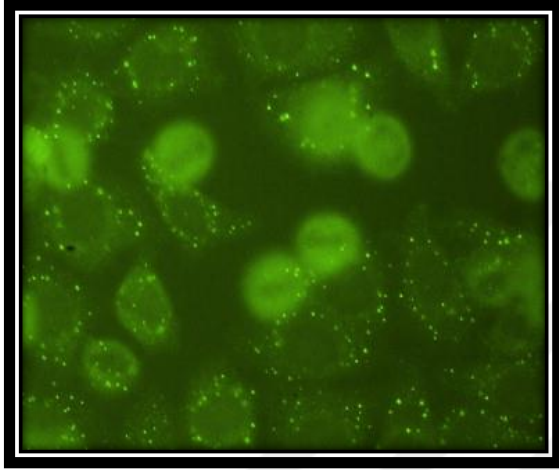
Şekil 19: Sitoplazmik golgi boyanma

2.4.4.5 Sitoplazmik Büyük Benekli

Sitoplazmik büyük benekli boyanma, sitoplazmaya yayılmış olup lizozom ve endosom gibi organellere karşı otoantikorları gösterir (Şekil 19)[83]. Sitoplazmik kaba benekli ipliksi (mitokondri) boyanma, çoğunlukla M2'ye karşı gözlenir ve primer biliyer karaciğer sirozu(%95'inde antikor M2'ye karşı), diğer kronik karaciğer hastalıkları, SLE ve sistemik siklerozda görülebilirler [73].

2.4.4.6 Sitoplazmik Homojen

Sitoplazmik homojen (ribozomal) boyanma modelinde, çekirdek çevresinde kuvvetli homojenden ince benekliye diffüz boyanmanın yanı sıra, ribozom sentezinin merkezi olan nükleolusta da boyanma gözlenir. Mitotik hücre kromatini negatiftir (Şekil 20). Otoantikorlar ribozomal P fosfoproteinlerden P0 (38 kDa), P1(19 kDa) ve P2 (17 kDa)'ye karşı ve diğer antijen hedeflerine karşı oluşurlar. Bazen dsDNA antikorlarının yokluğunda SLE'li hastaların %10 ila 20'sinde tesbit edilebilirler [84].



Şekil 21: Sitoplazmik büyük benekli boyanma

Şekil 22: Sitoplazmik homojen boyanma

BOYANMA PATERNİ	NÜKLEER						MİTOZ		SİTOPLAZMA
	Homojen	Membran	Granüler	Yoğun ince benekli	Nükleoler	Sentromer	Mitotik apparatus	PCNA	İnce Benekli Ribozomal
HEDEF ORGANEL & ANTİJEN	dsDNA, kromatin, histon	Nükleer zar	Sm, RNP, SSA/Ro, SSB/La, PCNA, RNA polimeraz II,III, U1-RNP, Topo1, Ku, Mi-2	DFS-70 /LEDGF-P75	PM/Scl (75 ve 100), Fibrilların (U3-RNP), RNAP I/III, NOR 90 (hUBF)	CENP-A, B, C	CENP-F, MSA-2, NuMA1, NuMA2 (HsEg5)	PCNA	Hücre organelleri; Ribozomlar, mitokondri, lizozomlar, Golgi kompleksi, GW cisimleri, tRNA sentetaz, Jo-1, PL-7, PL-12, RibP proteinleri, Po, P1, P2, SRP
BİRLİKTE BULUNDUĞU HASTALIK	SLE, DIL, SSc, NLS	SLE, APS, AH	SLE, SSc, SjS, MCTD, SCLE, NLS	Atopik dermatit	dcSSc, SLE, PM, RP	RP, lcSSc	SLE, SjS	SLE	PM, DM, SLE, SjS, PBC, SSc

Tablo 2: ANA (IFA) Boyanma Modellerinin Otoantikor ve Hastalık İlişkileri [99]

Kısaltmalar: AH: otoimmün hepatit, APS: anti-fosfolipid sendromu, CENP: sentromer protein, dcSSc: diffuz kutanoz sistemik skleroz, DIL: ilaçla induklenmiş lupus, DM: dermatomyozit, lcSSc: limited kutanoz sistemik skleroz, MCTD: miks bağ dokusu hastalığı, NLS: neonatal lupus sendromu; NOR: nukleolar organizör; NUMA: nukleer mitotik apparatus, PBC: primer biliyer siroz, PCNA: proliferatif hücre nukleer antijeni, PM: polimiyozit, RNAP: RNA polimeraz, RNP: ribonukleoprotein, RP: Raynaud fenomeni, SCLE: subakut kutanoz lupus eritematosus, SLE: sistemik lupus eritematosus, SRP: sinyal tanıma partikülü, SSc: sistemik skleroz, SjS: Sjögren sendromu.

2.4.3 ANA Subtipleri

2.4.3.1. DNA'ya Karşı Antikorlar

DNA'ya karşı IgM veya IgG tipinde gelişmiş antikorlar, ANA'ların alt grubu olmakla beraber tek sarmal (ss) DNA, çift sarmal (ds) DNA veya her ikisine karşı oluşur [85]. Özellikle dsDNA'ya karşı antikorların SLE tanısında tanı koydurucu değeri yüksektir. Ayrıca SLE'li hastalarda klinik aktivite ve glomerülonefrit riski ile ilişkilidir [86]. Tek sarmal DNA'ya karşı gelişmiş IgM tipindeki antikorlar sağlıklı bireylerde de saptanabilir ancak çift sarmal DNA'ya karşı gelişmiş IgG tipi antikorların sağlıklı kişilerde bulunması nadirdir [87].

Anti-dsDNA Antikorları

Anti-dsDNA antikorları, SLE'nin tanısında ve hastalığın aktivitesinin takibinde önemlidir. Anti-ds DNA, tedavi almamış aktif SLE hastalarının %60 ila 70'inde saptanır fakat diskoid lupus ve subakut lupusta bulunmaz. Anti-dsDNA'nın, SLE'de duyarlılığı %30 ila 70 arasındayken özgüllüğü %95 bulunmuştur. Anti-dsDNA, bir haemoflagellates olan *Crithidia luciliae*'nin substrat olarak kullanıldığı indirekt immünfloresans testi (CLIFT), radyoaktif işaretli DNA ile dsDNA ya karşı antikorun seviyesinin tayin edilebildiği Farr testi ve enzim immünassay (EIA) yöntemiyle tayin edilebilir [88]. Anti-dsDNA, RA, SjS, SSc, Raynaud fenomeni, MCTD, diskoid lupus, miyozit, üveit, juvenil artrit ve antifosfolipid antikor sendromu (APS)'de %5 oranında pozitif olabildiği gibi minosiklin, etanercept, infliksimab, penisillamin alan hastalarda da anti-dsDNA pozitifliği bildirilmiş ve bu hastalarda kutanoz vaskülit, artralji, artrit ve serözit gelişebildiği saptanmıştır [85]. SLE'nin böbrek tutulumunda anti-dsDNA antikorları yüksek düzeyde bulunurlar. Ayrıca glomerüllerdeki immün kompleks depozitleri anti-dsDNA'dan zengindirler [89].

2.4.3.2 Ekstrakte Edilebilir Nükleer Antijenlere Karşı Antikorlar (Anti-ENA)

Anti-ENA antikorlarının saptanması için sensitivite ve spesifitesi yüksek bir test yoktur. İki farklı yöntemin beraber kullanılması önerilir [90]. Sitoplazmik antijen varlığı dışında ANA pozitifliği olmadan anti-ENA pozitifliği nadiren saptanır [91].

Anti- Smith (Sm) ve Anti-Ribonükleoprotein (RNP)

Anti-Sm antikorları U1, U2, U4-6 ve U5 RNP parçacıklarının merkezini oluşturan B, C, D, E, F ve G proteinlerine karşı oluşur. Anti-Sm antikorları SLE hastalarının %5 ila 30'unda saptanırlar. Anti-Sm antikorları sıklıkla anti-RNP ile ilişkili olup nadiren tek başına saptanır. Anti-Sm antikorları SLE için oldukça spesifik olduğundan tanı kriterleri içinde yer alır. Anti-Sm pozitifliği SLE tanısında kullanılabilir ancak takip için uygun bir test değildir. Anti-RNP, SLE hastalarının %25 ila 47'sinde saptanır, yüksek titreler MCTD için tanı koydurucudur [92].

Anti-RNP antikorları daha çok U1RNA ile ilişkili proteinlere (70kDa, A ve C) karşı gelişmiştir. SLE tanısını doğrulamak için kullanılabilir. SLE için duyarlılığı %8 ila 69 arasındadır [93]. MCTD tanısı için özgünlüğü %84 ila 100, duyarlılığı %71 ila 100 arasında bulunmuştur. Anti U1RNP, SSc'li hastalarda %2 ila 14 arasında saptanır. Anti U1RNP pozitifliği, bağ dokusu hastalıklarında Raynaud fenomeni, sikka kompleksi, pulmoner tutulum ve artrit ile ilişkilidir [56].

Anti-Ro/SSA ve Anti- La/SSB Antikorları

Ro/La sistemi heterojen bir antijenik komplekstir ve 3 farklı proteinden oluşur. 60 ve 52 kDa olmak üzere 2 adet Ro proteini mevcuttur. La antijeni ise, 48 kDa ağırlığında nükleus ve sitoplazmada olan fosforile bir proteindir. La proteini aynı zamanda RNA polimeraz için bir terminasyon faktörüdür [94]. Anti-Ro/SSA ve Anti-La/SSB antikorları SjS'li hastalarda sık saptanır, ayrıca SLE, SjS/SLE örtüşme sendromu, subakut kutanöz lupus, neonatal lupus ve primer bilyer sirozda anti-Ro/SSA antikorları saptanabilir. SjS'li hastaların %70 ila 97'sinde SSA antikorları bulunmuştur ayrıca yüksek titreler purpura, vaskülit, multipl skleroz benzeri demiyelinizan sendrom gibi ekstraplandüler bulgularla ilişkilidir. SSB ise SjS ile daha yakın ilişkilidir ve primer SjS'de %70 ila 95 oranında saptanır [94].

SSc'li hastaların % 3 ila 11'inde SSA antikorları saptanmıştır ve bu antikor varlığı sikka semptomları, ciddi akciğer tutulumu ve ışığa hassasiyet ile ilişkilidir. Özellikle 52 kDa SSA, PM/DM hastaların %5 ila 15'inde gösterilmiştir. RA'lı hastaların %3 ila 15'inde SSA

antikorları saptanır ve bu hastalarda lökopeni, sikka semptomları, ışığa duyarlılık ve kompleman seviyelerinde azalma gözlenir [56].

Neonatal lupus, anti-Ro ve anti-La antikorları pozitif olan annelerin çocuklarında görülen, pasif olarak geçen bir otoimmün hastalıktır. Neonatal lupus, konjenital tam blok, deri döküntüsü, artmış karaciğer enzimleri ve sitopeni ile karakterizedir. Kalp bloğu kalıcı, diğer belirtiler geçicidir. Bu annelerin gebeliklerinin 16 ile 20. haftalarında maternal IgG antikorları plasental yolla fetal dolaşıma geçer. Fetal kardiyak dokuda Ro ve La antijen ekspresyonuna bağlı olarak 8 ile 24. haftalarda hasar başlar. Özellikle gebe kalan SLE hastalarında bu antikorların bakılması önerilmektedir [87].

Anti-Ribozomal P Antikorları

Ribozom proteinleri, ribozomun 60S subunitinde bulunan 3 çeşit fosfoproteine verilen genel isimdir. Bu proteinler elongasyon faktörleri ile protein sentezinde rol alırlar. Bu 3 protein SLE'li hastalarda otoantikör geliştiği saptanan hedef proteinlerdir. Anti ribozomal antikörler protein sentezini inhibe ederler. Son yıllarda SLE hastalarında ribozomun küçük subunitindeki proteinlere karşı gelişmiş otoantikörler da saptanmış özellikle anti L14'ün sipesifik ama az sıklıkta, anti L7'nin daha az sipesifik ancak daha sık bulunduğu gösterilmiştir [95]. P proteinleri aynı zamanda bazı paraziter enfeksiyonlara karşı immün yanıtta rol alırlar. Trypanosoma cruzi enfeksiyonunda protozoon P proteinlere karşı gelişmiş antikörler Chagas hastalığına neden olurlar [87]. Uygulanan metoda bağlı olarak SLE hastalarında anti ribozomal P saptanma sıklığı %6 ile 46 arasındadır [95]. Özellikle aktif hastalığı olan kişilerde bu antikör daha sık saptanır. Anti ribozomal P antikörünün özellikle lupus psikozu için sipesifik olduğunu düşündüren çalışmalar yanında ilişki olmadığını gösteren çalışmalar da vardır [96].

Anti-Sentromer ve Anti-Scl70

Klasik olarak SSc'de bilinen antikörler anti-Sentromer ve anti-Scl70 (anti topoizomeraz-1)'dir. Bu antikör ailesi, topoizomeraz enzimine karşı gelişmiştir. Scl70 antijeni 70 kDa ağırlığında nonhiston proteindir. Anti-Scl70 antikörleri sağlıklı erişkinlerde, SSc'li hastaların sağlıklı 1. derece akrabalarında, diğer bağ dokusu hastalıklarında ve primer Raynaud fenomeninde saptanmadıklarından tanıda oldukça spesifiktirler. Anti-Scl70 ve anti-Sentromer antikörler nadiren bir arada bulunurlar. Anti-Scl70 antikörleri difüz SSc'li hastaların %25 ile 40'ında bulunurken, sınırlı SSc'de ise %10'dan azında saptanırlar. Pulmoner fibrozis gelişen hastaların %50'den fazlasında anti-Scl70 antikörleri mevcuttur. Bazı çalışmalarda anti-Scl70

antikorlarının pulmoner tutulumun ciddiyeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Anti-Sc170 pozitif olgularda pulmoner fonksiyonlarda bozulmanın daha hızlı olduğu ve restriktif akciğer hastalığının daha sık olduğunu gösteren çalışmalar vardır [97]. Anti-Sc170 antikör pozitifliği SSc ilişkili mortalitede artışla ilişkilidir. Bunun nedeni pulmoner fibroze sekonder gelişen sağ kalp yetmezliğidir. Anti-Sc170 düzeyinin aralıklı olarak tekrar edilmesinin klinik pratikte yararı gösterilememiştir [97].

Anti-Sentromer antikörleri Hep-2 hücrelerinde granüler boyanma gösterir, daha sonra SSc'li hastalarda immüblot yöntemi ile 6 sentromerik proteine (CENP A-CENP F) karşı gelişen antikör olduğu saptanmıştır. Her ne kadar IIF altın standart yöntem olsa da birçok laboratuvarında ELISA kullanılmaktadır. ELISA yönteminde, antijen olarak CENP B kullanılır. SSc'li hastaların etnik kökenine bağlı olarak %20 ile 30 arasında saptanır. Nadiren sağlıklı kişilerde saptanabilir. Raynaud fenomeni olan kişilerde saptanması SSc gelişimi açısından uyarıcı olabilir. Anti-sentromer antikör özellikle kalsinozis, Raynaud fenomeni, özofagus motilite bozukluğu, sklerodaktili ve telenjiektaziyle karakterize CREST sendromu ile yakından ilişkilidir. Bu hastaların %55 ile 96'sında saptanır. Anti-sentromer antikör varlığı SSc'li hastalarda daha iyi prognozu gösterir. Daha çok sınırlı SSc'de görülmesine rağmen kalsinozis ve iskemik dijital kayıpla ilişkili olabilir. Anti-sentromer antikör varlığı daha az radyografik pulmoner fibrozisle ilişkilidir. Bu hastalarda DLCO anormal, FVC ve akciğer grafisi normal bulunur. Pulmoner hipertansiyon anti-sentromer pozitif hastalarda daha sıktır [56].

2.4.4 Romatoid Faktör

Romatoid faktör (RF), insan IgG'sinin Fc bölgesine yönelik IgM yapısında bir otoantikördür. RA hastalarının yaklaşık %70 ila 80'inde tanımlanmıştır. Amerikan Romatoloji Koleji (ACR), RF testini romatoid artrit için tanısal bir belirteç olarak kullanmaktadır. Hastalığın daha şiddetli formlarında yüksek seviyeler prognostik faktör olarak görülmüştür. RF testi, sistemik lupus eritematozus, karışık bağ dokusu hastalığı, Sjögren sendromu ve skleroderma gibi diğer otoimmün rahatsızlıkları olan hastalarda; kronik aktif hepatit ve diğer kronik enfeksiyon durumlarında; yaşı ilerlemiş sağlıklı kişilerde de pozitif olabilir. RF miktarı bir lateks partikül aglütinasyon testi olan nefelometri yöntemi ile ölçülür. Bu teknik, nispeten kolay otomasyonu nedeniyle klinik laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmaktadır [98].

2.4.5 Anti-CCP (siklik sitriline peptit) Otoantikoru

Romatoid artrit önemli bir tanısal ve prognostik belirteci olarak kullanılan siklik sitriline peptidlere (CCP) yönelik otoantikordur. Reaktif antijenin kritik bir bileşeni argininin bir modifikasyonu olan sitrülindir. RA tanısında anti-CCP ölçümleri % 47-76 duyarlılık ve % 90-96 özgüllük içerir. Anti-CCP otoantikoru, RA semptomlarının başlangıcından önce ortaya çıkabildikleri için yararlı bir prognostik faktördür. Ayrıca araştırmalar, erken RA'lı anti-CCP otoantikoru pozitif hastaların artan eklem hasarı riski altında olabileceğini göstermiştir. Birçok laboratuvar şu anda anti-CCP'yi ELISA yöntemi ile ölçmektedir [99].

2.4.6 Anti-nötrofil Sitoplazmik Antikorlar (ANCA)

Anti-nötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA), granülokoz polianjit, mikroskobik polianjit, eozinofilik polianjit ve idiyopatik hızla ilerleyen glomerülonefrit (RPGN) için yararlı tanısal belirteçlerdir. ANCA ölçümünde substrat olarak nötrofillerin kullanıldığı bir IIF testi ile ölçülür; pozitif sonuç sitoplazmik ANCA (cANCA) paterni veya bir periferik ANCA (pANCA) paternindedir. ELISA testiyle, anti-proteinaz 3 (PR3) ve anti-miyeloperoksidaza (MPO) karşı daha spesifik sonuçlar alınır. Hastalık tanısıyla ilgili olarak testlerin özgüllüğü: cANCA % 95, pANCA % 80, anti-PR3 % 90 ve anti-MPO % 90 iken IIF ANCA testinin sonuçları ELISA testinin sonuçlarıyla birleştirildiğinde (cANCA/anti-PR3 pozitifliği, pANCA/anti-MPO pozitifliği) tanısal özgüllük % 99'a yükselir [99].

Otoantikör	Otoantijen	İlişkili Hastalık
Anti-SM/RNP	U1 snRNP	MCTD, SLE
Anti-SSA (Ro)	RNP Kompleksi İlişkili Proteinler	SjS, Neonatal Lupus, SLE
Anti-SSB (La)	RNP polimeraz 3 deki Fosforile Proteinler	SjS, SLE, Neonatal Lupus
Anti-Scl70	DNA Topoizomeraz 1	SSc
Anti-Sentromer	Kinetekor Proteinleri	CREST Sendromu
Anti-Jo1	Histidil-tRNA Sentetaz	Polimiyozit
Anti-Fibrillarin	U3 snRNP	SSc
Anti-RNA Polimeraz 1	RNA Polimeraz 1 Kompleksi	SSc
Anti Mitokondriyel Antikor	Piruvat Dehidrogenaz Kompleksi	Pirimer Bilyer Siroz
c-ANCA	Proteinaz 3	Granülokoz Polianjit
p-ANCA	Myeloperoksidaz	Mikroskopik Polianjit
Anti-Tiroglobulin	Tiroglobulin	Kronik Tiroidit
Anti-Tiroid Peroksidaz	Tiroid Peroksidaz	Kronik Tiroidit
Anti-Histon	Histon Proteinleri	İlaça Bağlı Lupus
ASMA	Düz Kas	Otoimmün Hepatit
RF	Ig G Fc	Romatoid Artrit
Anti-CCP	Sitrülenmiş peptitler	Romatoid Artrit
Anti-LKM1	LKM-1	Tip-2 otoimmün hepatit

Tablo 3: Otoantikör ve Otoantijen İlişkili Hastalıklar[6]

2.5 Otoantikor Tayininde Kullanılan Yöntemler

Otoimmün hastalıkların tanısında otoantikorlar kullanılmaktadır. Hargraves ve arkadaşlarının 1948 yılında LE hücreleri üzerine yapılan çalışmalar ile başlayan serüven IFA yöntemi ile ANA tespiti, ELİSA ve IFA yöntemi ile anti-dsDNA tespiti ve immüno blot yöntemiyle anti-ENA profili tespiti ile zirveye ulaşmıştır. Günümüzde ise bu amaçla birçok yöntem kullanılmaktadır (tablo-4) [100].

1- İndirekt İmmunofloresan (IFA)
2- Radioimmünoassay (RIA)
3- Enzyme-linked İmmunosorbent Assay (ELISA)
4 - İmmünoradiometrik assay (IRMA)
5- İmmunoblot, Western blot, Dot blot
6- Aglütinasyon (Hemaglütinasyon ve Lateks aglütinasyon)
7- Radio İmmünopresipitasyon
8- Nefelometri
9- İmmünodifüzyon
10- Counter İmmünoelektroforez

Tablo 4: Otoantikor Tayininde Kullanılan Yöntemler [100]

2.5.1 İmmunofloresan Antikor (IFA) Testi

IFA testinde hasta serumunda antikor tespiti yapılır. Lamlar üzerine istenen antijenlerin sabitleştirilmesi ile hazırlanır. Hasta serumları bu lamlar üzerindeki alanlara damlatılır ve inkübe edilir. Fosfatlı tampon ile yıkama işleminden sonra “fluorescein isothiocyanate” ile işaretli anti-insan antikor eklenir. Tekrar inkübasyon ve tekrar yıkamadan sonra kurutulur ve gliserol damlatılarak lamelle kapatılır ve incelenir [101]. ANA testi romatolojik hastalıkların tanısında büyük önem taşımaktadır. Günümüze kadar bu amaç için birçok yöntem geliştirilmiş olmasına rağmen altın standart yöntem IFA tekniğidir [102]. IFA testi, duyarlılık, uygulama kolaylığı ve düşük maliyet gibi avantajları nedeniyle ANA saptanmasında en sık kullanılan yöntemdir [103]. IFA testinde eskiden antijen kaynağı olarak sıçan doku kesitleri kullanılırken günümüzde ise bunun yerini HEp-2 hücreleri almıştır. HEp-2 hücreleri larenks kanserli hastalardan elde edilen insan epitelyal hücre dizisidir. Hücrelerin büyük nükleusları ve hızlı bölünmesi sayesinde hücre siklusu boyunca farklı şekillerde sergilenen antijenler daha kolay tespit edilebilmektedir [103]. Değerlendirilmesinin kişinin bilgi ve deneyimine

bağlı olması, floresan mikroskopunun kalitesi gibi faktörler sebebiyle IFA testinde laboratuvarlar arası çalışmalar karşılaştırıldığında farklı sonuçlar ortaya çıkabilir [103]. Antikor spesifikliği sağlaması nedeni ile doğrulama testi olarak, immünodifüzyon, counter immünoelektroforez (CIE), immünoblot, radioimmunoassay (RIA) ve ELISA gibi yeni teknikler kullanılmaktadır [99].

2.5.2 İmmünodifüzyon

İmmünodifüzyon yönteminin geliştirilmesi, hücrede çözülebilen antijenlere karşı gelişen antikorların gösterilmesi sağlanmıştır. IFA yönteminde anti-Ro antikorları yanlış negatif çıkabileceği için, klinik görünümü SLE'yi destekliorsa immünodifüzyon veya ELISA yöntemleri kullanılarak doğrulama testi yapılması gerekmektedir [30]. Bu sebeple ileri araştırma laboratuvarlarında IFA tekniği ile immünodifüzyon metodu birlikte kullanılarak ANA bakılması yaygınlaşmıştır. İmmünodifüzyon yönteminde özgül prototip bir serumla, timus ve dalak doku ekstraktları kullanılmaktadır. Ayrıca DNA gibi büyük moleküllerin agarda difüzyonu zayıf olduğu için bu yöntemle anti-DNA tayini zordur [104].

2.5.3 İmmünoblot

Antikor subtipini tanımlamak için zorunlu bir test haline gelmiştir. Temel olarak, antijen preparatları poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) ile ayrılmakta ve nitrosellüloz membrana elektrotransferi gerçekleştirilmektedir. Sonraki aşamada seyreltilmiş hasta serumu ile inkübe edilmekte ve antikor tepkimesi radyoaktif veya enzim işaretli ikinci bir belirteç ile belirlenmektedir. Çözünmüş proteinlerin poliakrilamid jelden nitrosellüloz membrana elektrotransferi proteinlerin kantitatif tayinini mümkün hale getirdiği gibi transfer süreci içinde ayrılmış proteinlerin tamamen çözülmesini sağlamaktadır. Bir sonraki adımda katı yüzeye tutunmuş antijenler antikorla kolaylıkla birleşebilmektedir [105].

İmmünoblot tekniği ile nükleer antijenlere karşı gelişen antikorların alt grupları belirlenebilmektedir. Sistemik romatolojik hastalıkların tanısında, ANA subtipi belirlenme ihtiyacı klinik laboratuvarlarda immünoblot tekniğinin yer almasını sağlamıştır. Yaygın bir metod olan IFA, ANA belirlenmesinde bazen yeterince özgül olmamaktadır. Bu yüzden immünoblot tekniğinin otoantikorların moleküler düzeyde özgüllüğünü belirlemekte önemli bir teknik olduğu düşünülmektedir [106, 107]. Örneğin; Sm antijenine karşı gelişen antikorlar SLE varlığını gösterirken, Anti-Scl70 veya fibrillarine karşı gelişen antikorlar ise SSc'yi gösterir. Anti SS-A ve Anti SS-B antikorları genellikle SjS ve SLE'de görülür.

2.5.4 ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay)

Mikropleyt ukurlarına özgül antijen bağlıdır. Çukurlara hasta serumu dilüsyonları eklenir. Özgül antikor (IgG veya IgM) varsa antijenle birleşir. İnkübasyon ve yıkama işleminden sonra hangi tip antikor araştırılıyorsa ona özgül birleşik eklenir (IgG araştırılıyorsa enzimle işaretili anti-insan IgG, IgM araştırılıyorsa enzimle işaretili anti-insan IgM). İnkübasyon ve yıkama sonrası çukurlara kromojenik substrat eklenir. Reaksiyon sonucu oluşan renk değişikliği hasta serumundaki antikor miktarı ile doğru orantılıdır ve spektrofotometrik olarak değerlendirilir [101].

ELISA yöntemi, özellikle dsDNA'ya karşı oluşan antikorların belirlenmesinde ayrıca anti-ENA ve anti-kardiyolipin antikorların belirlenmesinde de kullanılmaktadır. Bunun yanısıra ELISA yönteminde total ANA tespiti de yapılmaktadır. Ancak SS-A ve SS-B nükleusta az miktarda bulunduğundan dolayı ELISA yöntemi ile iyi belirlenemese bile, bu durum total ANA tesbitinde önemli bir sorun olarak görülmemektedir. Bu teknik, az sürede daha çok hasta üzerinde çalışılabildiği için ve nükleus içinde yaygın halde bulunan ANA'ları daha kolay belirlediği için IFA yönteminden daha kullanışlı bir teknik olarak kabul edilmiştir [104, 108]. ELISA testlerinde, her belirteç ayrı değerlendirilmekte ayrıca yöntemin teknik bir özelliği nedeni ile kuyucukların ilk ve son sıralarında yer alan serumların aynı kalibrasyonla değerlendirilmesi analitik sapmalara neden olmaktadır [107]. ELISA tekniğinin duyarlılığı yüksektir fakat özgüllüğünün düşük olması nedeniyle yanlış pozitifliklere sık rastlanmaktadır [104, 108].

2.6 Otoimmün Hastalıklar

Self toleransın bozulması nedeniyle, dokulara karşı humoral immün cevap aracılığıyla gelişen kronik heterojen hastalık grubuna otoimmün hastalıklar denilmektedir. Sistemik dolaşımda veya spesifik bazı dokularda otoantikorların bulunması otoimmün hastalıkların temel özelliğidir [9]. Otoimmün hastalıkların tanı ve takibinde 50 yıldan uzun bir süredir otoantikor testleri kullanılmaktadır [109]. Serumda yüksek titrede otoantikor saptanması, otoimmün hastalığın varlığını düşündürmekte veya otoimmün hastalığı olan bireyde hastalığa karşı gelişen immün yanıtın Şiddeti hakkında bilgi vermektedir [110]. Toplumdaki otoimmün hastalıkların %1–2 oranında olduğu tahmin edilmektedir [107]. Klinikte otoimmün hastalıklar organ tutulumuna göre; organ spesifik otoimmün hastalıklar ve sistemik otoimmün hastalıklar olarak iki gruba ayrılır. Organ spesifik otoimmün hastalıklarda, immün yanıt tek bir organla

veya dokuyla sınırlı kalırken, sistemik otoimmün hastalıklarda ise birçok farklı organ tutulumu söz konusudur [9].

Organ Spesifik Otoimmün Hastalıklar	Sistemik Otoimmün Hastalıklar
Hashimoto Tiroiditi	Romatoid Artrit
Otoimmün Hemolitik Anemi	Sistemik Lupus Eritematozus
Pernisyöz Anemi	Sjögren Sendromu
Addison Hastalığı	Sistemik Siklerozis
Otoimmün Ensefalomyelit	Polimiyozit/Dermatomyozit
Good Pasture Sendromu	Karışık Bağ Doku Hastalığı[MCTD]
Otoimmün Trombositopeni	Farklılaşmamış Bağ Doku Hastalığı[UCTD]
Myastenia Graves	Jüvenil Romatoid Artrit
Diffüz Toksik Guatr	Vaskülitler
İnsüline Bağlı Diabetes Mellitus	
Otoimmün Hepatit	
Primer Bilyer Siroz	
Ülseratif Kolit	
Vitiligo	
Pemfigus	

Tablo 5: ANA pozitif olan organ spesifik ve sistemik otoimmün hastalıklar [9]

2.6.1 Sistemik Otoimmün Hastalıklar

RA, SLE, skleroderma, Sjögren sendromu, dermatomyozit/polimiyozit ve diğer sistemik otoimmün hastalıklara dahil edilemeyen karışık bağ doku hastalıkları (MCTD) sistemik otoimmün hastalıklara örnek olarak gösterilebilir. Bu gruptaki hastalıklarda, vücudun birden fazla organ veya dokusunda otoimmün reaksiyonlar görülebilmekte ve hastalık sırasında hücre nükleusu ve/veya sitoplazmadaki yapılara karşı otoantikolar oluşmaktadır. Bu

otoantikörlara genel olarak anti-nökleer antikor (ANA) adı verilmekte ve sistemik otoimmün hastalıkların tanısında büyük önem taşımaktadır [9,111].

2.6.1.1 Romatoid Artrit

Romatoid artrit (RA) etiyolojisi bilinmeyen simetrik, inflamatuvar, periferik bir poliartritir. Tipik olarak tendon ve bağlarda deformiteye, kıkırdak ve kemiğin aşınmasıyla eklemlerin tahribine yol açar. Tedavi edilmezse veya tedaviye yanıt vermezse, iltihaplanma ve eklem yıkımı, fiziksel işlev kaybına, günlük yaşam işlevini yerine getirememeye neden olur. Hastalığı modifiye eden antiromatizmal ilaçlar (DMARD) ile erken tedavi, hastalığın kontrolünün sağlanmasında ve eklem hasarının önlenmesinde önemlidir. Artrit, tipik olarak ellerde metakarpofalangeal (MCP) ve proksimal interfalangeal (PIP), ayaklarda metatarsofalangeal (MTP) eklemleri ve el bileklerini sıklıkla tutar. Romatoid faktör (RF) hastaların %70 ila 80'inde görülür ancak sağlıklı bireylerin %5 ila 10'unda, SLE'li kişilerin %20 ila 30'unda, miks kriyoglobulinemili hastaların çoğunda ve diğer birçok enflamatuvar durumda saptandığından özgüllüğü düşüktür. Anti-CCP antikorları ise RA için RF'ye benzer bir duyarlılığa sahip olmasıyla birlikte %95 ile 98 arasında yüksek bir özgüllüğe sahiptir [112, 113]. Hem RF hem de anti-CCP antikorlarından yoksun hastalarda, dışlama ve tanı kriterleri karşılandığında seronegatif RA teşhisi konabilir. Seronegatif RA'lı hastalar, genetik olarak ve çevresel riskleri, hastalık şiddeti ve bazı ilaçlara klinik yanıt verme açısından anti-CCP pozitif hastalardan farklıdır [113]. RA için 2010 American College of Rheumatology (ACR) sınıflandırma kriterleri kullanılarak, en az bir eklemden sinovit varlığında, sinoviti açıklayan alternatif bir tanı olmaması halinde ve dört alandaki (tutulan eklem sayısı, yeri, serolojik anormallik (RF-CCP pozitifliği), akut faz yüksekliği ve eklem tutulumunun en az 6 hafta olması) bireysel puanlardan toplamda en az 6 puan alınması ile tanı konur [114].

2.6.1.2 Sistemik Lupus Eritematozus

Sistemik lupus eritematozus (SLE), vücudun hemen hemen her organını etkileyebilen, nedeni bilinmeyen kronik bir otoimmün hastalıktır. ANA, anti-dsDNA, anti-Smith ve kompleman düşüklüğü gibi immünolojik anormallikler hastalığın önemli bir özelliğidir. Hastalar hafif eklem ve cilt tutulumundan yaşamı tehdit eden böbrek, hematolojik veya merkezi sinir sistemi tutulumuna kadar değişen çeşitli klinik özelliklerle başvurur. SLE'nin klinik heterojenliği ve patognomonik özelliklerin veya testlerin olmaması klinisyen için tanısal bir zorluk oluşturmaktadır. SLE tanısı, genellikle alternatif tanıları dışlandıktan sonra; klinik, laboratuvar, fizik muayene ve görüntüleme bulgularına dayanır. Systemic Lupus International

Collaborating Clinics (SLICC) kriterleri, bir hastanın 11 klinik kriterden en az biri ve altı immünolojik kriterden biri dahil olmak üzere 17 kriterden en az 4'ünü karşılama veya hastanın ANA pozitifliği varlığında SLE ile uyumlu biyopsi ile kanıtlanmış nefrite sahip olmasını gerektirir [115,116]. Yorgunluk, ateş ve kilo kaybı gibi yapısal semptomlar, SLE'li hastaların çoğunda hastalığın seyrinin bir noktasında mevcuttur. Miyalji SLE'li hastalar arasında yaygındır, oysa şiddetli kas zayıflığı veya miyozit nispeten nadirdir [116]. Artrit ve artralji, SLE'li hastaların %90'ından fazlasında görülür ve genellikle en erken belirtilerden biridir [117]. Birçok hastada ayrıca deri ve mukoza zarı lezyonları vardır. Artrit, orta derecede ağrılı, poliartiküler, simetrik ve genellikle erozyona neden olmamasına rağmen bazen SLE'li hastalar, romatoid artrite benzer eroziv artrit geliştirirler [118]. SLE'deki cilt tutulumu değişken ve ışığa hassastır. En yaygın lezyon, güneşe maruz kaldıktan sonra ortaya çıkan yanaklar ve burun üzerindeki malar dağılımlı eritem olarak ortaya çıkar ancak bazı hastalarda daha inflamatuvar ve skarlaşma eğilimi olan diskoid lezyonlar gelişebilir. Birçok hastada genellikle ağrısız olan oral veya nazal ülserler gelişir [119]. SLE'li hastalarda kalp hastalığı yaygındır ve perikardiyum, miyokardiyum, kapakçıklar, iletim sistemi ve koroner arterleri içerebilir. Perikardit, SLE'nin en yaygın kardiyak belirtisidir ve hastaların yaklaşık %25'inde hastalık seyrinin bir noktasında ortaya çıkar [120]. Raynaud fenomeni, vaskülit ve tromboembolik hastalık dahil olmak üzere çeşitli vasküler anormallikler SLE hastalarında ortaya çıkabilir [116, 121]. SLE hastalarının yaklaşık %50'sinde klinik olarak böbrek tutulumu görülmekle birlikte önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir [122]. Ayrıca SLE hastalarının %50'sinde cilt, solunum ve üriner sistem enfeksiyonları gelişir [123]. SLE'nin pulmoner belirtileri arasında plörit, pnömoni, interstisyel akciğer hastalığı, pulmoner hipertansiyon, büzüşen akciğer sendromu ve alveolar kanama bulunur [120]. SLE'nin nöropsikiyatrik tutulumu, bilişsel işlev bozukluğu, organik beyin sendromları, deliryum, psikoz, nöbetler, baş ağrısı ve periferik nöropatiler dahil olmak üzere çok çeşitli nörolojik ve psikiyatrik belirtilerden oluşur [124]. Hematolojik anormallikler, üç kan hücresi hattını da etkileyebilir ve anemi, lökopeni ve trombositopeniyi içerir ayrıca lenfadenopati ve splenomegali de görülebilir [125].

2.6.1.3 Sjögren Sendromu

Sjögren Sendromu (SjS), azalmış lakrimal ve tükürük bezi fonksiyonu ile karakterize, kronik otoimmün inflamatuvar bir bozukluktur ancak SjS'nin klinik belirtileri hem ekzokrin bezi tutulumu hem de ekstrasgladüler hastalık özelliklerini içerir. SjS, diğer hastalıklarla ilişkisiz birincil formda ve romatoid artrit (RA), sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi romatizmal

hastalıklarla örtüşen ikincil bir formda ortaya çıkabilir. Hem birincil hem de ikincil SjS'de azalmış ekzokrin bezi fonksiyonu, kuru göz (keratokonjunktivitis sicca) ve ağız kuruluğu (kserostomi) semptomlarının bir kombinasyonuna yol açar. Sjögren sendromunun ekstraplandüler belirtileri, karaciğer ve böbrek gibi organların kanal epitel yapılarına karşı otoimmün nedenli iltihaplanma sonucu oluşur [126].

Göz kuruluğu, ağız kuruluğu, parotis bezi büyümesi, diş çürüklerinde açıklanamayan artış veya spesifik serolojik testlerin anormal sonuçları (Anti-Ro/SSA) olan kişilerde Sjögren sendromundan şüphelenilmelidir. Hastanın ağız ve göz kuruluğunun diğer nedenleri ekarte edildikten sonra objektif bir kuru göz belirteci, tükürük bezi hipofonksiyonuyla birlikte anti Ro/SSA antikörleri veya pozitif bir labiyal tükürük bezi biyopsisi (yani odak skoru ≥ 1 olan fokal lenfositik sialadenit) ile SjS tanısı konabilmektedir. 2016 yılında, Amerikan Romatoloji Koleji (ACR) ve Avrupa Romatizma ile Mücadele Ligi (EULAR), uluslararası fikir birliği yoluyla elde edilen birincil SjS sınıflandırmasında; anormal bir Schirmer testi veya yüksek oküler yüzey boyama, düşük tükürük akış hızı, odak skoru ≥ 1 olan fokal lenfositik sialadeniti gösteren bir labiyal tükürük bezi biyopsisi ve ilgili otoantikör (SS-A) saptanmasını içeren yeni bir dizi kriteri ortaklaşa onaylamıştır [127].

Sjögren sendromlu (SjS) hastalarda, deri, eklemler, pankreas, karaciğer, akciğerler, kalp, böbrekler, mesane, periferik sinir sistemi, merkezi sinir sistemi, gastrointestinal ve jinekolojik sistem etkilenebilir[125]. Kutanöz vaskülit ve Raynaud fenomeni dahil olmak üzere vasküler hastalık meydana gelebilir. Glomerülonefrit ve vaskülit gibi diğer ekstraplandüler belirtiler, immün kompleks birikiminden kaynaklanır. Bunlar en sık kriyoglobulinemi bağlamında gelişir ve duktal epitel yapılarında immün yanıtla kıyasla daha yüksek derecede morbidite ve mortaliteye sahiptir [128]. SjS, artralji ve artrit yanı sıra genellikle asemptomatik olan miyopati dahil olmak üzere hem eklem hem de kas belirtileriyle ilişkilidir [129]. SjS'li hastalar, genellikle poliüri ile sonuçlanan polidipsi döngüsü nedeniyle uyku bozukluklarından muzdariptir. Genellikle yorgunluğun eşlik ettiği fibromiyalji SjS'de de oldukça yaygındır. SjS, anormal karaciğer fonksiyon testleri, primer biliyer kolanjit ve otoimmün hepatit dahil hepatik anormalliklerle ilişkilidir [130]. Çölyak hastalığı SjS'li hastalarda genel popülasyona göre daha yaygındır [131]. Birincil SjS'li hastaların % 10 ila 70'inde en sık otoimmün tiroidit olmak üzere tiroid hastalıkları bulunmuştur [132]. SjS, büyük ve küçük hava yollarının yanı sıra üst solunum yolunu da etkileyebilir. İnterstisyel akciğer hastalığı, SjS'de spesifik olmayan interstisyel pnömonit, olağan interstisyel pnömonit, lenfositik interstisyel pnömoni ve kriptojenik organize pnömoni dahil olmak üzere çeşitli şekillerde ortaya çıkabilir [133]. SjS,

karmaşık bir dizi periferik sinir sistemi ve beyin anormalliklerine neden olabilir. Periferik nöropati, hastaların yaklaşık % 10'unu etkiler. Duygu durum bozuklukları SjS hastalarında en yaygın psikiyatrik rahatsızlıktır [134]. SjS'nin hematolojik belirtileri arasında sitopeniler (anemi ve lökopeni), hipergammaglobulinemi, monoklonal gammopatiler, kriyoglobulinemi ve lenfoma görülür [135]. SjS'de yaşam boyu Non-Hodgkin lenfoma riski yaklaşık %5'tir. Non-Hodgkin lenfoma, SjS tanısından ortalama yedi yıl sonra ortaya çıkar [136]. SjS'de interstisyel nefrit, renal tübüler asidoza ve azalmış konsantrasyon olma yeteneğine yol açan renal tübüler disfonksiyona sebep olur. Yaygın serolojik bulgular arasında antinükleer antikorlar (ANA), anti-Ro/SSA ve anti-La/SSB antikorları, romatoid faktör (RF), kriyoglobulinemi ve hipokomplementemi bulunur [137].

2.6.1.4 Sistemik Skleroz

Sistemik skleroz (SSc), yaygın vasküler fonksiyon bozukluğu, deri ve iç organların ilerleyici fibrozu ile karakterize kronik multisistemik bir hastalıktır. SSc, karakteristik klinik bulgular ve özgül serolojik anormallikler varlığında tanı almakla birlikte cilt tutulumunun derecesine, eşlik eden iç organ tutulumuna ve diğer sistemik romatizmal hastalıklarla örtüşen özelliklerin varlığına göre sınıflandırılır. SSc'nin ana alt tipleri arasında sınırlı kutanöz SSc (lcSSc), yaygın kutanöz SSc (dcSSc), SSc sine skleroderma ve SSc örtüşme sendromu bulunur. SSc, kadınlarda sınırlı hastalık, erken yaşta başlangıç, artmış periferik vasküler hastalık ve pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) riskinde artışla ilişkiliyken erkeklerde yaygın hastalık riski, daha şiddetli interstisyel akciğer hastalığı (ILD) ve artmış kardiyovasküler komplikasyonlar ile ilişkilidir [138]. Sistemik sklerozlu hastalarda, ciltle ilgili rahatsızlık, eklem ağrısı, Raynaud fenomeni (RP) ve iskemik dijital ülserler nedeni ile ağrı ve yorgunluk sık görülür [139]. Deri tutulumu, SSc'de parmaklar, eller ve yüzden başlar ve oldukça sık görülür. Yaygın kutanöz SSc olan hastalar ilerleyici cilt fibrozu ve akciğer fonksiyonunun kötüleşmesi ile ilişkilendirilmiştir [140]. Raynaud fenomeni, ellerin ve ayakların dijital arterlerindeki geri dönüşümlü vazospazmı nedeniyle SSc'li hastalarda her zaman görülmektedir. SSc'de, yaygın cilt tutulumu ve antitopoizomeraz I (anti-Scl-70) pozitifliği olan hastalarda dijital ülserler daha sık görülür ayrıca başvuru anında iskemik dijital ülser öyküsü kardiyovasküler tutulum ve azalmış sağ kalım ile ilişkilendirilmiştir [141]. SSc'de kas-iskelet sistemi tutulumuna bağlı olarak ellerde şişme, artralji, miyalji ve artrit görülebilir [142]. SSc hastalarının yaklaşık %90'ında gastrointestinal tutulum vardır ve en sık yemek borusu tutulumu görülür. Kronik gastroözofageal reflü ve tekrarlayan mikroaspirasyon epizodları, interstisyel akciğer hastalığının gelişmesine veya ilerlemesine katkıda bulunabilir

[143]. SSc'li hastaların %80'inden fazlasında pulmoner tutulum görülmekle birlikte iki temel klinik belirti interstisyel akciğer hastalığı (ILD) ve pulmoner arteriyel hipertansiyona (PAH) yol açan pulmoner vasküler hastalıktır. SSc'li hastalarda miyokard, perikard ve iletim sistemi tutulabildiği gibi, PAH, ILD veya skleroderma renal krizine ikincil olarak da kalp tutulumu ortaya çıkabilir. Hastaların yaklaşık yarısında klinik böbrek hastalığı görülür. En ciddi böbrek komplikasyonu olan skleroderma renal krizi, genellikle erken evre hastalığı ve yaygın deri tutulumu olan hastaların %10 ila 15'inde görülür ve kötü prognozla ilişkilidir [144]. Anti-topoizomeraz I (Scl-70) antikoru genellikle yaygın kutanöz SSc ve şiddetli interstisyel akciğer hastalığı riski ile ilişkilidir. Anti-RNA polimeraz III antikoru, dcSSc'li hastalarda bulunur ve genellikle hızla ilerleyen cilt tutulumu ve skleroderma renal kriz için artmış risk ile ilişkilidir [144, 145]. Anti-DNA topoizomeraz I, Anti-sentromer ve anti-RNA polimeraz III testleri SSc için %99,5 spesifik ancak %20 ila 50 duyarlıdır [145].

Her iki elin parmaklarında, metakarpofalangeal eklemlerin proksimaline uzanan deri kalınlaşması olan hastalar sınırlı veya yaygın SSc tanısı alır. Amerikan Romatoloji Koleji (ACR) ve Avrupa Romatizma Karşıtları Ligi(EULAR) tarafından SSc'li hastaları belirlemek için ortak geliştirilmiş 2013 kriterleri, deri veya iç organların fibrozu, spesifik oto-antikorların üretimi ve vaskülopati kanıtını içerir. SSc tanı kriterleri, parmaklarda cilt kalınlaşması, parmak ucu lezyonları, telenjiektazi, tırnak yatağında anormal kıvrımlı kılcal damarlar, interstisyel akciğer hastalığı veya pulmoner arteriyel hipertansiyon, Raynaud fenomeni ve SSc ile ilgili otoantikorlardan oluşur [146].

2.6.1.5 Dermatomyozit ve Polimiyozit

Dermatomyozit (DM) ve polimiyozit (PM), proksimal iskelet kası güçsüzlüğü ve kas inflamasyonunun kanıtları ile karakterize idiyopatik inflamatuvar miyopatilerdir [147]. DM, gottron papülleri ve heliotrope raş gibi patognomonik döküntülerle PM'den ayrılır. Ayrıca DM'de, ışıkla dağılan eritem, poikiloderma, tırnak kıvrımı değişiklikleri, kafa derisi tutulumu ve kalsinozis de karakteristiktir [148]. Kas güçsüzlüğü genellikle sinsi veya subakut bir şekilde gelişir ve birkaç ay içinde kademeli olarak kötüleşir. Kas atrofisi şiddetli, uzun süredir devam eden hastalıkta mevcut olabilir. Hastaların çoğu proksimal iskelet kası zayıflığı sergiler. İnterstisyel akciğer hastalığı, disfaji ve poliartrit, yapısal semptomların yanı sıra Raynaud fenomeni bazı hastalarda mevcuttur. DM'li hastalarda malignite riski artabilir. Orofarengeal ve üst özofagus kası tutulumu disfajiye, nazal yetmezliğe veya aspirasyona neden olabilir. Solunum yetmezliği, diyafram ve göğüs kaslarının zayıflığından

kaynaklanabilir [147, 148]. Çoğu hastada serum kreatin kinaz (CK), laktat dehidrojenaz, aldolaz ve aminotransferazlarda yükselmeler meydana gelir. Kas enzim seviyeleri, tanı koymada ve hastalık aktivitesini takip etmede faydalıdır. Miyozite özgü otoantikorlar arasında bulunan aminoasit transfer ribonükleik asit (tRNA) sentetazlara karşı antikorlar görülür ayrıca anti-histidil tRNA sentetaz antikorları, ILD, Raynaud fenomeni, artrit ve tamirci eliyle karakterize antisentaz sendromu olarak bilinir [149]. Dermatomyozit ve polimiyozit tanısı genellikle simetrik proksimal kas güçsüzlüğü ve kas enzimlerinde artış gibi karakteristik klinik ve laboratuvar bulgularının varlığına bağlıdır. DM'li hastalar, oldukça karakteristik kutanöz belirtiler sergileyebilir ve DM'nin kutanöz belirtileri, hastaların bir alt grubunda kas güçsüzlüğü olmaksızın ortaya çıkabilir. DM ve PM hastalarının %80'inde antinükleer antikorlar, %30 ila 40'ında miyozite özgü otoantikorlar ve miyozitle ilişkili otoantikorlar mevcuttur [150].

2.6.1.6 Karmaşık Bağ Doku Hastalığı (MCTD)

MCTD, sistemik lupus eritematozus, sistemik skleroz ve polimiyozit özelliklerini içeren bir örtüşme sendromudur. Önceden ekstrakte edilebilir nükleer antijen (anti-ENA) olarak adlandırılan U1RNP'ye karşı bir otoantikorun yüksek titrelerinin varlığı ile tanımlanır [151]. MCTD'nin teşhisi, karakteristik örtüşen özelliklerin genellikle birkaç yıl boyunca ardışık olarak ortaya çıkması nedeniyle genellikle karmaşıktır.

2.6.1.7 Sınıflandırılmayan Sistemik Romatizmal Hastalıklar (UCTD)

Sistemik semptomları olan romatizma hastalarının %25 kadarı kesin olarak tanı alamadığı gibi, bu hastaların çoğu 5 ila 10 yıllık takip süresince tanı konulamaz [152]. Spesifik bir teşhis, yalnızca hastalar uygun sınıflandırma kriterlerini karşıladığında yapılmalıdır; diğer hastalar periyodik olarak izlenmeli, yeniden değerlendirilmeli ve majör romatolojik semptomlarına göre tedavi edilmelidir [153].

2.6.2 Organ Spesifik Otoimmün Hastalıklar

Organ spesifik otoimmün hastalıklarda, hastalık semptomları otoimmün yanıtın tipine göre tek bir organla veya dokuyla sınırlı kalmakta ve hastalığın gerçekleştiği dokunun dışında kalan kısımlar otoimmün mekanizmalardan etkilenmemektedir. Dolayısıyla organ spesifik otoimmün hastalıklar, hastalığın gerçekleştiği organ veya dokuya göre sınıflandırılmaktadırlar [1].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1.Hasta Grubu

Bu çalışmamıza, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi 2018-2020 tarihleri arasında başvurmuş, ANA-IFA testi 1/160 titre ve üstünde pozitif saptanan 622 hasta dahil edilmiştir. Anti-ds DNA ve anti-ENA profili (SS-A, SS-B, SCL-70, anti-SM, SM-RNP, anti-sentromer, ENA nükleozomu, anti-ribozomal P protein) içerisinde en az 3 ANA subtipi çalışılan, 18 yaş üzeri kişilerin sonuçları retrospektif olarak dosya tarama yöntemi ile çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmamıza 539 kadın, 83 erkek olmak üzere 18-87 yaş aralığında toplam 622 hasta dahil edilmiştir. Bu hastalarda JO-1, AMA, ASMA, LKM, RF, anti-CCP, anti-fosfolipid antikor, lupus antikoagulanı, ANCA profili, anti-TPO, anti-TG, C3 ve C4 sonuçları da değerlendirilmiştir. Çalışmamızla ilgili etik kurul onayı Bezmialem Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 18.02.2020 tarih ve 04/68 numaralı kararı ile alınmıştır.

3.2 Yöntemler

ANA testi, IFA yöntemi ile üretici firmanın (AESKU GROUP, Almanya) önerilerine göre (HELIOS® Tam Otomatik IFA Cihazında) çalışılmıştır.

ANA subtipleri, immüblot yöntemi ile üretici firmanın (AESKU GROUP, Almanya) önerilerine göre (HELMED® Otomatik IMMUNBLOT Cihazında) çalışılmıştır.

Enzim İmmunoassay (EIA) yöntemi ile üretici (GRIFOLS, İspanya) firmanın önerilerine göre (TRITURUS Tam Otomatik ELISA cihazında) çalışılmıştır.

ANA testi IFA yöntemi ile çalışıldı ve 1/160 titre ve üzeri pozitif kabul edildi. Kullanılan IFA testleri HEp-2 hücreleri içermektedir.

Anti-dsDNA IFA yöntemi ile üretici firmanın önerilerine göre (HELMED® Otomatik IFA cihazında) çalışıldı. 1/10 titre ve üzeri pozitif kabul edildi. Slaytlar Floresans Mikroskop (MOTIC LED Mikroskop) altında önce 20X'lik sonra 40X'lik büyütmede değerlendirildi.

Mitokondri antikoru (AMA), düz kas antikoru (ASMA), liver kidney mikrozomal antikor (anti-LKM) IFA yöntemi ile üretici firmanın önerilerine göre (HELMED® Otomatik IFA cihazında) çalışıldı. 1/100 titre ve üzeri pozitif kabul edildi. Slaytlar Floresans Mikroskop (MOTIC LED Mikroskop) altında önce 20X'lik sonra 40X'lik büyütmede değerlendirildi.

Romatoid faktör (RF) türbidimetri yöntemi ile üretici firmanın önerilerine göre çalışıldı. 15 IU/ml ve üzeri pozitif olarak kabul edildi.

Cyclic citrullinated peptid antikoru (anti-CCP) türbidimetri yöntemi ile üretici firmanın önerilerine göre çalışıldı. 5 IU/ml ve üzeri pozitif olarak kabul edildi.

Anti-ENA (SS-A, SS-B, SM, SM/RNP, sentromer antikoru, SCL-70, JO-1 antikoru, ribozomal P protein antikoru, ENA nükleozomu) immüno blotting yöntemi ile üretici firmanın önerilerine göre (HELMED® Otomatik IMMUNBLOT Cihazında) çalışıldı. Referans değer negatif kabul edildi.

Tiroid peroksidaz antikoru (Anti-TPO), tiroglobulin antikoru (Anti-Tg) Chemiluminescence İmmunassays (CLIA) yöntemi ile üretici firmanın önerilerine göre çalışılmıştır. 60 IU/ml ve üzeri pozitif kabul edilmiştir.

Kompleman 3 (C3) ve kompleman 4 (C4) nefelometri yöntemi ile üretici firmanın önerilerine göre çalışılmıştır. Referans değerler C3 için (90-180) mg/dl, C4 için (10-40) mg/dl olarak kabul edilmiştir.

Anti-Nötrofil Sitoplazmik Antikor Profil (ANCA Profil) EIA yöntemi ile üretici firmanın önerilerine göre (TRITURUS Tam Otomatik ELISA cihazında) çalışılmıştır.

3.3 İstatiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS statistics 22.0 programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma, frekans) yanı sıra, normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırılmalarında Student T test, normal dağılım göstermeyen verilerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Değişkenler arasındaki korelasyonun değerlendirilmesinde pearson korelasyon analizi kullanılmıştır. Sonuçlar %95'lik güven aralığında , anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

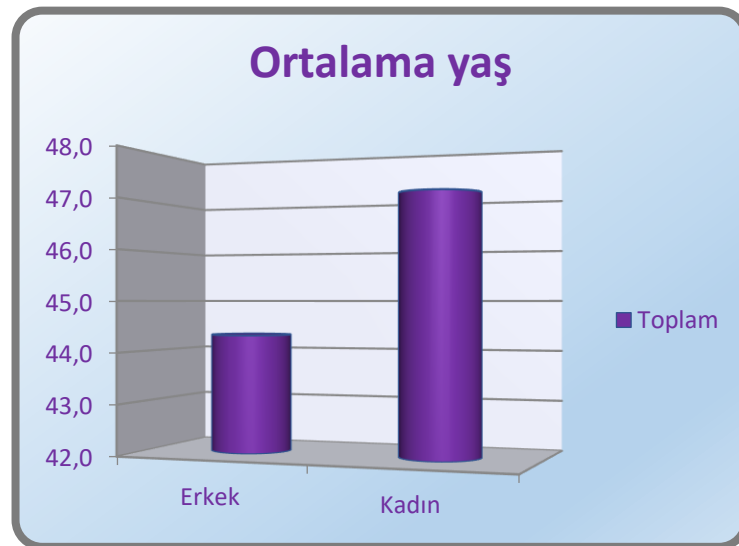
4.BULGULAR

ANA pozitif saptanan 622 hastanın, 539(%86,7)'u kadın 83(%13,3)'ü erkek idi (Grafik 1).



Grafik 1: Hastaların cinsiyet dağılımı

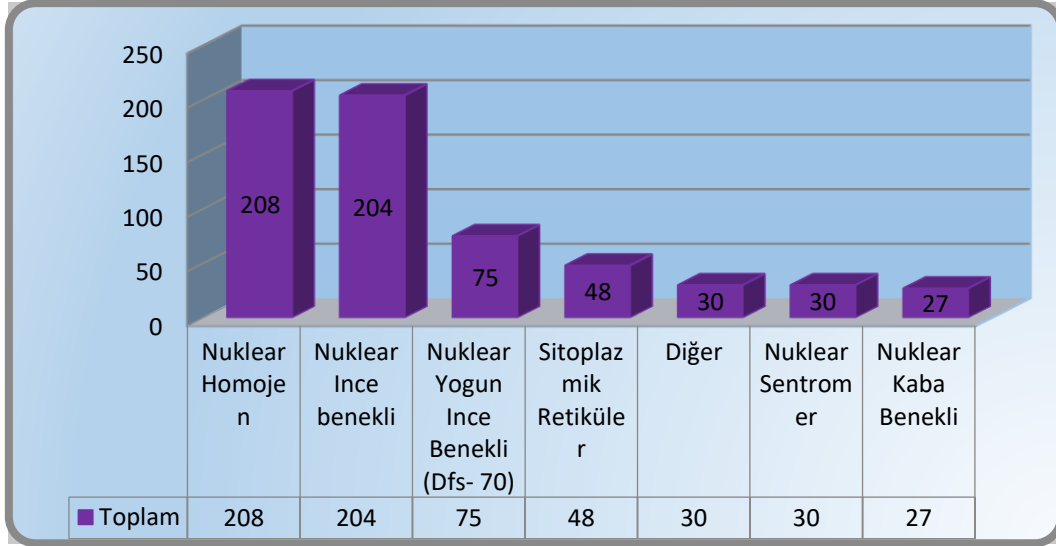
ANA pozitif saptanan 622 hastanın yaş ortalaması 46,7 saptanmıştır. ANA pozitif 539 kadın hastanın yaş ortalaması 47,1 iken ANA pozitif 83 erkek hastanın yaş ortalaması 44,3 olarak saptanmıştır (Grafik 2).



Grafik 2: Hastaların ortalama yaş dağılımı

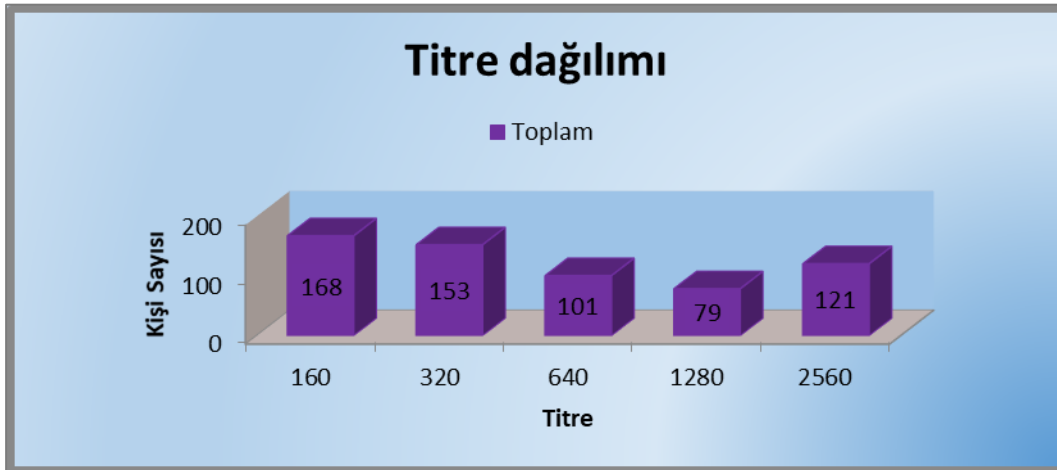
ANA pozitif saptanan 622 hastanın, 565 (%90,8)'i nükleer patern, 56 (%9)'sı sitoplazmik patern ve 1 (%0,16)'i mitotik boyanma paterni göstermiştir. ANA pozitif saptanan 622 hastada, 208 (%33,4) kişide nükleer homojen patern, 204 (%32,7) kişide nükleer ince benekli

patern, 75 (%12) kişide nükleer yoğun ince benekli patern, 30 (%4.8) kişide sentromer boyanma paterni, 27 (%4.3) kişide kaba benekli patern, 48 (%7.7) kişide stoplazmik retikuler patern ve 30 (%4.8) kişide diğer paternler saptanmıştır (Grafik 3).



Grafik 3: Hastaların patern dağılımı

622 ANA pozitif hastada, 168 kişide (%27) 1/160 titre, 153 kişide (%24.5) 1/320 titre, 101 kişide (%16.2) 1/640 titre, 79 kişide (%12.7) 1/1280 titre ve 121 kişide (%19.4) 1/2560 titre saptanmıştır (Grafik 4).



Grafik 4: Hastaların titre dağılımı

1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastada; 65 kişide nükleer homojen (%38.7), 65 kişide nükleer ince benekli (%38.7), 8 kişide nükleer yoğun ince benekli (%4.8), 2 kişide sentromer (%1.2), 5 kişide nükleer kaba benekli (%3), 14 kişide stoplazmik retiküler (%8.3) ve 9 kişide diğer (%5.4) paternler saptanmıştır.

1/320 titredeki ANA pozitif 153 hastada; 53 kişide (%34.6) nükleer homojen, 48 kişide nükleer ince benekli (%31.4), 25 kişide nükleer yoğun ince benekli (%16.3), 4 kişide sentromer (%2.6), 5 kişide nükleer kaba benekli (%3.3), 9 kişide stoplazmik retiküler patern (%5.9) ve 9 kişide diğer paternler (%5.9) saptanmıştır.

1/640 titredeki ANA pozitif 101 hastada; 36 kişide (%35.6) nükleer homojen, 26 kişide (%25.8) nükleer ince benekli, 28 kişide (%27.7) nükleer yoğun ince benekli, 1 kişide sentromer (%1), 4 kişide (%4) nükleer kaba benekli, 3 kişide stoplazmik retiküler patern (%3) ve 3 kişide (%3) diğer paternler saptanmıştır.

1/1280 titredeki ANA pozitif 79 hastada; 26 kişide (%32.9) nükleer homojen, 20 kişide (%25.3) nükleer ince benekli, 14 kişide (%17.7) nükleer yoğun ince benekli, 3 kişide (%3.8) sentromer, 3 kişide (%3.8) nükleer kaba benekli, 7 kişide (%8.6) stoplazmik retiküler patern ve 6 kişide (%7.6) diğer paternler saptanmıştır.

1/2560 titredeki ANA pozitif toplam 121 hastada; 28 kişide (%23.1) nükleer homojen. 45 kişide (%37.2) nükleer ince benekli, 20 kişide (%16.5) sentromer, 10 kişide (%8.3) nükleer kaba benekli, 15 kişide (%12.4) stoplazmik retiküler patern ve 3 kişide (%2.5) diğer paternler saptanmıştır.

1/640 ve üzeri titredeki 301 hastanın yaş ortalaması 47,68 iken 1/160 ve 1/320 titredeki 321 hastanın yaş ortalaması 45,79 idi. 1/640 ve üzerindeki titreler ile 1/640 altındaki titreler karşılaştırıldığında yaş faktörü T-Test'e göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p:0,127).

1/640 ve üzerindeki titreler ile 1/640 altındaki titreler karşılaştırıldığında sedimantasyon değeri T-Test'e göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p:0,001).

1/640 ve üzerindeki titreler ile 1/640 altındaki titreler karşılaştırıldığında; hemoglobin (p:0,01), lökosit (p:0,07), trombosit (p:0,5), kreatinin (p:0,09), AST (p:0,2), ALT (p:0,6) ve CRP (p:0,02) test sonuçları T-Test'e göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 1/640 ve üzerindeki titreler ile 1/640 altındaki titreler karşılaştırıldığında; Anti-TG (p:0,6), Anti-TPO (p:0,3), CCP (p:0,02) ve ile C3 (p:0,08) ve C4 (p:0,8) değerleri T-Test'e göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p<0,005 istatistiksel olarak anlamlıdır).

622 ANA pozitif saptanan hastalarda titreye göre otoantikor pozitiflikleri şu şekilde saptandı; 622 ANA pozitif hastanın 622 kişisine SSA bakıldı, bunlardan 66'sı (%10,6) pozitif titrede saptandı (Grafik 5). 1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastanın 168'ine SSA bakıldı, 4

(%2,4)'ü pozitif saptandı. 1/320 titredeki 153 hastanın 153 üne SSA bakıldı, 4 (%2,7)'ü pozitif saptandı. 1/640 titredeki 101 hastanın 101 ine SSA bakıldı, 10 (%9,9)'u pozitif saptandı. 1/1280 titredeki 79 hastanın 79 una SSA bakıldı, 12 (%15,3)'si pozitif saptandı. 1/2560 titredeki 121 hastanın 121 ine SSA bakıldı, 36 (%29,8)'sı pozitif saptandı.

622 ANA pozitif hastanın 622 kişisine SSB bakıldı, bunlardan 26 (%4,1)'sı pozitif titrede saptandı (Grafik 5). 1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastanın 168'ine SSB bakıldı, 1 (%0,6)'i pozitif saptandı. 1/320 titredeki 153 hastanın 153 üne SSB bakıldı, 1 (%0,7)'i pozitif saptandı. 1/640 titredeki 101 hastanın 101 ine SSB bakıldı, 5 (%5)'i pozitif saptandı. 1/1280 titredeki 79 hastanın 79 una SSB bakıldı, 3(%3,8)'ü pozitif saptandı. 1/2560 titredeki 121 hastanın 121 ine SSB bakıldı, 16(%13,2)'sı pozitif saptandı.

622 ANA pozitif hastanın 588 kişisine RF bakıldı; bunlardan 60 %16.9)'ı pozitif titrede saptandı (Grafik 5). 1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastanın 158'ine bakıldı, 9 (%5.4)'u pozitif saptandı. 1/320 titredeki hastanın 153 hastanın 148'ine RF bakıldı, 11 (%7.4)'i pozitif saptandı. 1/640 titredeki 101 hastanın 98'ine RF bakıldı, 10(%10.2)'u pozitif saptandı. 1/1280 titredeki 79 hastanın 71'ine RF bakıldı, 7 (%9.9)'si pozitif saptandı. 1/2560 titredeki 121 hastanın 113'üne RF bakıldı, 23 (%16.9)'ü pozitif saptanmıştır.

622 ANA pozitif hastanın 567 kişisine anti-dsDNA bakıldı; bunlardan 20 (%3,52)'si pozitif titrede saptandı (Grafik 5). 1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastanın 156'sına anti-dsDNA bakıldı, 1 (%0,64)'i pozitif saptandı. 1/320 titredeki 153 hastanın 140'ına anti-dsDNA bakıldı, pozitif değer saptanmadı. 1/640 titredeki 101 hastanın 92'sine anti-dsDNA bakıldı, 2 (%2,17)'si pozitif saptandı. 1/1280 titredeki 79 hastanın 75'ine anti-dsDNA bakıldı 3 (%4)'ü pozitif saptandı. 1/2560 titredeki 121 hastanın 104'üne anti-dsDNA bakıldı, 14 (%13,4)'ü pozitif saptandı.

622 ANA pozitif hastanın 530 kişisine Scl-70 bakıldı; bunlardan 5 (%0,9)'i pozitif titrede saptandı (Grafik 5). 1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastanın 153'üne Scl-70 bakıldı, pozitif değer saptanmadı. 1/320 titredeki 153 hastanın 124'üne Scl-70 bakıldı, 1 (%0,8)'i pozitif saptandı. 1/640 titredeki 101 hastanın 91'ine Scl-70 bakıldı 2 (%2,2)'si pozitif saptandı. 1/1280 titredeki 79 hastanın 63'üne Scl-70 bakıldı 1 (%1,6)'i pozitif saptandı, 1/2560 titredeki 121 hastanın 99'una Scl-70 bakıldı, 1(%1)'i pozitif saptandı.

622 ANA pozitif hastanın 428 kişisine anti-CCP bakıldı; bunlardan 41 (%9.5)'i pozitif titrede saptandı (Grafik 5). 1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastanın 97'sine anti-CCP bakıldı, 5 (%5.2)'i pozitif saptandı. 1/320 titredeki 153 hastanın 115'ine anti-CCP bakıldı, 9 (%7.8)'u

pozitif saptandı. 1/640 titredeki 101 hastanın 70'ine bakıldı anti-CCP 13 (%18.6)'ü pozitif saptandı. 1/1280 titredeki 79 hastanın 53'üne bakıldı anti-CCP 4 (%7.5)'ü pozitif saptandı. 1/2560 titredeki 121 hastanın 93'üne anti-CCP bakıldı, 10 (%10.8)'u pozitif saptandı.

622 ANA pozitif hastanın 411 kişisine SM/RNP bakıldı; bunlardan 9 (%2,18)'u pozitif titrede saptandı (Grafik 5). 1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastanın 103'üne SM/RNP bakıldı, pozitif değer saptanmadı. 1/320 titredeki 153 hastanın 98'ine SM/RNP bakıldı, pozitif değer saptanmadı. 1/640 titredeki 101 hastanın 60'ına SM/RNP bakıldı, pozitif değer saptanmadı. 1/1280 titredeki 79 hastanın 59'una SM/RNP bakıldı, 1 (%1,69)'i pozitif saptandı. 1/2560 titredeki 121 hastanın 91'ine SM/RNP bakıldı, 8 (%8,7)'i pozitif saptandı.

622 ANA pozitif hastanın 361 kişisine anti-SM bakıldı; bunlardan 4'ü (%1,1) pozitif titrede saptandı (Grafik 5). 1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastanın 92'sine anti-SM bakıldı, pozitif değer saptanmadı. 1/320 titredeki 153 hastanın 92'sine anti-SM bakıldı, pozitif değer saptanmadı. 1/640 titredeki 101 hastanın 59'una anti-SM bakıldı, pozitif değer saptanmadı. 1/1280 titredeki 79 hastanın 47'sine anti-SM bakıldı, pozitif değer saptanmadı. 1/2560 titredeki 121 hastanın 71'ine anti-SM bakıldı, 4 (%5,6)'ü pozitif saptandı.

622 ANA pozitif hastanın 325 kişisine anti-sentromer bakıldı; bunlardan 13 (%4)'ü pozitif titrede saptandı (Grafik 5). 1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastanın 104'üne anti-sentromer bakıldı, 1 (%1)'i pozitif saptandı. 1/320 titredeki 153 hastanın 75'ine anti-sentromer bakıldı, 2 (%2,8)'si pozitif saptandı. 1/640 titredeki 101 hastanın 60'ına anti-sentromer bakıldı, 1 (%1,8)'i pozitif saptandı. 1/1280 titredeki 79 hastanın 36'sına anti-sentromer bakıldı, 1 (%2,7)'i pozitif saptandı. 1/2560 titredeki 121 hastanın 50'sine anti-sentromer bakıldı, 8 (%16)'i pozitif saptandı.

622 ANA pozitif hastanın 209 kişisine anti-TPO bakıldı; bunlardan 95 (%45)'i pozitif titrede saptandı (Grafik 5). 1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastanın 57'sine anti-TPO bakıldı, 26 (%45.6)'sı pozitif saptandı. 1/320 titrede 153 hastanın 47'sine anti-TPO bakıldı, 18 (%38.3)'i pozitif saptandı. 1/640 titrede 101 hastanın 36'sına anti-TPO bakıldı, 15 (%41.7)'i pozitif saptandı. 1/1280 titrede 79 hastanın 29'una anti-TPO bakıldı, 18 (%62.1)'i pozitif saptandı. 1/2560 titrede 121 hastanın 40'ına anti-TPO bakıldı, 18 (%45)'i pozitif saptandı.

622 ANA pozitif hastanın 186 kişisine AMA bakıldı; bunlardan 14 (%7,52)'ü pozitif titrede saptandı (Grafik 5). 1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastanın 54'üne AMA bakıldı, 1 (%1,85)'i pozitif saptandı. 1/320 titredeki 153 hastanın 52'sine AMA bakıldı, 3 (%5,7)'ü pozitif saptandı. 1/640 titredeki 101 hastanın 34'üne AMA bakıldı, 1 (%2,9)'i pozitif

saptandı. 1/1280 titredeki 79 hastanın 19'una AMA bakıldı, 3 (%15,7)'ü pozitif saptandı. 1/2560 titredeki 121 hastanın 27'sine AMA bakıldı, 6 (%22,2)'sı pozitif saptandı.

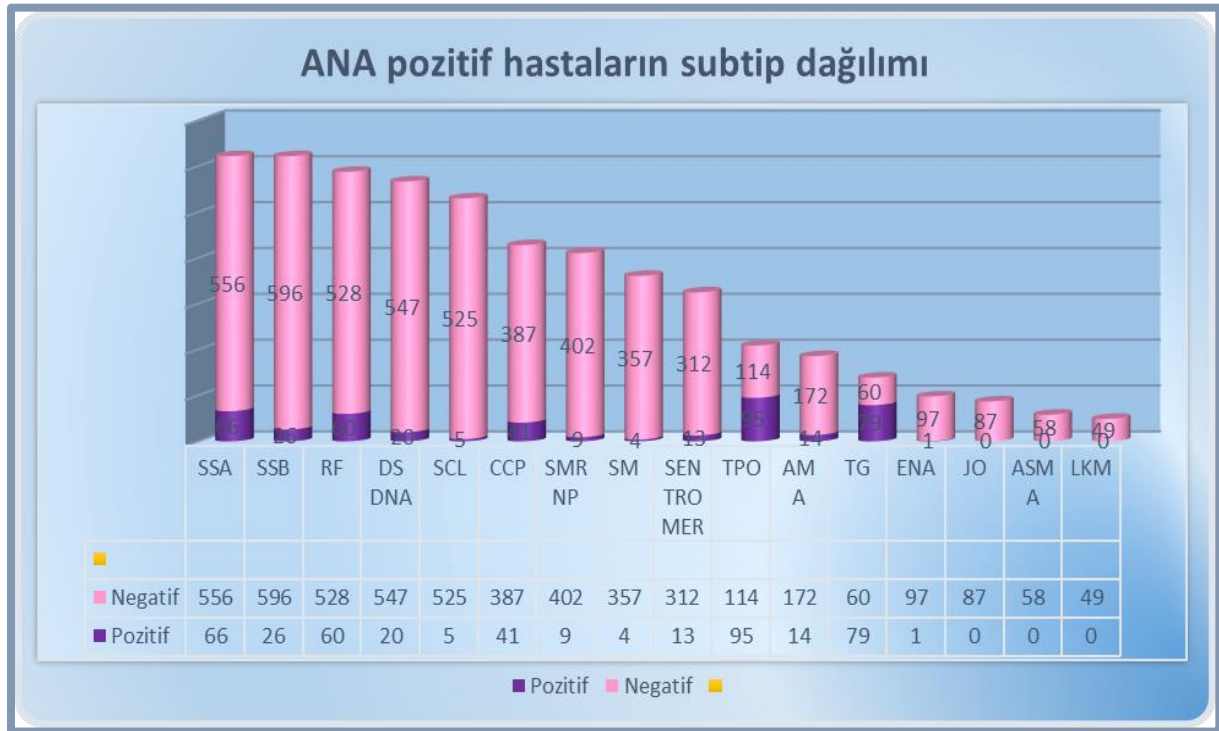
622 ANA pozitif hastanın 139 kişisine anti-TG bakıldı; bunlardan 79(%56,8)'u pozitif titrede saptandı (Grafik 5). 1/160 titredeki ANA pozitif 168 hastanın 36'sına anti-TG bakıldı, 20 (%55.6)'sinde anti-TG pozitif saptandı. 1/320 titrede 153 hastanın 31'ine anti-TG bakıldı, 16 (%51.6)'sında anti-TG pozitif saptandı. 1/640 titrede 101 hastanın 23'üne anti-TG bakıldı, 9 (%39.1)'u pozitif saptandı. 1/1280 titrede 79 hastanın 19'una anti-TG bakıldı, 12 (%63.2)'si pozitif saptandı. 1/2560 titredeki 121 hastanın 30'una anti-TG bakıldı, 22 (%73.3)'si pozitif saptandı.

622 ANA pozitif hastanın 98 kişisine ENA nükleozomu bakıldı; bunlardan 1 (%1)'i pozitif titrede saptandı (Grafik 5).

622 ANA pozitif hastanın 87 kişisine anti-JO1 bakıldı; bunlardan pozitif titrede saptanan olmadı (Grafik 5).

622 ANA pozitif hastanın 58 kişisine ASMA bakıldı; bunlardan pozitif titrede saptanan olmadı (Grafik 5).

622 ANA pozitif hastanın 49 kişisine LKM bakıldı; bunlardan pozitif titrede saptanan olmadı (Grafik 5).



Grafik 5: ANA pozitif hastaların oto antikor dağılımı

Pearson korelasyon yöntemine göre; ANA pozitifliği titresi ile sedimentasyon değeri arasında, istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır ($p < 0,001$, $r:0,15$). ANA pozitifliği titresi ile hemoglobin değeri arasında, istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönlü korelasyon saptanmıştır ($p < 0,05$, $r:0,44$). ANA pozitifliği titresi ile lokosit değeri arasında, istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönlü korelasyon saptanmıştır ($p:0,004$, $r:0,12$). ANA pozitifliği titresi ile RF arasında, istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır ($p:0,04$, $r:0,12$). ANA pozitifliği titresi ile AMA pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır ($p:0,001$, $r:0,25$). ANA pozitifliği titresi ile C3 değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönlü korelasyon saptanmıştır ($p:0,001$, $r:0,2$).

	ANA titresi	Korelasyon Yorumu
Sedimentasyon Değeri	Pozitif yönlü anlamlı korelasyon	Romatolojik hastalıklarda hastalık tutulumuna bağlı SLE , RA, SSc, SJS ve MCTD tutulumuna bağlı sedimentasyon yüksekliği saptanır.
Hemoglobin Değeri	Negatif yönlü anlamlı korelasyon	Romatolojik hastalıklarda kronik hastalık anemisi, hemolitik anemi, kronik kan kaybı , kemik iliği baskılanmasına bağlı anemi olur.
Lokosit Değeri	Negatif yönlü anlamlı korelasyon	Romatolojik hastalıklarda, özellikle SLE, RA, SSc gibi birçok hastalıkta hastalık aktivitesine bağlı lokopeni ve lenfopeni saptanır.
Romatoid Faktör (RF)	Pozitif yönlü anlamlı korelasyon	RA hastalarında yüksek titrede ANA pozitifliği ,hastalık tutumu ,seropozitif RA ile ilişkilidir.
Anti mitokondrial antikor (AMA)	Pozitif yönlü anlamlı korelasyon	ANA yüksek titrede hastalarda otoimmün hepatit ve primer biliyer siroza bağlı AMA pozitifliği yüksek titrede görülür.
Kompleman 3 (C3)	Pozitif yönlü anlamlı korelasyon	Romatolojik hastalıklarda ANA titresi bağ doku hastalık tutulumu ile ilişkilidir. Aktif hastalıklarda kompleman düşüklüğü bulunur.

Tablo 6: ANA titresi ile romatolojik ve hematolojik parametrelerin korelasyonu

Ayrıca ANA titresi ile SSA, SSB ve anti-SM pozitifliği ilişkili bulunmuştur ($p < 0,001$). SSA pozitifliği saptananlarda; SSB, anti-SM, RF pozitifliği daha sık rastlanırken lokopeni ve C3 düşüklüğü daha sık görülmüştür. SSB pozitif saptananlarda ise RF pozitifliği daha sık görülmüştür. Anti-Scl70 pozitifliğinde C3 düşüklüğü daha sık görülmüştür. Sedim yüksekliği saptananlarda anemi ve kreatinin yüksekliği daha sık görülmüştür. Trombosit düşüklüğü bulunanlarda; lokopeni ve trombositopeni daha fazla saptanmıştır. RF pozitifliğinde anti-CCP pozitifliği daha sık görülmüştür.

5. TARTIŞMA

Sistemik otoimmün hastalıkların toplumdaki sıklığı; %1 ila 2 arasında olup bunlar kronik hastalıkların başlıca sebeplerinden biridir. Önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir. Bu nedenle sistemik otoimmün hastalıkların erken tanısı önem taşımaktadır. Sistemik otoimmün hastalıkları destekleyen kliniği olan hastalarda tanısal amaçlı, şüpheli klinik bulguları olan hastalarda bazı hastalıkları dışlamak için ve otoimmün hastalığı olan hastaları sınıflandırmak için ANA testi faydalıdır [37]. HEp-2 hücreleri kullanılarak gerçekleştirilen indirekt immünflorasan (IIF) yöntemi, ANA saptanmasında kullanılan en duyarlı ve altın standart yöntemdir [33,34]. ANA testinin sonuçlarında, titre ve boyama modeli önem taşımaktadır. Güncel kılavuzlar, sistemik otoimmün hastalık tanısı için ANA sınır değeri olarak 1/160 titreyi öngörmektedir [38]. ANA'nın yüksek titrede bulunması, otoimmün hastalık açısından uyarıcıdır ancak tek başına tanı koydurucu değildir [41]. IIF testi ile ANA pozitifliği saptanan hastalarda, antijen tipinin ortaya çıkarılması ve IIF testinin doğrulanması amacıyla; immünoblot ve ELISA testi önerilmektedir [43]. Örneğin, anti-dsDNA ve anti-Sm antikorları sistemik lupus eritematozusa spesifik görünürken, anti-Scl70 ve anti-sentromer antikorları sistemik skleroz (SSc), anti-jo1 polimiyozit (PM), anti-SSA ve anti-SSB Sjögren sendromu (SjS), SLE, SSc ve romatoid artritinde içinde bulunduğu sistemik romatizmal hastalıklarda saptanabilir [44].

Sistemik otoimmün hastalıklar kadınlarda daha sık görülür. Bunda hormonal faktörlerin ve X kromozomunun önemi büyüktür. Örneğin, SLE doğurganlık çağındaki genç kadınlarda başlar, oral kontraseptif, hormon replasman tedavisi hastalığı alevlendirir ve gebelik dönemi SLE'nin alevlenmesine neden olur. RA'da ise hastalık gebelik döneminde hormonal etki ile %75 klinik iyileşme olurken OKS kullanımı RA riskini azaltabilir. X kromozomunda sistemik romatizmal hastalıkla ilişkilidir. Örneğin, XXY klinefelter sendromunda SLE daha sık görülür [154].

Ayrıca RA kadınlarda 3 kat fazla, SLE kadınlarda 9-10 kat fazla, SjS kadınlarda 9 kat fazla ve SSc kadınlarda 4-5 kat fazla görülür. 2015 yılında yapılan Kadriye ERKE tez çalışmasında IFA yöntemiyle ANA pozitif saptanan 160 kişinin; 125 (%78.1)'i kadın, 35 (%21.9)'i erkek hastalardan oluşmaktaydı [155]. 2016 yılında Azeez ve ark. çalışmasında IFA yöntemiyle ANA pozitifliği saptanan 1334 kişinin; 1069 (%81.1)'u kadın, 265 (%19.9)'i erkeklerden oluşmaktaydı [156]. Melek İzmirli tez çalışmasında IFA yöntemiyle ANA pozitif bulunan 224 kişinin; 196 (%87.5)'sı kadın, 28 (%12.5)'i erkeklerden oluşmaktaydı [6]. Barut ve arkadaşlarının çalışmasında IFA yöntemiyle ANA pozitifliği bulunan 309 hastanın; 198 (%64.1)'i kadın iken 111 (%35.9)'i erkeklerden oluşmaktaydı [157]. Çelikkbilek ve arkadaşlarının çalışmasında IFA yöntemiyle ANA pozitifliği saptanan 982 kişinin; 776 (%77)'sı kadın, 226 (%23)'sı erkeklerden oluşmaktaydı [158]. Bizim tez çalışmamızda ise ANA pozitifliği bulunan 622 kişinin; 539 (%86.7)'u kadın, 83 (%13.3)'ü erkek idi. Yapılan tüm çalışmalarda, bizim çalışmamızla uyumlu olarak %64,1-%87,5 aralığında, kadın hakimiyeti gözlemlenmiş ve erkeklerin oranı %12,5-35,9 aralığında saptanmıştır. Bu sonuçlar, sistemik otoimmün hastalıkların kadınların erkeklere oranla daha sık görülmesiyle uyumlu bulunmuştur. Barut ve ark. çalışmasıyla bizim çalışmamız arasında oranların farklı çıkmasının sebebi, diğer çalışmanın nörolojik hasta grubunda yapılmış olmasıyla alakalıdır.

Sistemik otoimmün hastalıklar, farklı yaş dağılımında görülür. SLE, doğurganlık çağında (15-44 yaş) sık görülürken RA 25-55 yaş aralığında siktir. SjS, postmenapozal kadınlarda daha siktir ve 40-50 yaş civarında başlar. SSc ise 30-50 yaş aralığında başlar [159]. Melek İzmirli tez çalışmasında, IFA yöntemiyle ANA pozitif bulunan 224 kişinin yaş ortalaması 47,7 bulunmuştur [6]. Barut ve ark. çalışmasında, yaş ortalaması 42,5 saptanmıştır [157]. Bizim tez çalışmamızda ise IFA yöntemiyle ANA pozitif saptanan 622 kişinin yaş ortalaması 46,7 saptanmıştır. Kadınların yaş ortalaması 47,2 iken erkeklerin yaş ortalaması 44,3 bulunmuştur. SLE ve RA doğurganlık çağındaki kadınlarda daha sık görülürken SjS, SSc, PM/DM ve MCTD gibi hastalıklar 40 yaş üstünde daha sık görülmektedir. Bizim çalışmamızın yaş ortalaması literatürle ve diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Tez çalışmamda ANA pozitif saptanan 622 hastanın, 565 (%90,8)'i nükleer patern, 56 (%9)'sı sitoplazmik patern ve 1 (%0,16)'i mitotik boyanma paterni göstermiştir. Bu sonuçlar diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmuş olup ANA en çok nükleer komponente karşı gelişmektedir.

ANA pozitif saptanan 622 hastanın; 208 (%33.4) kişisinde nükleer homojen patern, 204 (%32.7) kişisinde nükleer ince benekli patern, 75 (%12) kişisinde nükleer yoğun ince benekli

patern, 30 (%4.8) kişisinde sentromer boyanma paterni, 27 (%4.3) kişisinde kaba benekli patern, 48 (%7.7) kişisinde stoplazmik retikuler patern ve 30 (%4.8) kişisinde diğer paternler saptanmıştır.

ANA pozitifliği görülenlerde başlıca nükleer homojen, nükleer ince benekli, nükleer kaba benekli, sentromer, yoğun ince benekli, nükleoler ve sitoplazmik retiküler paternler görülmektedir. Yaptığım literatür taramasında en sık homojen patern görülmekteydi ama bunun yanında granüler(ince benekli) patern de yüksek orandaydı. Tiryaki ve arkadaşlarının çalışmasında, en yüksek patern %52 ile homojen patern saptanmıştır [160]. Yılmaz ve arkadaşlarının çalışmasında da %51 ile en yüksek homojen patern saptanmıştır [161]. Olgun ve arkadaşlarının çalışmasında en yüksek patern %33,9 ile homojen patern iken 2. sırada %30,6 ile ince benekli patern saptanmıştır [162]. Aksu ve arkadaşlarının çalışmasında, en yüksek patern %26 ile homojen iken ikinci sırada %25 ile ince benekli patern saptanmıştır [163]. Çelikkalek ve arkadaşlarının çalışmasında, en sık %23 ile homojen, ikinci sıklıkta ise %22 ile ince benekli patern saptanmıştır [158]. Bizim tez çalışmamızda ise diğer çalışmalarla uyumlu olarak 622 kişinin 208 (%33,4)'ünde homojen patern saptanırken 204 (%32,7)'ünde ince benekli patern saptanmıştır. Homojen patern; SLE, ilaç ilişkili lupus, SSc ve neonatal lupusla ilişkilidir. Kadınlarda daha yüksek saptanması SLE'nin kadınlarda 9 kat fazla bulunması ile ilişkili olabilir. Ayrıca homojen patern diğer sistemik hastalıklarda da görülebilir.

Barut ve ark. çalışmasında, en yüksek patern %39,8 ile granüler (ince benekli) patern, ikinci sıklıkta ise %23,9 ile homojen patern saptanmıştır [157]. Barut ve ark. çalışmasında nörolojik hasta popülasyonunda ANA pozitifliği bakılmış olması nedeniyle oranlar farklı bulunmuştur. İnce benekli patern, SSA ve SSB pozitifliğinde saptanmaktadır. SLE ve SjS ile ilişkilidir. Bu paternde kadınlarda daha fazla görülmektedir. Otoantikörlerin dağılım farklılığı, ANA pozitif kişilerin sistemik otoimmün hastalık dağılımlarının farklı olması, patern dağılımının örtüşme sendromları nedeni ile birden fazla paternde ve farklı paternlerde bulunmasına neden olduğu düşünülmüştür. Örneğin; RA hastalarının toplumdaki prevalansı yüksektir ve sekonder SjS'nin en sık nedeni RA'ya sekonder SjS gelişmesidir. Bu hastalarda SSA, SSB pozitifliği saptanabilmektedir. Bu nedenle bazı çalışmalarda homojen patern fazla çıkarken bazı çalışmalarda granüler patern daha sık bulunmuştur.

Mengeloğlu ve ark. çalışmasında, %31,2 ile en sık patern kaba benekli, ikinci sıklıkta nükleolar patern saptanmıştır [164]. Bu çalışmada kaba benekli patern ve nükleolar paternin

daha yaygın bulunmasının sebebi; çalışmanın yapıldığı romatoloji kliniğinde, SLE, MCTD ve SSc ile ilişkili kaba benekli ve nükleolar patern daha yüksek saptanmasıdır. Bu durum romatolojik hastalıklarda birden çok paternin aynı anda bulunması ve yüksek titredeki paternlerin çalışmalara dahil edilmesi ile ilişkili olabileceği ve SLE gibi hastalıklarda birden çok paternin aynı anda bulunması ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Bizim hastanemizde romatoloji kliniği olmadığı için bizim hasta grubumuz fizik tedavi ve rehabilitasyon ve dahiliye polikliniklerine başvuran genellikle ilk kez ANA testi istenen hastalardır. ANA pozitifliği saptanan hastalar ANA subtipleri istenmesiyle genellikle RA, SLE ve SjS gibi tanılar almaktadır. Bu çalışmalardan anlaşılacağı üzere, farklı paternlerin yaygınlığı farklı hasta popülasyonu ile ilişkili olmakla birlikte sistemik otoimmün hastalıklarda görülen birden çok antijene yönelik otoantikör gelişimine bağlı poliklonal aktiviteye bağlı olduğu düşünülmektedir.

Tez çalışmamızda DFS 70 paterni %12 ile birçok çalışmaya göre yüksek bulunmasının nedeni, ANA pozitifliği saptanan hastaların özellikle iç hastalıkları polikliniğinden istenen ANA istemlerinde romatolojik hastalık tanısı bulunmaması ve hastanemizde romatoloji kliniği olmadığı için romatolojik hastalıkla ilişkisi olmayan DFS 70 paterni sık bulunmuştur.

Nükleolar patern, difüz SSc ve lokalize SSc ile ilişkilidir. Bazı çalışmalarda nükleolar paternin bizim çalışmamıza göre yüksek bulunmasının sebebi SSc nedeni ile takipli hastaların ANA istemlerinin romatoloji kliniğinden istenmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

IFA boyanma yöntemi subjektif ve kişiye bağlı olduğu için immüno blot gibi bir yöntemle doğrulanması gerekir. ANA pozitif saptanan hastalarda, ANA subtiplerini değerlendirdiğimizde merkezlere göre farklı sonuçlar çıkabilmektedir. Örneğin; Çelikkalek ve ark. çalışmasında, 759 ANA pozitif hastanın hepsine anti-dsDNA çalışmış, 56 (%8,7)'sı pozitif saptanmıştır [158]. İzmirli tez çalışmasında 224 kişinin 188'inde anti-dsDNA çalışılmış, 55 (%29,3)'i pozitif saptanmıştır [6]. Bizim tez çalışmamızda ise IFA yöntemiyle ANA pozitifliği olan 622 kişinin 567'sinde Anti-dsDNA çalışılmış 20 (%3,52)'sinde pozitiflik saptanmıştır. Çalışma yaptığımız hastanemizde romatoloji kliniği olmaması sebebi ile aktif SLE'li hasta takip edilmemektedir. Bu nedenle SLE tanı ve takibinde kullanılan anti-dsDNA oranları çalışmamızda düşük oranda saptanmıştır.

Çelikkalek ve ark. çalışmasında 414 örnekte immüno blot ile ENA profili çalışılmış, 131 (%31,6)'i pozitif saptanmıştır. En sık SSA (%34,6) pozitifliği görülürken sonra sırasıyla SSB (%16,8), SCL 70 (%16) ve Sm/RNP (%9,2) pozitif saptanmıştır [158]. Kendi çalışmamızda

ise 662 ANA pozitif olan bireyde Anti-ENA profil çalışılmış, 124 (%19,9)'ü pozitif saptanmıştır. En sık SSA (%53,2) pozitifliği saptanırken sonra sırasıyla SSB (%20,9), anti-sentromer (%10,4), Sm/RNP (%7,2), scl70 (%4), SM (%3,2), ENA nükleozomu (%0,8) antikolları pozitif saptanmıştır.

Avşar ve ark. çalışmasında, Çağlayan tez çalışmasında ve İzmirli tez çalışmasında en sık SSA ve SSB otoantikör birlikteliği saptanmıştır [6, 46,165]. Bizim çalışmamızda da en sık SSA ve SSB pozitifliği saptanmıştır. SSA ve SSB pozitifliği Sjögren Sendromu'nda saptanmakla beraber SLE, SjS/SLE örtüşme sendromu, subakut kutanöz lupus, neonatal lupus ve primer bilyer sirozda da görülebilmesi nedeni ile daha sık bulunmuştur.

RA hastalarının yaklaşık %70 ila 80'inde RF pozitifliği tanımlanmıştır. RF testi, sistemik lupus eritematozus, karışık bağ dokusu hastalığı, Sjögren sendromu ve skleroderma gibi diğer otoimmün rahatsızlıkları olan hastalarda, kronik aktif hepatit ve diğer kronik enfeksiyon durumlarında ve yaşı ilerlemiş sağlıklı kişilerde pozitif olabilir. RA tanısında anti-CCP ölçümleri ise %76 duyarlılık ve 96 özgüllük içerir. RF pozitifliğinin görüldüğü RA gibi sistemik otoimmün hastalıklarda ANA pozitifliği görülebilmektedir. Azeez ve arkadaşlarının çalışmasında, ANA pozitif 303 kişinin 32 (%10,6)'sinde RF pozitifliği saptanmıştır [156]. Bizim çalışmamızda da bu çalışmayla uyumlu olarak ANA pozitifliği saptanan 622 kişinin 588'sinde RF bakılmış, 60 (%10,2)'inde RF pozitifliği saptanmıştır.

İzmirli tez çalışmasında 224 ANA pozitif kişinin 84'ünde Anti-CCP bakılmış, 17 (%20)'sinde pozitif saptanmıştır [6]. Bizim çalışmamızda ise ANA pozitifliği saptanan 622 kişinin 428'inde anti-CCP bakılmış 41 (%9,5)'nde pozitiflik saptanmıştır.

Tez çalışmamızda 622 ANA pozitif hastada, 168 kişide (%27) 1/160 titre, 153 kişide (%24.5) 1/320 titre, 101 kişide (%16.2) 1/640 titre, 79 kişide (%12.7) 1/1280 titre ve 121 kişide (%19.4) 1/2560 titre saptanmıştır.

Romatolojik hastalık tanısı için 1/160 ve üstü titrelerin saptanması daha anlamlı bulunmuştur. Titre arttıkça, ANA pozitifliği saptanmasının romatolojik hastalıkla ilişkisinde artmaktadır. Bizim çalışmamızda titre patern ilişkisi; 1/160, 1/320, 1/640, 1/1280 titrede en sık homojen patern bulunmuştur. İnce benekli patern ise en sık 1/160 ve 1/2560 titrede saptanmıştır. Nükleer yoğun ince benekli patern en sık %27,7 oranında 1/640 titrede bulunmuştur. Sitoplazmik retiküler patern en sık %12,4 ile 1/2560 titrede bulunurken nükleer kaba benekli patern de en sık %8,3 oranında 1/2560 titrede bulunmuştur.

Çalışmamızda ANA titresi ile şu değerleri korelasyon açısından değerlendirdik. Çalışmamızda, ANA pozitifliği ile sedimentasyon değeri arasında, istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır. Bu sonuçlar, sistemik romatizmal hastalıklarda sedimentasyon yüksekliği saptanması ile uyumlu bulunmuştur. RA tanısında sedim yüksekliği bulunmaktadır. Ayrıca SLE, SSc, SjS ve MCTD gibi hastalıklarda hastalık aktivitesine bağlı olarak sedimentasyon yüksekliği saptanmaktadır [166].

SLE'de kronik hastalık anemisi demir eksikliği anemisi, otoimmün hemolitik anemi ve DMARD tedavisine bağlı olmak üzere birden çok mekanizma ile anemi görülür [125]. SjS'nin hematolojik belirtileri arasında anemi ve lökopeni görülür [135]. SSc'de GAVE ve telenjipektazilere bağlı demir eksikliği görülür ayrıca RA'da FELTY Sendromu'na bağlı pansitopeni görülür. Çalışmamızda, ANA pozitifliği ile hemoglobin değeri arasında, istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönlü korelasyon saptanmıştır. Bu sonuçlar sistemik otoimmün hastalıklarda inflamatuvar sürece bağlı kronik hastalık anemisi gelişmesi ile uyumludur. Ayrıca SLE'de hemolitik anemi, RA'da pansitopeni ve DMARD tedavisi sonucu gelişebilen kemik iliği süpresyonuna bağlı anemi gelişmesi ile ilişkili olabilir.

SLE'de hastalık aktivitesine bağlı olarak %25-75 lökopeniler görülmektedir. Bu lenfopeninin otoantikörlara bağlı olduğu düşünülmüştür [167]. Sjögren sendromu seyrinde %12 ila 22 arasında lökopeni görülebilmektedir. Romatoid Artrit seyrinde, FELTY sendromunda ve DMARD tedavisine bağlı olarak lökopeniler görülebilmektedir. Çalışmamızda, ANA pozitifliği ile lokosit değeri arasında, istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönlü korelasyon saptanmıştır. Bu sonuçlar sistemik otoimmün hastalıklarda görülen lokopenilerle uyumlu bulunmuştur.

ANA titresi ile RF arasında, istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır. RF pozitifliği özellikle RA olmak üzere, SjS, krioglobulinemi gibi diğer romatolojik hastalıklarda, enfeksiyöz hastalıklarda ve yaşlılarda da görülebilmektedir. Bizim çalışmamızdaki bu sonuçlar literatürle uyumlu bulunmuştur [112, 113].

Çalışmamızda, ANA titresi ile AMA pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır. AMA pozitif saptanan otoimmün hepatit ve PSC gibi hastalıklarda ANA pozitifliği görülmektedir. Bu nedenle ANA ile AMA arasındaki korelasyon literatürle uyumlu bulunmuştur [166].

Çalışmamızda, ANA pozitifliği ile C3 değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönlü korelasyon saptanmıştır. Özellikle SLE gibi romatizmal hastalıklarda kompleman

düşüklüğü saptanmaktadır. Sistemik otoimmün hastalıklarda immün kompleks birikimine bağlı kompleman düşüklüğü görülmektedir. ANA titresi ile C3 değeri arasındaki negatif korelasyon literatürle uyumlu bulunmuştur.

Çalışmamız 2018-2020 yılları arasında kliniklere başvuran ANA testi pozitif bulunan hastalarda dsDNA ve ENA profilinden en az üçü çalışılan hastalar alındığından 622 hasta ile sınırlı kalmıştır. Ayrıca hastanemizde romatoloji kliniğinin olmaması nedeniyle sistemik otoimmün hastalığı çeşitliliğinin az olması ve otoantikör profilinin diğer çalışmalara göre daha düşük bulunmasına neden olmuştur. ANA negatif hastalarda da SLE gibi romatolojik hastalıklar görülebilmektedir. Bundan dolayı klinik şüphe olması halinde, ANA negatif hastalarda da ANA subtiplerinin immünoblot ve ELISA yöntemi ile çalışılması önerilmektedir. Fakat çalışmamız hastanemizde ANA pozitif hastalarda otoantikör profilini değerlendiren ilk çalışmadır. Birçok klinik kendi otoantikör profilini belirleyen çalışma yapmış olmasına rağmen hala bu konudaki çalışmalar yeterli düzeyde değildir.

6.SONUÇLAR

Sistemik otoimmün hastalığı kliniği bulunan hastalarda ANA çalışması erken tanıda önemlidir. IFA yöntemi ile ANA pozitifliği 1/160 titre ve üzerinde saptanması klinik olarak daha anlamlı ve romatolojik hastalıklarla ilişkili bulunmuştur. ANA boyanma paternlerinin belirlenmesi, ANA subtip (dsDNA ve ENA profili) istemleri için fikir verebilmektedir. Malignite, ilaç kullanımı durumunda ve yaşlı popülasyonda izole ANA pozitifliği oranı yüksek olabileceği için boyanma paterni ve klinik bulgularına göre, immünoblotting veya ELISA yöntemiyle ANA subtiplerinin belirlenmesi sistemik bağ dokusu hastalıkları tanısında kritik öneme sahiptir.

Çalışmamızda ANA pozitifliği kadınlarda daha sık saptanmıştır. Yaş dağılımı literatürle uyumlu olarak 46,7 saptanmıştır. ANA titresi arttıkça sistemik otoimmün hastalıklar daha sık görülmektedir. Çalışmamızda en sık IFA boyanma paterni olan nükleer homojen ve ince benekli boyanmalar bulunmuştur. En sık saptanan ANA subtipleri SSA ve SSB idi. Çalışmamızda ANA titresi ile sedimantasyon, RF ve AMA arasında pozitif yönlü korelasyon bulunurken ANA titresi ile hemoglobin, lökosit ve C3 arasında negatif yönlü korelasyon saptanmıştır. Sistemik otoimmün hastalık düşünülen ve ANA pozitifliği bulunan hastalarda, immünoblot ve ELISA yöntemi ile anti-dsDNA ve anti-ENA profili çalışmanın erken tanı ve hasta takibinde klinik olarak yararlı olacağı düşünülmektedir.

7.KAYNAKLAR

1. Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and Molecular Immunology. USA: Saunders Company 2000;161-176.
2. Ortiz Maslloréns F. Autoimmune diseases and physiological autoimmunity: recognition of self. Alergol Inmunol Clin 2000;15:5-12.
3. Roth D, Male D, Roitt I, Brostoff J. İmir T, editör. İmmünoloji. 1.Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2008:343-383.
4. Kamradt T, Mitchison A. Tolerance and autoimmunity. N Engl J Med 2001;344:655-666.
5. Abeles AM. The clinical utility of a positive antinuclear antibody test result. Am J Med. 2013 Apr;126(4):342-8.2013 Feb 8.
6. ANA, ANCA ve IFAT pozitif saptanan hastalarda oto antikorların dağılımı. Tablo 2, tablo3 ve sayfa: 54,55. Uzmanlık tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, 2014.
7. Udara Wijeyesinghe, Anthony S. Russell. Outcome of high titer antinuclear antibody positivity in individuals without connective tissue disease: a 10-year follow-up. Clinical Rheumatology, November 2008, Volume 27, Issue 11, pp 1399–1402).
8. Coppo P. Ve ark. Autoimmune cytopenias associated with autoantibodies to nuclear envelope polypeptides, Am J Hematol. 2004 Nov;77(3):241-9.
9. Ruacan Ş. Otoimmunité. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji 1. baskı. Ankara: Güneş kitabevi; 1999. p.245–9.
10. Aktar, Gülseren Samancı, et al. "Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesinde İFA Yöntemiyle Çalışılan Otoantikor Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi." Turk J Immunol 5 3 (2017): 77-81.
11. Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberi 2. Baskı. Ankara: Klimud; 2016. p.23, 18.
12. SERTER, Nuray. Genel Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Anadolu Üniversitesi, 1995.
13. Başkan, Emel Bülbül. "T hücre immunitesi/T cell immunity." Turkderm 47. 1 (2013): 18.

14. Palmer, Ed. "Negative selection—clearing out the bad apples from the T-cell repertoire." *Nature Reviews Immunology* 3.5 (2003): 383-391.
15. Sakaguchi, S. (2004). Naturally arising CD4⁺ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu. Rev. Immunol.* 22, 531-562.
16. Mauri, C., Reddy V. & Blair, P. A. (2014). B Cell Activation and B Cell Tolerance. In *The Autoimmune Diseases* (pp. 147-158) . Academic Press.
17. Atassi, M. Z. , Casali, P. , Atassi, M. Z. & Casali, P. (2008). Molecular mechanisms of autoimmunity. *Autoimmunity*, 41(2), 123-132.
18. Tsang, R. S., & Valdivieso-Garcia, A. (2003). Pathogenesis of Guillain–Barre syndrome. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 1(4), 597-608.
19. Yamada, R., Suzuki, A., Chang, X., & Yamamoto, K. (2005). Citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Front Biosci*, 10, 54-64.
20. Nissim, A., Winyard, P. G., Corrigan, V., Fatah, R., Perrett, D., Panayi, G., & Chernajovsky, Y. (2005). Generation of neoantigenic epitopes after posttranslational modification of type II collagen by factors present within the inflamed joint. *Arthritis & Rheumatism*, 52(12), 3829-3838.
21. Van de Wal, Y., Kooy, Y., van Veelen, P., Peña, S., Mearin, L., Papadopoulos, G., & Koning, F. (1998). Cutting edge: selective deamidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadin-specific T cell reactivity. *The Journal of Immunology*, 161(4), 1585-1588.
22. Fujimoto, M., Hamaguchi, Y., Yazawa, N., Komura, K., Takehara, K., & Sato, S. (2004). Autoantibodies to a collagen-specific molecular chaperone, heat-shock protein 47, in systemic sclerosis. *Clinical & Experimental Immunology*, 138(3), 534-539.
23. Franz, S., Gaip, U. S., Munoz, L. E., Sheriff, A., Beer, A., Kalden, J. R., & Herrmann, M. (2006). Apoptosis and autoimmunity: when apoptotic cells break their silence. *Current rheumatology reports*, 8(4), 245.
24. Hayashi, T., & Faustman, D. (2000). The role of the proteasome in autoimmunity. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 16(5), 325-337.
25. Decker, P., Singh-Jasuja, H., Haager, S., Kötter, I., & Rammensee, H. G. (2005). Nucleosome, the main autoantigen in systemic lupus erythematosus, induces direct dendritic

cell activation via a MyD88-independent pathway: consequences on inflammation. *The Journal of Immunology*, 174(6), 3326-3334.

26. Serrano, N. C., Millan, P., & Páez, M. C. (2006). Non-HLA associations with autoimmune diseases. *Autoimmunity reviews*, 5(3), 209-214.

27. Al-toma, A., Verbeek, W. H. M., Hadithi, M., Von Blomberg, B. M. E., & Mulder, C. J. J. (2007). Survival in refractory coeliac disease and enteropathy-associated T-cell lymphoma: retrospective evaluation of single-centre experience. *Gut*, 56(10), 1373-1378.

28. 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(6), 359-365.

29. Elkon, K., & Casali, P. (2008). Nature and functions of autoantibodies. *Nature clinical practice Rheumatology*, 4(9), 491-498.

30. Şener S, Şenol M. Dermatoloji'de Otoantikörler. *Tıp Araştır Derg* 2008; 6(2):105 -115.

31. Wiik, A. S. (2005). Anti-nuclear autoantibodies: clinical utility for diagnosis, prognosis, monitoring, and planning of treatment strategy in systemic immunoinflammatory diseases. *Scandinavian journal of rheumatology*, 34(4), 260-268.

32. Mahler, M., Meroni, P. L., Bossuyt, X., & Fritzler, M. J. (2014). Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Journal of immunology research*, 2014.

33. De Beeck, K. O., Vermeersch, P., Verschueren, P., Westhovens, R., Mariën, G., Blockmans, D., & Bossuyt, X. (2011). Detection of antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence and by solid phase assay. *Autoimmunity reviews*, 10(12), 801-808.

34. Tozzoli, R., Bizzaro, N., Tonutti, E., Villalta, D., Bassetti, D., Manoni, F., ... & Rizzotti, P. (2002). Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *American Journal of Clinical Pathology*, 117(2), 316-324.

35. Sheldon, J. (2004). Laboratory testing in autoimmune rheumatic diseases. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 18(3), 249-269.

36. Ismail, A. A., & Snowden, N. (1999). Autoantibodies and specific serum proteins in the diagnosis of rheumatological disorders. *Annals of clinical biochemistry*, 36(5), 565-578.
37. Shoenfeld, Y., & Tincani, A. (2005). Autoantibodies-the smoke and the fire. *Autoimmunity*, 38(1), 1.
38. Yurttutan-uyar, N., Güngör, Ö., Serteser, M., & Akyar, I. (2016). Antinükleer antikor-hep-2 (ANA) testinin tarama titresi için pozitiflik değerinin belirlenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 16.
39. Solomon, D. H., Kavanaugh, A. J., Schur, P. H., & American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. (2002). Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. *Arthritis Care & Research*, 47(4), 434-444.
40. Bizzaro, N., Antico, A., Platzgummer, S., Tonutti, E., Bassetti, D., Pesente, F., ... & Study Group on Autoimmune Diseases of the Italian Society of Laboratory Medicine. (2014). Automated antinuclear immunofluorescence antibody screening: a comparative study of six computer-aided diagnostic systems. *Autoimmunity Reviews*, 13(3), 292-298.
41. Shmerling, R. H. (2005). Diagnostic tests for rheumatic disease: clinical utility revisited. *Southern medical journal*, 98(7), 704-712.
42. Fritzler, M. J., Wiik, A., Fritzler, M. L., & Barr, S. G. (2003). The use and abuse of commercial kits used to detect autoantibodies. *Arthritis Res Ther*, 5(4), 192.
43. Yumuk, Z., Çalışkan, Ş., Gündeş, S., & Willke, A. (2005). Anti-Nükleer Antikorların (ANA) Araştırılması ve Saptanmasında Kullanılan Teknikler. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 35, 40-44.
44. Peene, I., Meheus, L., Veys, E. M., & De Keyser, F. (2001). Detection and identification of antinuclear antibodies (ANA) in a large and consecutive cohort of serum samples referred for ANA testing. *Annals of the rheumatic diseases*, 60(12), 1131-1136.
45. Berkem R, Gümüş T, Karakoç E, Acar N. Antinükleer antikorların tespitinde indirekt immunfloresan antikor ve immunoblot assay yöntemlerinin karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyol CemDerg* 2004; 34: 124-130

46. Afşar İ., Şener A.G., Vural A., Hızlı N. & Türker M. (2007). Anti nükleer antikorların pozitif saptandığı hastalarda immunoblotting test sonuçlarının değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 37(1), 39-42.
47. Damoiseaux, J., von Mühlen, C. A., Garcia-De La Torre, I., Carballo, O. G., de Melo Cruvinel, W., Francescantonio, P. L. C., ... & Andrade, L. E. (2016). International consensus on ANA patterns (ICAP): the bumpy road towards a consensus on reporting ANA results. *Autoimmunity Highlights*, 7(1), 1.
48. Vermeersch, P., & Bossuyt, X. (2013). Prevalence and clinical significance of rare antinuclear antibody patterns. *Autoimmunity reviews*, 12(10), 998-1003.
49. Muro, Y. (2005). Antinuclear antibodies. *Autoimmunity*, 38(1), 3-9.
50. Arroyo-Ávila, M., Santiago-Casas, Y., McGwin, G., Cantor, R. S., Petri, M., Ramsey-Goldman, R., ... & Brown, E. E. (2015). Clinical associations of anti-Smith antibodies in PROFILE: a multi-ethnic lupus cohort. *Clinical rheumatology*, 34(7), 1217-1223.
51. Van Venrooij, W. J., & Sillekens, P. T. (1989). Small nuclear RNA associated proteins: autoantigens in connective tissue diseases. *Clinical and experimental rheumatology*, 7(6), 635.
52. Okamoto, M., Ogawa, Y., Watanabe, A., Sugiura, K., Shimomura, Y., Aoki, N., ... & Muro, Y. (2004). Autoantibodies to DFS70/LEDGF are increased in alopecia areata patients. *Journal of autoimmunity*, 23(3), 257-266.
53. 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(1), 75-80.
54. Dellavance, A., Viana, V. S., Leon, E. P., Bonfa, E. S., Andrade, L. E., & 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), 2144-2149.
55. Miyara, M., Albesa, R., Charuel, J. L., El Amri, M., Fritzler, M. J., Ghillani-Dalbin, P., ... & Mahler, M. (2013). Clinical phenotypes of patients with anti-DFS70/LEDGF antibodies in a routine ANA referral cohort. *Clinical and Developmental Immunology*, 2013.
56. Ho, K. T., & Reveille, J. D. (2003). The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. *Arthritis Res Ther*, 5(2), 80.

57. Kayser, C., & Fritzler, M. J. (2015). Autoantibodies in systemic sclerosis: unanswered questions. *Frontiers in immunology*, 6, 167.
58. Hamaguchi, Y., Fujimoto, M., Matsushita, T., Kaji, K., Komura, K., Hasegawa, M., & Yamada, H. (2013). Common and distinct clinical features in adult patients with anti-aminoacyl-tRNA synthetase antibodies: heterogeneity within the syndrome. *PloS one*, 8(4), e60442.
59. Yang, W. H., Yu, J. H., Nakajima, A., Neuberger, D., Lindor, K., & Bloch, D. B. (2004). Do antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis patients identify increased risk for liver failure?. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2(12), 1116-1122.
60. Lee K.E., Kang J.H., Lee J.W., Wen L., Park D.J., Kim T.J. & Lee S.S. (2015). Anti-centromere antibody-positive Sjögren's syndrome: A distinct clinical subgroup?. *International journal of rheumatic diseases*, 18(7), 776-782.
61. Hanly, J. G., Thompson, K., McCurdy, G., Fougere, L., Theriault, C., & Wilton, K. (2010). Measurement of autoantibodies using multiplex methodology in patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of immunological methods*, 352(1-2), 147-152.
62. Hossny, E., Hady, H. A., & Mabrouk, R. (2000). Anti-centromere antibodies as a marker of Raynaud's phenomenon in pediatric rheumatologic diseases. *Pediatric allergy and immunology*, 11(4), 250-255.
63. Bizzaro N., Covini G., Rosina F., Muratori P., Tonutti E., Villalta D. & Platzgummer S. (2012). Overcoming a “probable” diagnosis in antimitochondrial antibody negative primary biliary cirrhosis: study of 100 sera and review of the literature. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 42(3), 288-297.
64. Onouchi, H., Muro, Y., & Tomita, Y. (1999). Clinical features and IgG subclass distribution of anti-p80 coilin antibodies. *Journal of autoimmunity*, 13(2), 225-232.
65. Vázquez-Talavera, J., Ramírez-Sandoval, R., Avalos-Díaz, E., Esparza-Ibarra, E., & Herrera-Esparza, R. (2004). Autoantibodies against Cajal bodies in systemic lupus erythematosus. *Medical Science Monitor*, 10(5), BR130-BR134.
66. Yang, W. H., Yu, J. H., Nakajima, A., Neuberger, D., Lindor, K., & Bloch, D. B. (2004). Do antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis patients identify increased risk for liver failure ? *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2(12), 1116-1122.

67. Neshet, G., Margalit, R., & Ashkenazi, Y. J. (2001, April). Anti-nuclear envelope antibodies: Clinical associations. In *Seminars in arthritis and rheumatism* (Vol. 30, No. 5, pp. 313-320). WB Saunders.
68. Duarte-Rey, C., Bogdanos, D., Yang, C. Y., Roberts, K., Leung, P. S., Anaya, J. M., ... & Gershwin, M. E. (2012). Primary biliary cirrhosis and the nuclear pore complex. *Autoimmunity reviews*, 11(12), 898-902.
69. Vermeersch, P., De Beeck, K. O., Lauwerys, B. R., Van den Bergh, K., Develter, M., Mariën, G., ... & Bossuyt, X. (2009). Antinuclear antibodies directed against proliferating cell nuclear antigen are not specifically associated with systemic lupus erythematosus. *Annals of the rheumatic diseases*, 68(11), 1791-1793.
70. Tan, E. M. (1997). High frequency of neoplasia in patients with autoantibodies to centromere protein CENP-F. *Clin Invest Med*, 20(5), 308-19.
71. Szalat, R., Ghillani-Dalbin, P., Jallouli, M., Amoura, Z., Musset, L., Cacoub, P., & Sène, D. (2010). Anti-NuMA1 and anti-NuMA2 (anti-HsEg5) antibodies: Clinical and immunological features: A propos of 40 new cases and review of the literature. *Autoimmunity reviews*, 9(10), 652-656.
72. Tuffanelli, D. L., McKeon, F., D'Anne, M. K., Burnham, T. K., & Kirschner, M. (1983). Anticentromere and anticentriole antibodies in the scleroderma spectrum. *Archives of Dermatology*, 119(7), 560-566.
73. TUTKAK, H. Romatolojik Hastalıkların Tanısında Otoantikörler.
74. Dährich, C., Pares, A., Caballeria, L., Rosemann, A., Schlumberger, W., Probst, C., ... & Komorowski, L. (2009). New ELISA for detecting primary biliary cirrhosis-specific antimitochondrial antibodies. *Clinical chemistry*, 55(5), 978-985.
75. Bizzaro, N. (2007). Autoantibodies as predictors of disease: the clinical and experimental evidence. *Autoimmunity reviews*, 6(6), 325-333.
76. Sarkar, K., & Miller, F. W. (2004). Autoantibodies as predictive and diagnostic markers of idiopathic inflammatory myopathies. *Autoimmunity*, 37(4), 291-294.
77. Ghirardello, A., Borella, E., Beggio, M., Franceschini, F., Fredi, M., & Doria, A. (2014). Myositis autoantibodies and clinical phenotypes. *Auto Immun Highlights* 5: 69–75.

78. Schulte-Pelkum, J., Fritzler, M., & Mahler, M. (2009). Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system. *Autoimmunity reviews*, 8(7), 632-637.
79. Casciola-Rosen, L., & Mammen, A. L. (2012). Myositis autoantibodies. *Current opinion in rheumatology*, 24(6).
80. Aubert, V., Graf Pislser, I., & Spertini, F. (2008). Improved diagnoses of autoimmune hepatitis using an anti-actin ELISA. *Journal of clinical laboratory analysis*, 22(5), 340-345.
81. Fritzler, M. J. (2008). Challenges to the use of autoantibodies as predictors of disease onset, diagnosis and outcomes. *Autoimmunity reviews*, 7(8), 616-620.
82. Bizzaro, N., Pasini, P., Ghirardello, A., & Finco, B. (1999). High anti-golgi autoantibody levels: an early sign of autoimmune disease ? *Clinical rheumatology*, 18(4), 346-348.
83. Stinton, L. M., Eystathioy, T., Selak, S., Chan, E. K., & Fritzler, M. J. (2004). Autoantibodies to protein transport and messenger RNA processing pathways: endosomes, lysosomes, Golgi complex, proteasomes, assemblyosomes, exosomes, and GW bodies. *Clinical Immunology*, 110(1), 30-44.
84. Bonfa, E., & Elkon, K. B. (1986). Clinical and serologic associations of the antiribosomal P protein antibody. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 29(8), 981-985.
85. Hahn, B. H. (1998). Antibodies to DNA. *New England Journal of Medicine*, 338(19), 1359-1368.
86. Reveille, J. D. (2004). Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 13(5), 290-297.
87. Davidson, A., & Diamond, B. (2001). Autoimmune diseases. *New England Journal of Medicine*, 345(5), 340-350.
88. Kurien, B. T., & Scofield, R. H. (2006). Autoantibody determination in the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Scandinavian journal of immunology*, 64(3), 227-235.
89. Waldman, M., & Madaio, M. P. (2005). Pathogenic autoantibodies in lupus nephritis. *Lupus*, 14(1), 19-24.

90. Phan, T. G., Wong, R. C., & Adelstein, S. (2002). Autoantibodies to extractable nuclear antigens: making detection and interpretation more meaningful. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9(1), 1-7.
91. Lock, R. J., & Unsworth, D. J. (2001). Antibodies to extractable nuclear antigens. Has technological drift affected clinical interpretation? *Journal of clinical pathology*, 54(3), 187-190.
92. Migliorini, P. A. O. L. A., Baldini, C. H. I. A. R. A., Rocchi, V., & Bombardieri, S. T. E. F. A. N. O. (2005). Anti-Sm and anti-RNP antibodies. *Autoimmunity*, 38(1), 47-54.
93. Egner, W. (2000). The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. *Journal of clinical pathology*, 53(6), 424-432.
94. Franceschini, F., & Cavazzana, I. (2005). Anti-Ro/SSA and La/SSB antibodies. *Autoimmunity*, 38(1), 55-63.
95. Gerli, R., & Caponi, L. (2005). Anti-ribosomal P protein antibodies. *Autoimmunity*, 38(1), 85-92.
96. Ebert, T., Chapman, J., & Shoenfeld, Y. (2005). Anti-ribosomal P-protein and its role in psychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus: myth or reality?. *Lupus*, 14(8), 571-575.
97. Basu, D., & Reveille, J. D. (2005). Anti-scl-70. *Autoimmunity*, 38(1), 65-72.
98. Tedesco, A., D'Agostino, D., Soriente, I., Amato, P., Piccoli, R., & Sabatini, P. (2009). A new strategy for the early diagnosis of rheumatoid arthritis: a combined approach. *Autoimmunity reviews*, 8(3), 233-237.
99. Stinton, L. M., & Fritzler, M. J. (2007). A clinical approach to autoantibody testing in systemic autoimmune rheumatic disorders. *Autoimmunity reviews*, 7(1), 77-84.
100. Hasson, S. S., Al-Balushi, M. S., & Al-Jabri, A. A. (2012). The role of the autoimmunity laboratory in autoimmune diseases. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(2), 159-162.
101. Us, D. (2006). Serolojik tanı yöntemleri uygulama ve değerlendirme. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Basımevi, 43-45.
102. Agmon-Levin, N., Damoiseaux, J., Kallenberg, C., Sack, U., Witte, T., Herold, M., ... & Dias, C. (2014). International recommendations for the assessment of autoantibodies to

cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Annals of the rheumatic diseases*, 73(1), 17-23.

103. Copple, S. S., Giles, S. R., Jaskowski, T. D., Gardiner, A. E., Wilson, A. M., & Hill, H. R. (2012). Screening for IgG antinuclear autoantibodies by HEp-2 indirect fluorescent antibody assays and the need for standardization. *American journal of clinical pathology*, 137(5), 825-830.

104. Emerk K. Romatizmal hastalıklarda laboratuvar bulguları. In: Tuna N. Eds. Romatizmal Hastalıklar. İstanbul: Tas Yay.1994: 51-87.

105. Towbin, H., Staehelin, T., & Gordon, J. (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(9), 4350-4354.

106. Chan, E. K. L., & Pollard, K. M. (1992). Autoantibodies to ribonucleoprotein particles by immunoblotting. In *Manual of clinical laboratory immunology* (pp. 755-761). American Society for Microbiology, Washington, DC.

107. Baskın Y, Afacan G, Erkunt SS, Yigitbası T. Sistemik Otoimmün Hastalıkların Tanısında Yeni Bir Yöntem: Multipleks Test Sistemi ve Yöntem Performansları. *Turk J Biochem*, 2008;33 (1): 19-24.

108. Copple, S. S., Sawitzke, A. D., Wilson, A. M., Tebo, A. E., & Hill, H. R. (2011). Enzyme-linked immunosorbent assay screening then indirect immunofluorescence confirmation of antinuclear antibodies: a statistical analysis. *American Journal of Clinical Pathology*, 135(5), 678-684.

109. Karakeçe, E., Atasoy, A. R., Çakmak, G., Tekeoglu, I., Harman, H., & Çiftci, I. H. (2014). Bir üniversite hastanesinde antinükleer antikor pozitiflikleri. *Turk J Immunol*, 2(1), 5-8.

110. Scofield, R. H. (2004). Autoantibodies as predictors of disease. *The Lancet*, 363(9420), 1544-1546.

111. Shi, G., Zhang, J., Zhang, Z. J., & Zhang, X. (2013). Systemic autoimmune diseases. *Clinical and Developmental Immunology*, 2013.

112. Whiting, P. F., Smidt, N., Sterne, J. A., Harbord, R., Burton, A., Burke, M., ... & Dieppe, P. (2010). Systematic review: accuracy of anti-citrullinated peptide antibodies for diagnosing rheumatoid arthritis. *Annals of internal medicine*, 152(7), 456-464.
113. Klareskog, L., & Catrina, A. (2009). Paget S. Rheumatoid arthritis. *Lancet*, 373, 659-72.
114. Venables, P., & Maini, R. N. (2014). Diagnosis and differential diagnosis of rheumatoid arthritis. *UpToDate2012*.
115. Petri, M., Orbai, A. M., Alarcón, G. S., Gordon, C., Merrill, J. T., Fortin, P. R., ... & Sturfelt, G. (2012). Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism*, 64(8), 2677-2686.
116. YÜCEL, A. E. (2005). Sistemik Lupus Eritematozda Klinik Bulgular. *Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri Dergisi*, 1(8), 12-15.
117. Greco, C. M., Rudy, T. E., & Manzi, S. (2003). Adaptation to chronic pain in systemic lupus erythematosus: applicability of the multidimensional pain inventory. *Pain medicine*, 4(1), 39-50.
118. Budhram, A., Chu, R., Rusta-Sallehy, S., Ioannidis, G., Denburg, J. A., Adachi, J. D., & Haaland, D. A. (2014). Anti-cyclic citrullinated peptide antibody as a marker of erosive arthritis in patients with systemic lupus erythematosus: a systematic review and meta-analysis. *Lupus*, 23(11), 1156-1163.
119. Biazar, C., Sigges, J., Patsinakidis, N., Ruland, V., Amler, S., Bonsmann, G., & Kuhn, A. (2013). Cutaneous lupus erythematosus: first multicenter database analysis of 1002 patients from the European Society of Cutaneous Lupus Erythematosus (EUSCLE). *Autoimmunity Reviews*, 12(3), 444-454.
120. Tselios, K., & Urowitz, M. B. (2017). Cardiovascular and pulmonary manifestations of systemic lupus erythematosus. *Current rheumatology reviews*, 13(3), 206-218.
121. Dhillon, P. K., & Adams, M. J. (2013, June). Thrombosis in systemic lupus erythematosus: role of impaired fibrinolysis. In *Seminars in thrombosis and hemostasis* (Vol. 39, No. 04, pp. 434-440). Thieme Medical Publishers.

122. Danila, M. I., Pons-Estel, G. J., Zhang, J., Vila, L. M., Reveille, J. D., & Alarcon, G. S. (2009). Renal damage is the most important predictor of mortality within the damage index: data from LUMINA LXIV, a multiethnic US cohort. *Rheumatology*, 48(5), 542-545.
123. Cuchacovich, R., & Gedalia, A. (2009). Pathophysiology and clinical spectrum of infections in systemic lupus erythematosus. *Rheumatic Disease Clinics*, 35(1), 75-93.
124. Liang, M. H., Corzillius, M., Bae, S. C., Lew, R. A., Fortin, P. R., Gordon, C., ... & Denburg, S. (1999). The American College of Rheumatology nomenclature and case definitions for neuropsychiatric lupus syndromes. *Arthritis and rheumatism*, 42(4), 599-608.
125. Newman, K., Owlia, M. B., El-Hemaidi, I., & Akhtari, M. (2013). Management of immune cytopenias in patients with systemic lupus erythematosus—old and new. *Autoimmunity reviews*, 12(7), 784-791.
126. Ramos-Casals, M., Tzioufas, A. G., & Font, J. (2005). Primary Sjögren's syndrome: new clinical and therapeutic concepts. *Annals of the rheumatic diseases*, 64(3), 347-354.
127. Shiboski, C. H., Shiboski, S. C., Seror, R., Criswell, L. A., Labetoulle, M., Lietman, T. M., ... & Mariette, X. (2017). 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome: a consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts. *Annals of the rheumatic diseases*, 76(1), 9-16.
128. Ramos-Casals, M., Anaya, J. M., García-Carrasco, M., Rosas, J., Bové, A., Claver, G., ... & Font, J. (2004). Cutaneous vasculitis in primary Sjögren syndrome: classification and clinical significance of 52 patients. *Medicine*, 83(2), 96-106.
129. Amezcua-Guerra, L. M., Hofmann, F., Vargas, A., Rodriguez-Henriquez, P., Solano, C., Hernández-Díaz, C., ... & Pineda, C. (2013). Joint involvement in primary Sjögren's syndrome: an ultrasound "target area approach to arthritis". *BioMed research international*, 2013.
130. Kaplan, M. J., & Ike, R. W. (2002). The liver is a common non-exocrine target in primary Sjögren's syndrome: a retrospective review. *BMC gastroenterology*, 2(1), 21.
131. Bartoloni, E., Bistoni, O., Alunno, A., Cavagna, L., Nalotto, L., Baldini, C., ... & Carubbi, F. (2019). Celiac Disease Prevalence Is Increased in Primary Sjögren's Syndrome

and Diffuse Systemic Sclerosis: Lessons from a Large Multi-Center Study. *Journal of clinical medicine*, 8(4), 540.

132. d'Arbonneau, F., Ansart, S., Berre, R. L., Dueymes, M., Youinou, P., & Pennec, Y. L. (2003). Thyroid dysfunction in primary Sjögren's syndrome: A long-term followup study. *Arthritis Care & Research: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 49(6), 804-809.

133. Ito, I., Nagai, S., Kitaichi, M., Nicholson, A. G., Johkoh, T., Noma, S., ... & Mishima, M. (2005). Pulmonary manifestations of primary Sjogren's syndrome: a clinical, radiologic, and pathologic study. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 171(6), 632-638.

134. Segal, B. M., Pogatchnik, B., Holker, E., Liu, H., Sloan, J., Rhodus, N., & Moser, K. L. (2012). Primary Sjogren's syndrome: cognitive symptoms, mood, and cognitive performance. *Acta Neurologica Scandinavica*, 125(4), 272-278.

135. Ramos-Casals, M., Font, J., Garcia-Carrasco, M., Brito, M. P., Rosas, J., Calvo-Alen, J., ... & Ingelmo, M. (2002). Primary Sjögren syndrome: hematologic patterns of disease expression. *Medicine*, 81(4), 281-292.

136. Theander, E., Henriksson, G., Ljungberg, O., Mandl, T., Manthorpe, R., & Jacobsson, L. T. (2006). Lymphoma and other malignancies in primary Sjögren's syndrome: a cohort study on cancer incidence and lymphoma predictors. *Annals of the rheumatic diseases*, 65(6), 796-803.

137. Bournia, V. K., & Vlachoyiannopoulos, P. G. (2012). Subgroups of Sjögren syndrome patients according to serological profiles. *Journal of autoimmunity*, 39(1-2), 15-26.

138. Peoples, C., Medsger Jr, T. A., Lucas, M., Rosario, B. L., & Feghali-Bostwick, C. A. (2016). Gender differences in systemic sclerosis: relationship to clinical features, serologic status and outcomes. *Journal of scleroderma and related disorders*, 1(2), 204-212.

139. Sandusky, S. B., McGuire, L., Smith, M. T., Wigley, F. M., & Haythornthwaite, J. A. (2009). Fatigue: an overlooked determinant of physical function in scleroderma. *Rheumatology*, 48(2), 165-169.

140. Wu, W., Jordan, S., Graf, N., de Oliveira Pena, J., Curram, J., Allanore, Y., ... & Distler, O. (2019). Progressive skin fibrosis is associated with a decline in lung function and worse

survival in patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis in the European Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) cohort. *Annals of the rheumatic diseases*, 78(5), 648-656.

141. Mihai, C., Landewé, R., Van Der Heijde, D., Walker, U. A., Constantin, P. I., Gherghe, A. M., ... & Czirják, L. (2016). Digital ulcers predict a worse disease course in patients with systemic sclerosis. *Annals of the rheumatic diseases*, 75(4), 681-686.

142. Morrisroe, K. B., Nikpour, M., & Proudman, S. M. (2015). Musculoskeletal manifestations of systemic sclerosis. *Rheumatic Disease Clinics*, 41(3), 507-518.

143. Marie, I., Dominique, S., Levesque, H., Ducrotté, P., Denis, P., Hellot, M. F., & Courtois, H. (2001). Esophageal involvement and pulmonary manifestations in systemic sclerosis. *Arthritis Care & Research: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 45(4), 346-354.

144. Shanmugam, V. K., & Steen, V. D. (2012). Renal disease in scleroderma: an update on evaluation, risk stratification, pathogenesis and management. *Current opinion in rheumatology*, 24(6), 669.

145. Reveille, J. D., Solomon, D. H., & American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. (2003). Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: anticentromere, Scl-70, and nucleolar antibodies. *Arthritis Care & Research*, 49(3), 399-412.

146. Van Den Hoogen, F., Khanna, D., Fransen, J., Johnson, S. R., Baron, M., Tyndall, A., ... & Riemekasten, G. (2013). 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis & Rheumatism*, 65(11), 2737-2747.

147. Dalakas, M. C., & Hohlfield, R. (2003). Polymyositis and dermatomyositis. *The Lancet*, 362(9388), 971-982.

148. Callen, J. P. (2010). Cutaneous manifestations of dermatomyositis and their management. *Current rheumatology reports*, 12(3), 192-197.

149. Katzap, E., Barilla-LaBarca, M. L., & Marder, G. (2011). Antisynthetase syndrome. *Current rheumatology reports*, 13(3), 175.

150.Mammen, A. L. (2010). Dermatomyositis and polymyositis: clinical presentation, autoantibodies, and pathogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1184(1), 134-153.

151. Bennett RM. Overlap Syndromes. In: *Textbook of Rheumatology*, 8th, WB Saunders Co, Philadelphia 2009. p.1381.

152. Kelly, A., & Panush, R. S. (2017). Diagnostic uncertainty and epistemologic humility.

153. Mosca, M., Tani, C., Vagnani, S., Carli, L., & Bombardieri, S. (2014). The diagnosis and classification of undifferentiated connective tissue diseases. *Journal of autoimmunity*, 48, 50-52.

154- Scofield, R. H., Bruner, G. R., Namjou, B., Kimberly, R. P., Ramsey-Goldman, R., Petri, M., Reveille, J. D., Alarcón, G. S., Vilá, L. M., Reid, J., Harris, B., Li, S., Kelly, J. A., & Harley, J. B. (2008). Klinefelter's syndrome (47, XXY) in male systemic lupus erythematosus patients: support for the notion of a gene-dose effect from the X chromosome. *Arthritis and rheumatism*, 58(8), 2511–2517. <https://doi.org/10.1002/art.23701>

155-Anti nükleer antikor (ANA) sonuçları ile ekstrakte edilebilir nükleer antikorların (ENA) arasındaki ilişkinin araştırılması, sayfa 36, Uzmanlık tezi, Bolu: Abant İzzet Baysal Üniversitesi, 2015

156-Azeez, H. J., Bayram, Y., Parlak, M., Akyüz, S., & Güdücüoğlu, H. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Anti-nükleer Antikor (ANA) Sonuçlarının Değerlendirilmesi. *Medical Research Reports*, 3(2), 24-28.

157-Barut, B. O., Emre, U., Demir, A. S., Ünal, A., & Tekin, I. (2013). The importance of examining antinuclear antibody (ANA) in neurological diseases [Nörolojik hastalıklarda antinükleer antikor (ANA) incelemesinin önemi].

158-Çelikkilek, N., Özdem, B., & Açıkgöz, Z. C. (2015). Evaluation of Anti-Nuclear antibody test results in clinical practice. *Journal of Microbiology & Infectious Diseases*, 5(2).

159-Fauci, Anthony S. *Harrison Romatoloji*. Nobel Tıp Kitabevi, 2014.

160-Tiryaki Y, Dağlar DE, Uluutku M. Aydın Devlet Hastanesi ANA IFA test sonuçlarının değerlendirilmesi. 3. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 18–22 Kasım 2015, Belek, Antalya. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti* 2015; PS 273:298.

161-Yılmaz, Ö., Karaman, M., Ergon, M. C., Bahar, İ. H., & Yuluğ, N. (2005). Konnektif doku hastalıklarının tanısında Antinükleer (ANA) ve Anti-double stranded DNA (anti-dsDNA) antikorlarının önemi. *T Parazitol Derg*, 29, 287-290.

162-Olgun P, Behlül A, Yazısız H, Kaplan G, Bes C, Borlu F, et al. Bağ dokusu hastalıklarının tanısında antinükleer antikorun (ANA) kullanılabilirliği. 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi,10–13 Kasım 2013, Belek, Antalya. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti 2013*; PS 285:321.

163-Aksu G, Gülez N, Karaca N, Kütükçüler N. Antinükleer antikor saptanmasında immünfloresan ve immüno blot tekniklerinin karşılaştırılması. 20. Ulusal İmmünoloji Kongresi Bildiri ve Özet Kitabı, 102-103.

164-Mengelöglü Z, Tas T, Kocoglu E, Aktas G, Karabörk S. Determination of anti-nuclear antibody pattern distribution and clinical relationship. *Pak J Med Sci* 2014; 30:380–3.

165-E.S. Çağlayan tez çalışması, Anti nükleer antikorların farklı yöntemlerle bakılması ve alt gruplarının karşılaştırılması, 2019, Kocatepe Üniversitesi

167-Galektin-8'e karşı otoantikorlar: özgüllükleri, sistemik lupus eritematozda lenfopeni ile ilişkisi ve romatoid artrit ve akut inflamasyonda tespit. Massardo L, Metz C, Pardo E, Mezzano V, Babul M, Jarpa E, Guzmán AM, Andrés, Kaltner H, Gabius HJ, Jacobelli S, González A, Soza A .*Lupus*. 2009; 18 (6): 539.

166- Lane, S. K., & Gravel, J. W., Jr (2002). Clinical utility of common serum rheumatologic tests. *American family physician*, 65(6), 1073–1080.