

OTOİMMÜN ROMATOİD HASTALIKLARDA OTOANTİKORLAR AUTOANTIBODIES IN AUTOIMMUNE ROMATOID DISEASES

Dr. Nuray GÜREL-POLAT 

Koç Üniversitesi, Koç Üniversitesi Hastanesi, Klinik Laboratuvar,
İmmünoloji ve Alerji Tanı Laboratuvarı

Geliş Tarihi / Received: 30.06.2021
Kabul Tarihi / Accepted: 29.08.2021

Derleme Makalesi/Review Article
DOI: 10.38065/euroasiaorg.627

ÖZET

Otoimmün romatoid hastalıkların tanısı klinik, histopatolojik, laboratuvar ve immünolojik testlerden oluşan parametrelerin bir araya gelmesi ile konulabilmektedir. Bu parametrelerin içinde otoantikolar, özellikle klinik verileri net olmayan hastalar için ayırıcı tanıda büyük yarar sağlamaktadır. Otoantikoların tanımlanmasında immünfloresan, ELISA, immündefüzyon, immünopresipitasyon ve Western blot gibi çeşitli yöntemler sayılabilmektedir. Anti nükleer antikor, çift sarmallı deoksiribonükleik asit antikor, anti nötrofil sitoplazmik antikorlar gibi otoantikolar altın standart yöntem olarak immünfloresan ile çalışılırken; anti-siklik sitrulinlenmiş peptid (CCP) antikorları, anti fosfolipid antikorları (anti-kardiyolipin) ELISA yöntemi; ekstrakte edilebilen nükleer antijenlere karşı antikorlar (ENA) grubunda ise immünblot ve western blot yöntemi ile değerlendirilir.

Günümüzde otoantikoların sayısı 100'den fazladır. Bu otoantikoların bazılarının anlamı halen bilinmemektedir. Anti nükleer antikor grubu otoantikoların tanımlanması sistemik ve organ spesifik hastalıkların teşhis ve tedavisinde önemli rol oynar. Bu yöntemler kullanılarak klinik tıp ve klinik immünolojide pratik, hızlı ve güvenilir sonuçlara ulaşılır.

Anahtar Kelimeler: Otoantikolar, otoimmün romatoid hastalıklar, laboratuvar parametreleri

ABSTRACT

The diagnosis of autoimmune rheumatoid diseases can be made by combining parameters consisting of clinical, histopathological, laboratory and immunological tests. Among these parameters, autoantibodies are of great benefit in differential diagnosis, especially for patients with unclear clinical data. Immunofluorescence, ELISA, immunodiffusion, immunoprecipitation and Western blot can be used to identify autoantibodies. While autoantibodies like antinuclear antibody, double stranded deoxyribonucleic acid and anti neutrophils antibody are detected by immunofluorescence as a golden standard test, Anti-cyclic Citrullinated Peptide Antibody (CCP), antiphospholipid antibodies (anti-cardiolipid) are evaluated by ELISA and ENA group by immunoblot or western blot. Today the number of autoantibodies that can be detected is over 100. The indication of some of these autoantibodies are not known even today. The definition of antinuclear antibody group autoantibodies plays a crucial role for the diagnosis and treatment of systemic and organ-specific illnesses. With these methods, practical, fast and trustworthy results in clinical medicine and clinical immunology can be obtained.

Keywords: Autoantibodies, autoimmune rheumatoid diseases, laboratory parameters

GİRİŞ

Otoimmün romatoid hastalık şüphesi bulunan bireylerin serum örneklerinde otoantikoların tanımlanması teşhis aşamasının önemli bir parçasıdır. Sonuçların klinik yararı laboratuvar testlerinin kalitesine bağlıdır. Çeşitliliği, spesifite ve sensitivitesi olan antikorları tanımlamak için farklı metodlar kullanılmaktadır. Günümüzde oto antikorlar, immünfloresans, ELISA, immündefüzyon, immünopresipitasyon ve Western blot gibi çeşitli yöntemlerle saptanabilmektedir.

Klinik ve serolojik incelemelerle tanı konulmaya çalışılan otoimmün romatolojik hastalıklardan olan romatoid artrit için günümüze kadar serolojik olarak sadece romatoid faktör (RF) serumda incelenebilmekteydi.

Günümüzde ise otoimmün hastalıkların tanısında kullanılan çok çeşitli teknik ve yöntemler bulunmaktadır. Fakat tüm bu verilere ek olarak, klinik bulgulardan bağımsız yalnızca laboratuvar testlerine dayanarak tanıya gitmenin yanlış olduğu da önemle vurgulanmaktadır (Goldblatt, F. and O'Neill, SG.2013, Birtane, M.2012, Watts, R.2014, Watts, R.2006, Watts R.2002, Castelar-Pinheiro, GR.,and Xavier, RM.2015).

ROMATOİD FAKTÖR

Romatoid faktör ilk olarak, hastanın kendi IgG molekülünün Fc parçasına karşı gelişen otoantikordur. Her immüno globulin sınıfında (IgG, IgM, IgA) bulunur. IgG RF kendi kendine bağlanma kapasitesine sahiptir ve böylece büyük immün komplekslerin oluşumuna neden olabilmektedir. RF geleneksel olarak denatüre edilmiş IgG ile kaplanmış jelatin partiküllü aglütinasyon testi kullanılarak tanımlanmıştır, fakat son dönemlerde tayininde ELISA testi de kullanılmaktadır. Romatoid artrit (RA) hastalarında % 60-80 oranında RF pozitifliği saptanmasına rağmen bu antikolar romatoid artrit için spesifik bir parametre olarak kabul edilmemektedir; bunun nedeni de bu faktörün RA'in yanı sıra, sağlıklı kişilerde, çeşitli enfeksiyonlarda ve diğer otoimmün hastalıklarda da sıklıkla yüksek serum düzeylerinin saptanmasıdır (De Angelis, V.,and Mononi, PL.2007, Aggarwal, A.2014).

ANTI-SIKLIK SİTRULİNLENMİŞ PEPTİD (ANTI-CCP) ANTİKORLARI

Son yıllarda yapılan çalışmalarla RA tanısında kullanılabilecek duyarlık ve özgüllüğü yüksek yeni otoantikoların araştırılmasına yoğunlaşmıştır. Anti-CCP antikoları, sitrulin peptidlerine karşı oluşan otoantikolardır. Sitrulin otoantikoları RA için çok spesifik olan antikolardır.

Sitrulinlenmiş antijenlere karşı direkt olarak antikolar oluşmaktadır. Sitrulin, arjinin artıklarının translasyon sonrası enzimatik değişikliği ile oluşan filagrin molekülünde yer alan bir aminoasittir. Siklik sitrulin peptidleri ELISA yöntemiyle kolayca tayin edilebilmesi nedeniyle ön planda yer almaktadır. Anti-CCP antikoları pozitif saptanan RA'lı hastaların %80'inde hastalık mevcuttur. Özgüllüğü yaklaşık % 91-98, duyarlılığı ise % 41-67 arasındadır. Bundan dolayı, erozif RA'in gelişiminde pozitif anti-CCP testi ön görülür ve bu testin prediktif değeri RF'ün tamamlayıcısıdır. Anti-CCP antikolarının RA erken tanısında da önemi büyüktür. Anti-CCP antikolar hastalığın prognoz tayininde de sağlıklı bir öngörü sağlamaktadır (Naguwa, S.2007; Valesini, G., et al.2015).

ANTI-NÜKLEER ANTİKORLAR

Anti-nükleer antikor (ANA); 1940'lı yıllarda keşfinden bu yana sistemik otoimmün hastalıkların sınıflandırılması ve tanımlanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Tanımlanan bu otoantikolar hücrenin nükleus, nükleolus, hücre zarı, plazma proteinleri ve sitoplazmik/nükleer organizasyon yapı bileşenlerine karşı da gelişebilmektedir. ANA görüldüğü gibi hücresel proteinler veya nükleik asitlere karşı oluşan otoantikolardır. Bu otoantikolar genel olarak yüksek titre, yüksek afiniteli IgG antikoları olarak ifade edilir.

ANA taraması otoimmün romatoid hastalığın ilk başlangıç basamağıdır. Yüksek titrede gözlenen ANA pozitifliği (>1:160) otoimmün romatoid hastalık varlığında klinik olarak anlamlılık taşımaktadır. Otoantikorun tarama testinde genel olarak kemirici karaciğer ve/veya böbreğin taze dondurulmuş kesitlerinde veya Hep-2 gibi kültüre edilmiş insan hücre serileri kullanılır. Çalışmalarda son dönemlerde IIF ile yapılan Hep-2 hücreleri tercih edilir, çünkü hücreler tek tekdir ve hücrelerin organelleri kolaylıkla gözlenir.

Hep-2 hücrelerinde ANA boyanması üç kategoride gruplandırılmaktadır: nukleoplazmik, nukleolar ve sitoplazmik. (Watts, R.2014).

Nukleoplazmik boyanma ise çeşitli alt gruplara ayrılmaktadır; bunlardan *homojen boyanma*; ds-DNA, histon, kromatin ve topoisomerez 1; *speckled (benekli) boyanma* ise Sm, nRNP, Ro, La, PCA, KuRNA polimeraz 1; *periferik boyanma* lamin A/B/C/ nuklear por ve sentromerdir.

Nukleolar boyanan antikorlar; SSc fibrilların (U3-RNP), RNAP I/III, hUBF (NOR-90), Pm-SCI ve Th (1-7) (Tablo I).

Sitoplazmik boyanan antikorlar; miyosit ilişkili antikorlar (aminoasil tRNA sentataz, anti-SRP), anti-mitokondriyal, anti-golgi apparatus ve anti-Ro (SS-A) antikorlarını içermektedir. (Keren, DF.2002, Cabiedes, AJ., and Núñez-Álvarez, CA.2010).

Tablo 1. ANA paterni ve ilişkili olduğu hastalıklar

Homojen (diffüz) boyanma	SLE İlaça bağlı lupus Sistemik sklerosis
Periferik (rim) boyanma	SLE/otoimmün hepatit
Benekli boyanma	SLE Primer skleroderma Mikst konnektif doku hastalığı Sjögren sendromu Subakut kutanöz lupus eritamatozus
Nükleolar boyanma	Primer skleroderma Hepatosellüler karsinom
Sentromer boyanma	Limited skleroderma CREST sendromu

ANTI-DNA ANTİKORLARI

Çift sarmallı DNA (ds-DNA)'ya karşı antikorların varlığı SLE'nin teşhisinde büyük önem taşımaktadır. Anti-ds-DNA antikorları diğer hastalıklarda da nadir olarak oluşmaktadır. Tam tersine, tek zincirli DNA antikorları çeşitli otoimmün ve enfeksiyon şartlarında da gözlenmektedir. Anti-ds-DNA antikorları çeşitli metodlarla tanımlanabilmektedir. Bir kinetoplast içeren dairesel ds-DNA'sı olan *Crithidia lucilliae* hemoflagellatı kullanılan IIF çok spesifiktir ve bu "*altın standart*" olarak kabul edilmektedir. ELISA Crithidia testinden daha az spesifik olmasına rağmen ölçülebilir, sensitif ve hızlıdır, fakat saf ds-DNA kullanımından bağımsızdır. Radioimmünoassay de genel olarak kullanılabilen, fakat gittikçe artan laboratuvar güvenlik nedenlerinden dolayı radyoizotop içeren test kullanımının azalma eğilimi göstermesi ile ELISA anti-ds-DNA testi için genel olarak sıklıkla tercih edilmektedir (Watts R.2002, Aggarwal, A.2014).

EKSTRAKTE EDİLEBİLEN NÜKLEER ANTİJENLERE (ENA) KARŞI ANTİKORLAR

ENA'e karşı antikorların tanımı çeşitli otoimmün romatoid hastalıkların teşhisinde önemlidir. Bu antikorlar geleneksel olarak (ELISA günümüzde çok daha yaygın kullanılmasına rağmen) immündefüzyon teknikleri kullanılarak tanımlanmaktadır. Enzimatik yöntemlerle yapılan çalışmalarda bu antijenlerin RNaz ve tripsin sensitif olduğunu gösterilmiş olan ribonükleoprotein(RNP) bileşikleridir. Sm (veya Smith antijen: Sm, Ro ve La antijenleri; onları ilk bulunan hastaların soyadlarının ilk iki harfi ile her biri isimlendirilmiştir) RNaz ve tripsin dirençlidir. RNP antijenik determinantları U1 RNA ile ilişkili bulunmuştur, oysaki Sm

determinantları U1, U2 ve U4-6RNA da bulunmaktadır. Diğer iki önemli nükleer antijen *Ro* ve *La*'dır, bağımsız olarak tanımlanan Sjögren's Sendrom A (SS-A) ve Sjögren's Sendrom B (SS-B) antijenleridir.

tRNA sentetaza karşı antikorlar polimyositisli hastalarda tanımlanmıştır. tRNA sentetaz polipeptidin toplanması süresince aminoasit onunla yerini tutan tRNA bağlanan sitoplazmik enzimdir. tRNA sentetaza karşı çeşitli antikorlar tanımlanmıştır: anti-Jo-1 (histidil), PL87 (threonil), PL-12 (alanil), OJ (isolösil), EJ (glisil) ve KS (asparginil). Anti-Jo-1 (histidil) myositisli hastaların % 30'unda bulunur. Bu antikora sahip hastalar sıklıkla benzer klinik bulguları da paylaşmaktadır. tRNA sentetazlar sitoplazmada lokalizedir fakat IIF ANA da perinükleer boyanma özelliği bunların varlığında ipucu olabilmektedir.

Anti-topoizomeraz-1 antikorları (Scl-70) diffüz kutanöz varyantı skleroderma ve pulmoner hastalık yüksek riski ile ilişkili olarak saptanmıştır. Topoizomeraz 1 replikasyonda çözülen DNA prior içeren 100 kDa nükleer bir enzimdir. Sklerodermada hedef olan diğer enzimler (RNA polimeraz I, II ve III gibi) nukleolardır ve kardiyak ve renal hastalık ön teşhisi konulan vakalarda artan risk ile bağlantılıdır. Hep-2 hücrelerinde IIF ile tanımlanan anti-sentromer antikorları sklerodermanın sınırlı kutanöz varyantları için spesifiktir ve metafaz kromozomlarının kinetokoru çok belirgin olarak pozitifdir (Tablo II) (Birtane, M. 2012, Watts, R.2014, Aggarwal, A.2014).

Tablo 2. Anti-ekstrakte edilebilen nükleer antijenlerin klinik ilişkisi

ANTİKOR	ALTERNATİF İSİM	HASTALIK İLİŞKİSİ
Anti Sm	Anti Smith	Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)
Anti RNP	Anti U1-RNP Anti Ribonükleoprotein	Mikst konnektif doku hastalığı, SLE, Miyositis, sistemik sclerosis
Anti SSA	Anti Ro Anti Sjögren's Syndrom A	Primer Sjögren's sendromu (PSS), SLE, Neonatal lupus
Anti SSB	Anti La Anti Sjögren's Syndrom B	Primer Sjögren's sendromu, SLE
Anti Jo-1	Anti histidil-tRNA Sentetaz	Polimyositis/dermatomyositis
Anti Scl 70	Anti DNA topoizomeraz-1	Sistemik sclerosis (skleroderma)

ANTI-FOSFOLİPİD (ANTI-KARDİYOLİPİN) ANTİKORLARI

Anti-fosfolipid antikorları hücre membran fosfolipidlerine bağlanan ve plazma proteinlerine karşı oluşan heterojen bir otoantikör grubudur. Anti-fosfolipid antikorların antijenik hedefleri negatif yüklü fosfolipidler ve serum fosfolipid bağlayıcı proteinlerden oluşmaktadır. Fosfolipidlere karşı antikorlar özellikle kardiyolipin Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) hastalığı olan kişilerde ve primer anti-fosfolipid antikor sendromu (APS) olan hastalarda görülen lupus antikoagülan ve yalancı pozitif Wasserman reaksiyondan sorumludur. Fosfolipid ve bir kofaktör olan beta-2 glikoproteininin etkileşimi antikörün bağlanmak için uygun olan antijenik bölgesi tanımlama için gereklidir. Anti-fosfolipid antikorları ile vasküler tromboz ve tekrarlayan düşükler arasında ilişkili gösterilmiştir. Anti-kardiyolipin antikorları için standart ELISA yöntemi ile en az 12 hafta ara ile en az 2 ölçümde saptanmış IgG ve/veya IgM orta ve yüksek titrede pozitiflik varlığı APS için çok spesifiktir, fakat bazı hastalar da yalnızca IgM antikorları pozitifdir (>40 GPL/MPL).

Anti-fosfolipid antikorlar negatif yüklü kardiyolipin ve fosfatidilserin ve nötr fosfatidilglikolin, fosfatidiletanolamin gibi değişik fosfolipid antijenleri yanı sıra başlıca anyonik fosfolipidlere

bağlanan bir protein olan beta-2 glikoprotein-1(B2GP1)'e karşı gelişmiş otoantikordur (Khamashta, MA., Galli, M., Matsuura, E., et al.(2007)

ANTI-C1Q ANTİKORLARI

C1q kompleman aktivasyonunun klasik yolunun ilk bileşenini oluşturmaktadır; herediter yetersizlik SLE için bir risk faktörüdür. C1q'e karşı antikorlar SLE (% 47 üzerinde) hastalarının serumunda bulunmaktadır ve böbrek tutulumu ile ilişkilidir. Anti-C1q izlenimi renal tolerans tanımlanması için faydalı olabilmektedir (Cicardi, M., and Zingale, LC. 2007).

ANTI-NÖTROFİL SİTOPLAZMİK ANTİKORLAR (ANCA)

Anti-nötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA) 1980'lerin başlarında sistemik vaskülitli hastaların serumunda ilk kez tanımlanmıştır. ANCA nötrofil ve monositlerin sitoplazmasında yer alan granüllerdeki antijenlere bağlanmaktadır. Etanol ile fikse edilmiş insan nötrofillerinde IIF kullanılarak iki temel boyanma özelliği gözlenmektedir: sitoplazmik (c-ANCA) ve perinükleer (p-ANCA).

İki temel antijenik hedef olarak cANCA ile ilişkili proteinaz 3 (PR3) ve pANCA ile ilişkili myeloperoksidaz (MPO) tanımlanmıştır. c-ANCA ve PR3'ün kombinasyonu Wegener granülomatozu ile ilişkilidir (>%90), buna karşılık p-ANCA mikroskobik polianjitis, idiyopatik kresentrik glomerülonefrit ve Churg Strauss ile ilişkilidir. İdeal olarak PR3 ve MPO için hem IIF hem de ELISA kullanılan yöntemlerdir.

Atipik ANCA paternleri nadirdir ve hem perinükleer hem de sitoplazmik mikst boyanma özelliği propisil, diğer ilaçlarla ve RA'da görülebilir. Mikst patern çoklu hedef antijen varlığını göstermektedir (Wiik, A.2007).

Sonuç olarak, otoantikordur otoimmün hastalıkların erken göstergesidir. Bunlardan bazıları, hastalık patogeneğinde direkt rol oynayabilmektedir. Her otoantikoron kendine özgü romatolojik hastalıklarla ilişkisi vardır. Otoantikordur hastaların klinik değerlendirilmesinde büyük ölçüde yardımcıdır, ancak direkt tanı koydurucu olmadıkları akılda tutulmalıdır (Stinton, LM. and Fritzler, MJ.2007).

KAYNAKLAR

- Goldblatt, F. and O'Neill, SG. (2013). Autoimmune rheumatic diseases 1. Clinical aspects of autoimmune rheumatic diseases. *Lancet* 382:797-808.
- Birtane, M. (2012). Diagnostic role of anti-nuclear antibodies in rheumatic diseases. *Turk J Rheumatol.* 27(2):79-89.5.
- Watts, R. (2014). Autoantibodies in the autoimmune rheumatic diseases. *Medicine* 42(3):121-125.
- Watts, R. (2006). Autoantibodies in the autoimmune rheumatic diseases. *Medicine* 34(11): 441-444.
- Watts R. (2002). Autoantibodies in autoimmune diseases. *Medicine*; 2-6.
- Castelar-Pinheiro, GR.,and Xavier, RM. (2015). The spectrum and clinical significance of autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Frontiers Immunol* (320): 1-3
- De Angelis, V.,and Mononi, PL. (2007). Rheumatoid factors. Autoantibodies. Elsevier Inc. second ed.; 94: 755-762.
- Aggarwal, A. (2014). Role of autoantibody testing. *Best Practice & research Clin Rheumol.* 28: 907-920.

- Naguwa, S. (2007). Anti-cyclic citrullinated peptide antibody. *Autoantibodies*. Elsevier Inc. second ed. 89: 721-723.
- Valesini, G., et al. (2015). Citrullination and autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* 14: 490-497.
- Keren, DF. (2002). Antinuclear antibody testing. *Clin Lab Med*. 22: 447-474.
- Cabiedes, AJ., and Núñez-Álvarez, CA. (2010). Antinuclear antibodies *Reumatol Clin* 6(4): 224-230.
- Khamashta, MA., and Bertolaccini, ML. (2007). Anticardiolipin antibodies. *Autoantibodies*. Elsevier Inc. second ed. 92: 741-745.
- Galli, M., (2007). Phospholipid antibodies (non-anticardiolipin)-anti-prothrombin antibodies. *Autoantibodies*. Elsevier Inc. second ed. 93:747-753.
- Matsuura, E., et al. (2007) B2 Glycoprotein 1 antibodies. *Autoantibodies*. Elsevier Inc. second ed. 85: 687-693.
- Cicardi, M., and Zingale, LC. (2007). C1 inhibitor antibodies. *Autoantibodies*. Elsevier Inc. second ed. 86: 695-701.
- Wiik, A. (2007). Neutrophil-specific antinuclear and anti-cytoplasmic antibodies in chronic inflammatory diseases. *Autobodies*. Elsevier Inc. second ed. 15:111-117.
- Stinton, LM. and Fritzler, MJ. (2007). A clinical approach to autoantibody testing in systemic autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmunity reviews*.; 7(1): 77-84.