

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI



İNDİREKTİMMÜNİFLORESAN YÖNTEMİ İLE ÇALIŞILAN
ANTİNÜKLEERANTİKOR SONUÇLARININ
RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHAR ÖZDEMİR

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Fatma AVCIOĞLU

BOLU, KASIM - 2022

KABUL VE ONAY SAYFASI

BAHAR ÖZDEMİR tarafından

hazırlanan “İNDİREKTİMMÜNİFLORESAN YÖNTEMİ İLE ÇALIŞILAN

ANTİNÜKLEERANTİKOR SONUÇLARININ

RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ” adlı tez çalışması

jürimiz tarafından MİKROBİYOLOJİ Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi

olarak oy çokluğuyla kabul edilmiştir. 6/12/2022

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Fatma AVCIOĞLU
Üniversitesi

.....

Üye
Unvanı Adı SOYADI
Üniversitesi

.....

Üye
Unvanı Adı SOYADI
Üniversitesi

.....

Üye
Unvanı Adı SOYADI
Üniversitesi

.....

Üye
Unvanı Adı SOYADI
Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 07/11/2022 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 14 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışma için 2021/223 Araştırmalar Etik Kurulundan 314 sayısı ile etik izin alınmıştır. (Eğer varsa yazınız, yoksa siliniz)

BAHAR ÖZDEMİR

ÖZET

İNDİREKTİMMÜNİFLORESAN YÖNTEMİ İLE ÇALIŞILAN ANTİNÜKLEERANTİKOR SONUÇLARININ RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHAR ÖZDEMİR
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. FATMA AVCIOĞLU)

BOLU, KASIM - 2022
XIII +62

2018-2021 yılları arasında Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarı'na gelen hasta serum örneklerinden ANA (Anti nükleer Antikor) testi istenen 8957 hastanın IIF (İndirekt İmmünfloresan) yöntemi ile çalışılan ANA sonuçları retrospektif olarak iki basamakta incelendi. Birinci basamakta tüm hastalar cinsiyet, yaş, poliklinik ve genel pozitif-negatif sonuçlarına, ikinci basamakta pozitif örnekler kendi arasında patern çeşitliliğine göre; cinsiyet, yaş, poliklinik açısından ayrıntılı olarak incelendi. Çalışmaya alınan 6050'si (%6,54) kadın, 2907'si (%32,46) erkek olmak üzere toplam 8957 hasta serumunun 2919'unda (%33) ANA pozitif, 6038'inin (% 67) ANA sonucu negatif olarak saptandı. En fazla ANA istenen hasta yaş grubu 35-49 yaş aralığında, en fazla ANA istemi ve en sık pozitiflik oranı da kadınlarda görüldü. Polikliniklere göre en fazla ANA istemi 2971 (%33,2) oranı ile İç Hastalıkları polikliniğinden olduğu saptandı. En fazla pozitiflik 1014 (%38,1) oranı ile Romatoloji kliniğinde görüldü. Paternler arasında 1245 (%13,9) oranı ile her iki cinsiyette, tüm yaş gruplarında ve tüm polikliniklerden gelen örneklerde benekli patern ilk sırada yer aldı. Bunu yoğun ince benekli patern, homojen patern ve sentromer patern izledi. Gereksiz ANA testi çalışılması sağlık hizmeti maliyetlerinde artışa sebep olduğu için bu gibi test istemlerinin daha çok klinik açıdan anlamlı bölümler tarafından yapılmasının gerektiği düşünüldü.

ANAHTAR KELİMELE: Antinükleer Antikor (ANA), İndirekt immünfloresan Yöntemi (IIF), patern, antikor, Otoimmün Hastalık (OİH).

ABSTRACT

RETROSPECTIVE EVALUTION OF THE RESULTS OF ANTINUCLEARANTIBODY WORKING WITH THE INDIRECTIMUMFLUORESCENT METHOD

MSC THESIS

BAHAR ÖZDEMİR

BOLU ABANT IZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF MICROBIYOLOGY

(SUPERVISOR: ASSOC PROF. DR. FATMA AVCIOĞLU)

November 2022

XIII+62

In this study, the ANA results of 8957 patients who were requested to have ANA (Anti-nuclear Antibody) test from the serum samples of the patients who came to Bolu Abant Izzet Baysal University Medical Faculty Hospital Microbiology Department Laboratory between 2018-2021 were retrospectively analyzed by IIF (Indirect Immunofluorescence method) analyzed in two steps. In the first step , all patients were evaluated by gender, age, outpatient clinic and general positive-negative results and in the second step, only positive samples among themselves according to the pattern diversity;were examined in detail in terms of gender, age, and outpatient clinic. A total of 8957 patients, 6050 (67,54%) female and 2907 (32,46%) male, were found to have ANA positive in 2919 (33%) and negative ANA results in 6038 (67%) patients. In general, the patient age group with the highest number of ANA requests was found to be 35-49 ages and the most frequent positivity was seen in women. In general, it was determined that the highest number of ANA requests were from the Internal Diseases outpatient clinic with a rate of 2971 (33,2%) compared to outpatient clinics. In the distribution of positivity rates according to clinics, the highest rate of positivity was seen in the Rheumatology clinic with a rate of 1014 (38,1%). Among the patterns, the spotted pattern ranked first with a rate of 1245 (13,9%) in both sexes, all age groups and samples from all outpatient clinics. This was followed by dense fine mottled patterns, homogeneous pattern and the centromere pattern. Unnecessary ANA testing led to increase in healthcare costs and it is thought such these testing procedures should mostly be done by clinically relevant departments.

KEYWORDS: Antinuclear Antibody (ANA), Indirect Immunofluorescence Method (IIF), pattern, antibody, Autoimmune Disease (AID),

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 İmmünoloji Tarihçe	3
2.2 İmmünsistem ve Otoimmünite	5
2.3 İmmünolojik Tolerans	5
2.4 Otoimmün Mekanizmalar	5
2.5 Otoimmünite Oluşumunu Sağlayan Etkenler	7
2.5.1 Genetik Etkenler	8
2.5.2 Hormonal Etkenler	8
2.5.3 Çevresel Etkenler.....	9
2.5.4 İmmünolojik Etkenler.....	9
2.5.5 Enfeksiyon etkenleri	10
2.6 Otoimmün Hastalıklar (OİH).....	10
2.7 Sistemik Otoimmün Hastalıklar	12
2.7.1 Romatoid Artrit (RA)	12
2.7.2 Sistemik Lupus Eritematosus (SLE)	13
2.7.3 Skloroderma	14
2.7.4 Sjögren Sendromu (SS)	15
2.7.5 Polimiyozitis – Dermatomyozitis	15
2.8 Organ Spesifik Otoimmün Hastalıklar	16
2.9 Otoantikorlar.....	16
2.9.1 ANA (Antinükleer Antikor)	17
2.9.1.1 ANA SUBTİPLERİ	18
2.9.1.2 ANA KOMPONENTLERİ.....	18
2.10 Tanı Yöntemleri.....	22
2.10.1 İndirekt İmmünfloresan Yöntemi (IIF)	22
2.10.2 ELİSA (Enzyme Linked İmmünosorbent Assay) Testi	23
2.10.3 RIA (Radioimmünoassay) Yöntemi.....	24
2.10.4 İmmünodifüzyon (ID) Testi	24
2.10.5 İmmünoblot (IB) Testi	25

3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1 IIF Testi	26
4. BULGULAR	36
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
7. KAYNAKLAR.....	61



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. İnterfaz evresinde HEP-2 ve karaciğer hücrelerindeki nükleuslarda görülen boyanma türlerine örnekler.....	28
Şekil 2.2. Homojen patern	29
Şekil 2.3. Yoğun ince benekli patern	29
Şekil 2.4. Sentromer patern.....	29
Şekil 2.5. Nükleolar noktalı patern	29
Şekil 2.6. Benekli patern	29
Şekil 3.1. Euroimmun marka IIF için kit içeriği	36
Şekil 3.2. PBS Tween-20 karışımı hazırlanması aşama 1.....	36
Şekil 3.3. Aşama 2.....	36
Şekil 3.4. Aşama 3.....	36
Şekil 3.5. Aşama 4.....	36
Şekil 3.6. Pipetaj ve vortex uygulaması aşama 1	37
Şekil 3.7. Aşama 2.....	37
Şekil 3.8. Aşama 3.....	37
Şekil 3.9. Aşama 4.....	37
Şekil 3.10. Aşama 5.....	37
Şekil 3.11. Aşama 6.....	37
Şekil 3.12. Boş tray köpüğü.....	38
Şekil 3.13. Dilüe edilmiş örneğin trayin üzerine pipetlenmesi.....	38
Şekil 3.14. Aşama 2.....	38
Şekil 3.15. Trayin üzerindeki kuyucuklara dilüe örneğin pipetlemiş hali.....	39

Şekil 3.16. (Hepar primat) karaciğer hücreleri ve Hep-2 hücreleri içeren doku kaplı slayt.....	39
Şekil 3. 17. Tray üzerine slaytın kapatılması.....	39
Şekil 3.18. Slaytların traye kapatılmış hali.....	39
Şekil 3.19. Slaytların yıkama işlemi aşama 1.....	40
Şekil 3.20. Aşama 2.....	40
Şekil 3.21. Aşama 3.....	40
Şekil 3.22. Aşama 4.....	40
Şekil 3.23-24. Konjugat (IgG) ve konjugatın trayin üzerine damlatılmış hali...41	
Şekil 3.25-26. Konjugat (IgG) damlatılmış trayler üzerine slaytların kapatılması.....	41
Şekil 3.27-28. Boş tray köpüğüne gliserol damlatılması ve gliserol.....	42
Şekil 3.31-32. Monitöre bağlı floresan mikroskopu ve bilgisayar	42
Şekil.4.1. Toplam muayene olan kişi sayısı.....	44
Şekil.4.2. Toplam negatif-pozitif hasta sayısı.....	44
Şekil 4.3. Kliniklere göre toplam hasta sayısı, pozitif hasta sayısı ve yüzdesi...48	
Şekil 4.4. Genel örneklerin pozitif-negatif sonuçları ve patern dağılımı.....	49

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1. IIF yöntemi ile çalışılan ANA sonuçlarının cinsiyet, yaş grubu ve polikliniklere göre dağılımı.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	5
Tablo 4.2. Hastaların yaş aralıklarına göre dağılımı.....		46
Tablo 4.3. ANA testi çalışılan hastaların cinsiyete göre yaş aralıkları.....		46
Tablo 4.4. Kliniklere göre pozitif hasta sayısı ve yüzdeleri		47
Tablo 4.5. Pozitif saptanan paternlerin toplam sayıları ve yüzdelik oranları.....		49
Tablo 4.6. IIF yöntemi ile çalışılan ANA sonuçlarının paternlerine göre dağılımı.....		51

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

ANA	: Antinükleer Antikor
OİH	: Otoimmün Hastalık
LE	: Lupus Eritematozus Hücreleri
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
MCTD	: Karışık Bağ Doku Hastalıkları
RF	: Romatoid Faktör
VDRL	: Venereal Disease Research Laboratory
RNAP	: RNA Polimeraz I kompleksi
HnRNP	: Heterojen nükleer ribonükleoproteinler
LEDGF	: Lens epitelyum kaynaklı büyüme faktörüne
RNAP	: RNA Polimeraz I kompleksi
FITC	: Fluorescein isothiocyanate
KLIMUD	: Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği
IIF	: İndirekt immün flöresan
HEp-2	: Human epitelyal-2
HLA	: Human lökosit antijen
DFS-70	: Yoğun ince granüllü
CREST	: Kalsinozis, Raynaud fenomeni, özefagial dismotilite, sklerodaktili talenjiyektazi
SjS	: Sjögren Sendromu
Scl-70	: Skloroderma
SS	: Sistemik Skleroz
IDDM	: İnsüline Bağlı Diabetes Mellitus
MS	: Multipl skleroz
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences

TEŞEKKÜR

Tez sürecim boyunca, beni her zaman destekleyen, yüreklendiren, daima yol gösteren, azim ve sabırla bana hep inanan, bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, mesleki açıdan ve öğrencilik hayatımda bana çok şey katan değerli tez danışmanım Doç. Dr. Fatma Avcıoğlu'na, çalışma hayatım ve tez sürecimde her zaman yol gösteren bana destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Muhammed Güzel Kurtoğlu'na, beni her zaman dinleyip tavsiyeleriyle yol gösteren bilgi ve deneyimini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Mustafa Behçet'e, tez sürecim boyunca yardım ve desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Oya Kalaycıoğlu'na, hem tez süresince hem çalışma hayatımda her zaman akıl danıştığım Uzm. Dr. Yusuf Afşar'a, bilgi ve deneyimini esirgemeyen Dr. Öğretim üyesi Kerem Yaman'a, yardımlarını esirgemeyen doktora öğrencimiz Öğretim Görevlisi Mücahit Çakmak'a, tez sürecimde yardım ve desteğini esirgemeyen daima yol gösteren arkadaşım Dr. Cansu Kara Öztabağ'a, teşekkürlerimi sunarım. Tez sürecim boyunca gece gündüz demeden birbirimize destek olduğumuz, motivasyon kaynağım olan, bana yol arkadaşlığı yapan, çalışma ve öğrencilik hayatımda arkadaşım olan Zehra Varış Karakaş'a, çalışma hayatımda ve tez sürecim boyunca yardım ve desteğini esirgemeyen arkadaşım Benan Özçelik'e, uzun yıllardır gerek çalışma hayatında gerekse özel hayatımda desteklerini esirgemeyen en zor zamanlarımda yanımda olan çok kıymetli arkadaşlarım Bahattin Durmaz'a ve Seda Öztürk'e, mesleki bilgi ve deneyimini esirgemeyen Seyitali Öztürk'e, tez sürecim boyunca yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşım Arzu Akbaba'ya, birlikte çalışmaktan her zaman kıvanç ve mutluluk duyduğum asistan doktor arkadaşlarıma, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çalışan arkadaşlarıma ve tüm personelimize, destekleri için teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmam boyunca desteklerini benden esirgemeyen annem Hatice Öztürk'e, eşim Mustafa Özdemir'e, kardeşim Aslı Öztürk'e ve kızlarım Gözdenur ve İpek Ece Özdemir'e değerli vakitlerinden aldığım için ve bana hep inandıkları için teşekkürlerimi sunarım. Son olarak bana hep inandığı ve beni hep desteklediği için ve hep yanımda hissettiğim dedem merhum Durmuş Özkan'a teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

İmmün sistem, organizmaya zarar verebilecek dış etkenlere karşı organizmayı korurken aynı zamanda organizmanın görevlerini standart olarak devam etmesini sağlamaktadır. Fakat, immün mekanizmaların canlının kendi organ ve dokularına yönelik tepkimeler oluşturduğu durumlar gelişebilir. Bunun sonucunda organizmada doku zedelenmesi veya fizyolojik fonksiyon bozukluğu meydana gelebilir. Kendi antijenlerine yönelik, organizmanın bu şekilde immün tepkimeler oluşturması durumuna otoimmünite denir. Bu durum neticesinde meydana gelen hastalıklara ise otoimmün hastalıklar (OİH) adı verilir. OİH'lara Romatoid artrit (RA), Sistemik lupus Eritematosus (SLE), İnsüline Bağlı Diabetes Mellitus (IDDM), Multipl Skleroz (MS) ve Skloroderma, gibi hastalıklar örnek olarak verilebilir. Çoğu OİH'ta hasta serumlarında hücre/doku unsurlarına yönelik antikorlar belirlenmektedir. Bu antikorlara, otoantikor adı verilir Anti-nükleer antikorların (ANA) varlığının saptanması, sistemik dolaşımında çoğu OİH'in tanısının koyulması açısından son derece önemlidir (1–4).

ANA; hücre çekirdeğinin yapısında bulunan değişik proteinlere (DNA, histon ve sentromer) yönelik oluşan otoantikorlardır. Genellikle cilt bulguları ve kas iskelet sistemi yakınmaları gibi şikâyetleri olan hastalarda ANA, OİH saptanmasında sıkça kullanılan bir laboratuvar testidir. IIF yöntemi ile gerçekleştirilen ANA taraması OİH'ların tanısında önemli bir basamaktır. HEp-2 hücrelerinden yararlanılarak uygulanan İndirekt İmmüno Floresan (IIF) testi, ANA varlığının tespit edilmesinde altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir. Sağlıklı kişilerde, hastalık belirtisi olmasa bile ANA testi pozitif olarak sonuçlanabilir. ANA, enfeksiyon hastalıkları ve malign hastalıklar gibi durumlarda da pozitif olarak saptanabilir. ANA tanısında dikkat edilmesi önemli olan diğer bir husus, floresan boyanma paternleridir. Benekli (granüler, *speckled*), homojen, nükleolar, sentromer, nükleer membran ve sitoplazmik patern gibi farklı boyanma paternleri ANA sonucuna mutlaka rapor edilmelidir (2,5–7). IIF testi bir tarama testi olarak kullanılmaktadır, ayrıca antijen tipinin saptanabilmesi ve IIF testinin doğrulamasının yapılması amacı ile algoritmik olarak bazı testler önerilmektedir. ANA tespitinde yaygın olarak kullanılan diğer yöntemlere göre ekonomik ve kolay olması sebebi ile tercih edilen genel yöntem IIF yöntemidir. Ancak, değerlendiren bireye göre sonuçların değişkenlik gösterebilmesi, IIF

yönteminin zahmetli ve zaman alıcı olması gibi dezavantajları da bulunmaktadır. IIF yöntemi ile ANA saptanabilmesinde, HEp-2 hücrelerinde meydana gelen boyanma paternlerinin değerlendirilmesi, ve isimlendirilmesi bakımından ICAP (international consensus on ANA patterns) uluslararası konsensüsü kurulmuş olup bu konsensüsün vermiş olduğu bilgiler neticesinde değerlendirmeler yapılmaktadır (5,8,9).

Bu çalışmanın amacı, iki yıllık süre zarfında Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na OİH şüphesi ile gelen hasta örneklerinde, IIF yöntemi ile çalışılan ANA sonuçlarının cinsiyet, sonuç, yaş, klinik ve pozitif saptanan hastalarda patern çeşitliliği açısından değerlendirmektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 İmmünoloji Tarihçe

Vücudumuzu çevremizde bulunan farklı mikroorganizmalara karşı dirençli kılan sisteme **immün sistem** denir. İmmünoloji bilim dalı immün sistemin yapı ve işlevini inceler. İmmünoloji terimi **immünitas** kelimesinden gelmektedir. immünitas terimi tarihte eski Roma’da vergiden ve askerlikten serbest olanlar için kullanılmaktaydı. Bugün ise mikroorganizmalara karşı veya vücutta hastalık yapabilen maddelere karşı gelişen dirençlilik durumunu ifade eder (4).

Çinliler çok eski zamanlarda çiçek hastalığını geçiren kişilerin tekrar bu hastalığa yakalanmadıklarını yani çiçek hastalığına karşı bağışıklıklarının olduklarını görmüşlerdir. Bu hastalıkta ilk bağışıklama yöntemi Türkiye’de uygulanmıştır. Çiçek aşısı, **1718** tarihinde İngiliz elçisinin eşi **Mary Wortley Montagu** tarafından çocuklarda kullanılmaya başlanmıştır. Olumlu sonuçların elde edildiğinin İngiltere’ye bildirilmesinden sonra orada da yaygın bir şekilde uygulanmaya başlanmıştır. Bir İngiliz doktoru olan **Edward Jenner 1796** yılında insan çiçek hastalığına karşı sığır çiçeği ile aşılanmanın önemini belirtmiştir. Bu aşılanmanın yaygın olarak uygulanması sonucu İngiltere’de çiçek hastalığının görülmesi büyük ölçüde azalmıştır. Jenner’in bu aşılama yöntemi “**çiçek aşısı**” (**variolation**) olarak kabul edilmiş ve bu olay immünoloji biliminin miladı olmuştur (4).

Paul Ehrlich immünolojinin ilk bilim adamlarından biri olarak kabul edilir. Ehrlich 1901’de ilk defa, immün sistemin kendi hücre ve yapılarına yönelik tepki geliştirdiğini kanıtlamıştır. Gerçekleşen bu hadise için horror autotoxicus ifadesini kullanmıştır (10,11).

Ehrlich’ten üç yıl aradan sonra Donath ve Landsteiner bilim adamları 1904’te sifiliz hastalarında sık rastlanılan ve hemoglobüri krizinde görevli olan bir antikorun açıklamışlardır. Yapmış oldukları çalışmanın neticesinde bu antikoru açıklanması, patolojik şartlarda kişinin kendi hücresel unsurlarına yönelik toksik etki oluşturmaları ve kendi yapısal komponentlerine yönelik antikor meydana gelmesi açısından önemlidir (10–12).

Paul Ehrlich 1900' lerde bu konsepti "ototoksikoz korkusu" olarak isimlendirmiştir. Bununla ilgili klinik ve deneysel kanıtlar 1950'lerde birikmiş ve 1960'larda Sistemik Lupus Eritematozus (SLE), Multipl Sklerosis (MS) gibi birçok ciddi otoimmün hastalığın (OİH) otoimmüniteden kaynaklandığı kabul edilmiştir. O günden beri otoimmünitenin nadir görülmediği ve otoimmünitenin hastalık olmadığı açıkça görülmüştür. Her sağlıklı kişi aslında sınırlı düzeyde otoimmündür ve anti-self antikorların tüm kişilerde düşük düzeyde de olsa bulunabileceği görülmüştür (3).

OİH'ların sadece kişinin kendi dokusuna hasar verdiğinde veya normal fonksiyonları bozulduğunda ortaya çıkabilmektedir. Bugün çok geniş insidansta ve fenotipte yaklaşık 100 farklı OİH vardır (3,12).

1921 yılında Calmette ve Guérin 15 yıl süren çalışmaları sonucunda BCG aşısını bulmuşlar ve bunu dünyaya duyurmuşlardır. Anne ile baba arasında ki kan uyuşmazlığına sebebiyet veren Rh antikorları ise 1941 yılında tespit edilmiştir(10–12).

Haşimoto 1965 yılında insanda tirotoksikoz olgularında tiroglobuline yönelik hasta serumunda antikor cevabını göstermiştir. Coons tarafından 1942 yılında geliştirilmiş olan floresan antikor tekniğinin uygulama alanında kullanılmış olması birçok otoimmün hastalığın tanınmasına olanak sağlamıştır (13).

İlk kez 1948'de Hargrave, Richmond ve Morton tarafından Sistemik Lupus Eritematozus hastalarının, kemik iliği incelemelerinde lupus eritematozus (LE) hücreleri saptanmıştır. Bu hücreler antinükleer antikorlar (ANA) tarafından opsonize olmuş nükleusu ifade eder. Anti-nükleer antikor araştırmaları 1950'lerden sonra hız kazanmıştır. ANA terimi 1954'den itibaren kullanılmaya başlanmıştır. 1957'de ANA tanısında IIF yöntemi kullanılmaya başlanmış ve SLE tanısında (LE) hücre testine nazaran duyarlılığı daha güçlü saptanmıştır (14,15).

İmmünoglobulin G'nin yapısı 1969 yılında belirlenmiştir ve monoklonal antikorlara ilişkin yöntemler de 1975 yılında geliştirilmeye başlanmıştır (11,12)

2.2 İmmünsistem ve Otoimmünite

İmmünite, özellikle enfeksiyon hastalıklarına karşı direnç olarak ifade edilir. İmmün sistem enfeksiyonlara karşı savunmayı gerçekleştiren hücreler, moleküller ve dokuların toplamıdır. Bu hücre, doku ve moleküllerin enfeksiyona neden olan mikroorganizmalara yönelik düzenli bir şekilde vermiş oldukları reaksiyona ise immün yanıt (immün cevap) denir (7,16).

İmmünoloji “antijen” (immünojen) niteliğindeki maddeleri ayırt edebilecek organizmaların, bu maddelere yönelik gerçekleştirdikleri tepkimeler ile ilgilenen bilim dalıdır. İmmünoloji bilim dalı bağışıklığın nasıl meydana geldiğini biyolojik ve klinik sonuçları ile birlikte ele almaktadır. İmmünolojinin fizyolojik işlevi oluşacak enfeksiyonları engellemek ve yerleşmiş enfeksiyonları da yok etmektir (11,16–19). İmmün sistemin asıl amacı ise organizmanın işlevlerini yerine getirebilmesini sağlamak ve organizmayı zararlı dış etkenlerden korumaktır. İmmün mekanizmalar canlının kendi organ ve dokularına karşı reaksiyon geliştirebilir ve böylece kişide doku zedelenmesine sebebiyet verebilir. Bu durum neticesinde ortaya çıkan olaya otoimmünite ve meydana gelen hastalıklara da OİH denir (3,4,13).

2.3 İmmünojenik Tolerans

İmmünojenik tolerans; birçok mikroorganizmaya karşı yanıt veren immün sistemin kendi antijenlerine bir takım mekanizmalar aracılığı ile yanıtızsız kalması durumudur (14,20). İmmün sistem lenfositlerin gelişme sürecinde primer lenfoid organlarda kendi antijenlerini yabancı antijenlerden ayırt etme özelliği edinir. Kendine ait olan yapılara yönelik immune cevap geliştirmez ve bu duruma da self tolerans (immün tolerans) denir (21,22). Toleransa sebep olan antijenlere ‘tolerojenler’, immün yanıtı sebep olan antijenlere de ‘immünojenler’ denir. Bütün öz antijenler normal koşullarda tolerojendirler (7,23).

2.4 Otoimmün Mekanizmalar

İmmün sistemin organizmanın kendi doku ve yapılarına karşı cevapsız kalması immünolojik tolerans mekanizmaları ile ortaya çıkmaktadır. Otoimmünite ise immün sistemin bu görevini yerine getirememesine sebep olmaktadır. İmmünopatolojik mekanizmalar otoimmün reaksiyonlardan sorumludur ve üç ana başlık altında toplanmıştır (10).

a) Tip II Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları:

Bu tip reaksiyonlarda ana mekanizma; eritrosit, lökosit, trombosit gibi kan hücrelerinin ve dokuların yüzeylerinde bulunan antijenlere karşı humoral immün sistem tarafından oluşturulan antikorların kompleman sistemi aktive etmesi ve sitotoksik yanıtı ortaya çıkararak dokunun zarar görmesi olayıdır. Bu mekanizma ile nötropeni, lenfopeni, trombopeni ve hemolitik anemi gibi OİH'ların ortaya çıktığı bilinmektedir (11,23).

b) Tip III Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları:

Bir antikor spesifik antijeniyle bir araya geldiğinde immün kompleksler oluşmaktadır. Bir çok immün yanıt esnasında antijen-antikor kompleksleri ortaya çıkabilir. Dolaşımda bulunan bu immün kompleksler genelde mononükleer sistem tarafından ortadan kaldırılırsa bazı durumlarda damar duvarlarında birikebilir. Bu tip durumlarda immün komplekslerin böbrek, eklem vb. organlarda birikimi söz konusudur. Damar duvarlarında oluşan birikim kompleman sistemi aktive etmektedir. Normalde kompleman sistem PMNL'yi aktive etmektedir. PML, immün kompleksi fagosite ederek ortadan kaldırmakla görevlidir. Ancak patolojik hallerde görevini yerine getirememekte ve dışarıya lizozomal enzimler salgılamaktadır. Bu enzimlerin kanda nötralizasyonu gerçekleşebilir fakat bu durum dokular için geçerli değildir. Lizozomal enzimler aracılığı ile dokular zarar görmektedir. RA ve SLE gibi hastalıklar bu mekanizma ile meydana gelen OİH'lar arasındadır (4,10,13,24).

c) Tip IV Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları:

Duyarlı T lenfositleri aracılığı ile oluşan hücresel immün yanıt türüdür. İmmün sistem hücrelerinin lezyonun ve lenfokinlerin olduğu bölgeye gelerek etki etmesi ile doku hasarı meydana geldiği düşünülmektedir (10,13,24). T helper hücreleri hem humoral, hem de hücresel immün cevapta kontrol görevi görmektedir. Bununla ilgili tolerans bozukluklarının otoimmünite ile neticelenme olasılığı oldukça yüksektir. OİH'ların meydana gelmesini tek bir sistem ile açıklamanın mümkün olmayacağı önemle vurgulanmaktadır. Bu süreçten sorumlu olduğu düşünülen birkaç farklı mekanizma tanımlanmıştır (10,13,24).

Daha önce immün sistemle karşılaşmamış olan saklı antijenler travma gibi herhangi bir etken neticesinde dolaşıma karıştıkları zaman immün yanıtı sebebiyet verebilirler. Örneğin; sempatetik oftalmi adlı hastalık gözün zarar görüp zedelenmesi sonucunda gözün içinde bulunan uvea antijenlerinin dolaşıma karışması ile ortaya çıkmaktadır.

- a) Organizmanın normalde immün yanıt geliştirmede kendisine ait gördüğü yapılar biyolojik, fiziksel ve kimyasal değişikliğe uğradıklarında immün sisteme yabancı olmakta ve immün yanıtı yol açmaktadırlar.
- b) Vücudun kendisine ait olan bir yapı ile yabancı bir antijen çapraz tepkime gerçekleştirebilir. Örneğin; kalp kası ve streptokoklardaki M proteiniyle arasında bulunan çapraz tepkime neticesinde miyokardit meydana gelmektedir.
- c) Th hücrelerinin Ts hücreleriyle baskılanması neticesinde B lenfositlerinin aktivasyonunun gerçekleşmesi engellenmektedir. Ts hücrelerinde yapısal bir bozukluk oluşması, Th hücrelerinin devamlı olarak otoreaktif B lenfositlerini aktive etmesine sebebiyet vermemektedir. Otoantikor sentezi bu durum neticesinde oluşmaktadır (10,13,24).

2.5 Otoimmünite Oluşumunu Sağlayan Etkenler

OİH'ların meydana gelmesine, genetik, stres, çevre, hormonlar ve immünolojik etkenler gibi değişkenler sebep olabilir (16). Fibromiyalji Sendrom'lu, RA'lı, SLE'li, ve Juvenil Kronik Artrit'li hastaların %80'ninin, bu OİH'ların meydana gelmesinden evvel duygusal stres altında oldukları ileri sürülmüştür (7,25).

2.5.1 Genetik Etkenler

Genetik etkenler, OİH'ların oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Ayrıca genetik faktörler otoimmün hastalıkların sıklık durumunu ve tipini etkilemektedir (5,11,21).

1. OİH'lar bazı ailelerde genetik olarak daha sık ortaya çıkmaktadır. Aynı aileden olan kişilerde, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, atrofik gastrit ve otoimmün tiroidit gibi hastalıklar ortaya çıkabilmektedir (5,11).

2. Birçok OİH, kompleks multigenli rahatsızlıklar sonucunda oluşmaktadır. Otoimmünitenin genetik komponente sahip olduğu uzun yıllardır bilinmektedir. Birçok OİH'ın insidansı, etkilenmiş ikizlerde genel popülasyondan daha büyük ölçüdedir. Otoimmünite ile ilişkili olan genler arasında en önemli katkı HLA genlerine ait olmaktadır. HLA-B27'nin ankilozan spondilit hastalarında ki varlığı buna örnek olarak verilebilir (3). Artmış immün yanıtın dolayı OİH'larda yapılan genetik çalışmalar ilk olarak lökosit antijenleri (HLA) üzerinde gerçekleştirilmiştir. HLA çeşitlerinin bazıları otoimmüniteye yatkınlığı artırırlar. Romatoid artrit HLA DR4 geni taşıyanlarda sık görülmektedir. Ankilozan Spondilit HLA-B27 geni taşıyanlarda 100 kat daha fazla görülmektedir. Aynı zamanda organa spesifiteyi de bu genler kontrol etmektedirler. Bu sebeple Hashimoto Tiroiditi bulunan hastaların ailelerinde tiroid otoantikorları, pernisiyöz anemisi bulunanların ailelerinde de gastrik otoantikorlar, saptanabilmektedir. Ancak bu genleri taşıyan kişilerde OİH oluşumu multifaktöriyel olduğu için mutlaka bir OİH meydana gelecek demek değildir. HLA ilişkili olan genetik çalışmalardan sonra HLA dışı genlerde de araştırmalar olmuş ve bazı HLA dışı genlerin de otoimmünite oluşumunda etkisi olabileceği görülmüştür (20).

2.5.2 Hormonal Etkenler

OİH duyarlılıklarında hormonal etkenler arasında X-kromozomu anomalileri benzeri etkenler, ayrıca östrojen, androjen gibi cinsiyet hormonları önemli etkendirler (21). Otoimmünite farmakolojik, hormonal ve fizyolojik

faktörlerin tesiri altında kalmaktadır. Kadınların yaşamları boyunca üreme çağında otoimmüniteyle sık sık karşılaştıkları görülmüştür. Hashimoto's Tiroiditi, SjS, RA, SLE ve MS ve çoğunlukla kadınlarda daha sık görülmektedir. Cinsiyetler arasındaki görülme farklılığı büyük oranda östrojen hormonu ile ilgilidir (20).

2.5.3 Çevresel Etkenler

Genetik yatkınlığın yanında birde çevresel etkenler otoimmünite oluşumunu etkilemektedir. Çevresel etkenlerin içerisinde, enfeksiyon ajanları, sigara, yaşam tarzı, vitamin D alınması, diyet, hormonal etkiler, güneş ışınlarına maruz kalma durumları, psikolojik stres, saç boyaları, ilaçlar ve mesleki açıdan maruz kalınan durumlar yer almaktadır (7). Mobilya yapımında kullanılan spreylere boyalar, kozmetik ürünleri ve parfümeri ürünleride OİH'ların oluşumunu tetiklemektedir. Ayrıca bir OİH olan SLE, UV radyasyonuna maruz kalmak ve UV-β ışınları ile ilişkili bir hastalıktır (21). RA'lı hastalarına Beslenme şeklinde ise uzun zincirli yüksek oranda çoklu doymamış yağlardan olan omega-3 yağlarını içeren balık yağları iyi büyük oranda gelmektedir. Güneş ışınları SLE'de deri lezyonlarını oluşumunu tetiklemektedir (20).

İnfeksiyöz organizmaların bulunduğu çevrelerin ve çeşitli kimyasal maddelerin yapılan çalışmalarda OİH'ların meydana gelmesi ile bağlantılı olduğu görülmüştür. Farmasötik ve kimyasal etkenlere maruz kalma sıklığı ile sistemik OİH'ların belirtileri ilişkilidir (21).

2.5.4 İmmünolojik Etkenler

İmmün yanıtta self yapılara karşı gelişen T hücre toleransı önemlidir. Th hücre toleransı antijen moleküllerinin yapısında oluşan değişiklikler tarafından ortadan kaldırılabilir. T hücre toleransının kaybolması neticesinde otoimmün hastalıklar meydana gelir. Ayrıca otoimmün hastalıkların oluşmasını virüs veya bakteriyel enfeksiyonlarda kolaylaştırabilir. Otoimmün yanıtın baskılanmasında Ts hücreleri önemli görevdedir. Ts hücreleri Th hücrelerini baskılayarak poliklonal B hücrelerinin aktivasyonunu engellemiş olmaktadır. Otoreaktif etkili

B lenfositlerinin kontrolsüz üreyerek otoantikor gelişmesi sonucu Ts hücrelerinin fonksiyonlarını bozulabilir (4,13).

İmmün sistemden uzak kalmış organlarda bulunan antijenik mekanizmalar bir travma neticesinde dolaşıma karışıp merkezi sinir sistemi tarafından otoimmün tepkimeler oluşmaya başlayabilir (4,13).

2.5.5 Enfeksiyon etkenleri

Enfeksiyonların OİH oluşumunda iki taraflı etkisi bulunur. OİH'ların oluşumunu tetikleyebileceği gibi, son dönemde artan verilerde bazı enfeksiyonlarında otoimmünitenin gelişimini önlediği düşünülmektedir. Mantarlardan, virüslerden, parazit ve bakterilerden kaynaklanan enfeksiyonlar otoimmüniteye sebep vermektedir. Otoreaktif lenfositleri enfeksiyon etkenlerinin uyarması açısından sistem önemlidir.

a) Enfeksiyon etkenleri ile doku antijenleri arasında gerçekleşen çapraz tepkimelerde immünolojik toleransın kırılması otoimmün yanıtı sebep olmaktadır.

b) Mikrobiyal ajanların kolaylaştırıcı etkisiyle, B lenfositler uyarılır. Kronik enfeksiyonlarda T helper (Th) hücreleri IFN γ salgılar. IFN γ salgısı MHCII antijeninin uyarılmasına ve hücre yüzeyindeki otoantijenlerin Th hücresine sunulmasına neden olur. Bu da otoimmün yanıtı yol açar. Kronik enfeksiyonlardan özellikle; tüberküloz, lepra, sıtma, trypanosomiyazis ve virus enfeksiyonu gibi durumlarda otoimmün yanıtın meydana gelişi bu işleyişle açıklanabilir (20,26,27).

Özgün olmayan poliklonal B hücre aktivasyonunu Epstein-Barr virusu gibi mikroorganizmalar etkinleştirmektedir. Bazı HLA antijenleri ve bazı mikroorganizmalara ait olan antijenler moleküler açıdan benzeyebilmekte ve otoimmün hastalıklara sebep olmaktadır. İnfeksiyon etkeninin. T hücreleri ile ortak antijen taşıması, bu hücrelerin anerjik olmasına sebep olmakta ve bu durum otoimmün olayları başlamasına sebep olmaktadır (4,10).

2.6 Otoimmün Hastalıklar (OİH)

Otoimmünite organizmanın kendi antijenlerine karşı immün reaksiyonlar oluşturması ayrıca kendi hücre ve dokularına saldırmasıdır. Bu olay sonucunda

oluşan hastalıklar da otoimmün hastalıklardır (5). Normal durumlarda canlılar kendi antijenlerine karşı bağışık yanıt meydana getirmezler. Bazı nedenlerle kendi antijenlerinde meydana gelen değişiklikler neticesinde bunlara karşı sıvısal ve hücrel bağışık cevap oluşur. Organizmanın bu kendi antijenlerine karşı immün reaksiyonlar meydana getirmesi otoimmünitedir, ortaya çıkan hastalıklara da OİH denir (5,13,17). OİH'ın meydana gelmesinde; genetik, hormonlar, immünolojik faktörler, stres ve çevre gibi birden çok değişken sebep olmaktadır (7). OİH farklı hastalıkların oluşturduğu insanın tüm organ ve sistemlerini ilgilendirir. OİH, sindirim, endokrin ve sinir sistemine, bağ dokularına, cilt dokularına, kan ve kan damarlarına ve gözlere etki etmektedir. Erkeklerle oranla kadınları otoimmün hastalıklar üç kat daha çok etkilemektedir. Kadınlarda bazı hastalıkların insidansı daha yüksek olmaktadır. 65 yaş üstü ve daha küçük kadınların ABD'de ölüm sebepleri içinde otoimmün hastalıklar ilk on sıradadır (1,21). Teşhis ve tedavide yetersiz kalınmasından dolayı bütün dünyada OİH ölümlerin önemli bir sebebi olmaktadır. Çünkü hastalık unsuru ortadan kaldırılamamakta ve tedavisi hemen hemen olanaksız bir hale gelmektedir. Patojeniteye sebebiyet veren immün sistemin baskılanmış olması tedavi şıklarından biridir. OİH'ın altında yatan mekanizmaları belirleyebilmede immünolojik tanı yöntemlerinin yetersiz kalmış olması bu hastalıkların görülmesindeki artış olmasını etkilemiştir (21). Otoimmünitenin patogenezi tam olarak bilinmemekle beraber, OİH'ın toplumda görülme sıklığı %5–7 kadardır ve kronik hastalıkların en önemli sebepleri arasındadır (2).

Otoantikör hastaların serum örneklerinde hücre elemanlarına veya dokulara karşı oluşan bir takım antikörlerdir (14). OİH'ın tanısında, prognozunda ve tedavisinde otoantikörlerin saptanması klinisyene son derece önemli bir yol göstericidir. Otoantikör testlerinden OİH'ın tanı, tedavi ve takibinde 50 yılı aşkın zamandır yararlanılmaktadır (28).

İmmün yanıt OİH'da tek bir organ veya dokuda sınırlı durumda ise bu hastalıklara **Organ Spesifik Otoimmün Hastalıklar** denir. Eğer birden çok organ tutulumu görülüyorsa bu gruptaki hastalıklara **Sistemik (Nonorgan Spesifik) Otoimmün Hastalıklar** denir (2). ANA'ların tespit edilmesi bu OİH'ların tanısında son derece önemlidir (3).

2.7 Sistemik Otoimmün Hastalıklar

Sistemik otoimmün hastalıklarda, organ ve dokularda çeşitli hedef antijenlere karşı yanıtlar oluşur ve hasarlar meydana gelir. Bu hasarlar genelde, romatolojik hastalıklar olarak karşımıza çıkmaktadır. En sık hasar gören organlar ise eklemler, kas dokusu, deri ve böbreklerdir (21).

Skleroderma, Sjögren Sendromu, RA, SLE, Dermatomyozit/Polidermamiyozitis ve Karışık Bağ Doku Hastalıkları (MCTD), organ spesifik olmayan veya digger adı ile sistemik otoimmün hastalıklardandır. Bu hastalık grubunda, vücudun birden çok organ veya dokularında otoimmün tepkimeler gelişebilmektedir. Hücre nükleusu ve/veya sitoplazmada ki yapılara yönelik hastalık esnasında otoantikörler oluşabilmektedir (4,10,14).

Sistemik otoimmün hastalıklarda elde edilen otoantikörler çoğunlukla hücre çekirdeğine yönelik olduğu için bazı kaynaklarda OİH'lar, ANA ilişkili romatizmal hastalıklar adında incelenmektedir (18). ANA sistemik otoimmün hastalıkların tanısında büyük önem taşımaktadır (4,10,11).

Sistemik Otoimmün Hastalıklar (13,24).

1. Romatoid Artrit
2. Sistemik Lupus Eritematozus
3. Skleroderma
4. Sjögren Sendromu
5. Polimiyozi-Dermatomyozit
6. Poliarteritis nodosa
7. Reiter sendromu

2.7.1 Romatoid Artrit (RA)

Kronik bir hastalık olan RA eklemler, deri, kaslar, akciğerler, kalp, kan damarları gibi organları tutar. Özellikle 20-40 yaşları arasında olan genç bayanlarda sık olarak görülmektedir. Ayrıca hemen hemen her yaş grubunda da rastlanabilmektedir. En önde gelen bulgular hastaların çoğunluğunda görülmekte olan, eklemlerin yapı ve işlevlerini bozan iltihabi değişiklikler (artrit) ve eklem kıkırdığının yıkımı olmaktadır (4,17). Sistemik otoimmün hastalıklardan olan RA,

eklemlerde simetrik kronik inflamasyonla birlikte seyreden ve aynı zamanda yaygın olarak görülen bu hastalığın etkisi, aile hayatı, sosyal ilişkiler ve iş hayatı gibi tüm yaşam alanlarında kendini gösterebilmektedir (21). RA'li hastalarda son yıllarda psikolojik durumun araştırıldığı çalışmalar artmıştır. RA hastalığında en sık araştırılan bozukluklar depresyon ve anksiyetedir. Uygulanan yöntemlerde farklı sonuçlar bulunmasına rağmen RA'li hastalarda depresyon prevalansı %5 ile %42 oranı kadardır (29). RA hastalığı karakteristik bir şekilde küçük eklemlerde başlamaktadır, sentripedal ve simetrik şekillerde de ilerlemektedir. Amerikan toplumunun %1-3'ünde RA görülmektedir. Ayrıca kadınlarda da erkeklere oranla 3 kat daha fazla görülmektedir. İkizlerde görülme sıklığının yüksek olması ve aynı ailede birden fazla kişide bu hastalığın görülmesi RA'e genetik bir yatkınlık olduğunu göstermektedir (13). Hastaların % 65-80'i HLA-DR 4 ve/veya DR1 histokompatibilite antijenlerini taşımaktadır. Hastalığı başlatan etkenin ise bir virüs (Epstein-Barr virüs?) veya başka bir bulaşıcı ajan olduğu inancı vardır. Bu şekilde bir dış etkenin aracılığı ile eklem zarlarında iltihap başladıktan sonra özellikle CD4+ T hücrelerinin, makrofajların ve nötrofillerin bölgeye gelmesi, çeşitli sitokinler ve adezyon moleküllerinin salınımı, B lenfositlerin aktivasyonu ve otoantikorların yapımı başlamaktadır. Bu hastalıkta IgG'ye karşı oluşan antikorlara Romatoid Faktör (RF) denir. Ve bu faktörler IgM sınıfına aittirler (4,13).

2.7.2 Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)

SLE, otoimmün ve immünolojik bozukluklarla beraber birçok organ ve sistemi tutan, kronik, sebebi bilinmeyen, yaygın damar ve bağ dokusu inflamasyonu ile karakterize olan bir bağ dokusu hastalığıdır (14). SLE OİH'lar içinde en tipik görülen hastalıktır. Hastalık en çok doğurganlık çağındaki kadınlarda görülmektedir. Hastalığın karakteristik bulguları görülmemektedir. Belirti ve bulguların içerisinde, seröz yüzeylerin iltihapları, böbrek tutulumu, deri döküntüleri, kan hücrelerinde azalmalar, damar iltihapları, eklem tutulumu ve merkezi sinir sistemi tutulumu gibi belirtiler yer almaktadır (4). SLE' ta hücrel ve humoral bağışıklık birlikte bozulmaktadır. Humoral yanıtın deregölünasyonu ile sonuçlanan selüler immünitinin birinci derecede etkilendiği düşünülmektedir. Antijen ve antikor kompleksleri çeşitli organlarda birikerek, SLE' ta ortaya çıkan

doku hasarında görevli inflamatuvar yanıtı stimüle etmektedir. SLE'ta, DNA, histonlar, nükleolar proteinler ve hücre çekirdeğinin diğer yapı taşlarına karşı otoantikorlar oluşur. Çift-iplikli DNA'ya karşı antikorlar SLE'un temel işaretidir. Ve çoğunlukla, 20-60 yaş aralığındaki kadınları görülmektedir. SLE, ANA prototipik bir OİH olmakla birlikte hastaların %95'inde ANA pozitifliği düşünülmektedir. SLE hastalığı için en özellikli ANA alt grubu olan dsDNA'nın tek başına veya ssDNA ile beraber saptanması, hipergamaglobulinemi, LE hücreleri, yalancı Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) pozitifliği ve deri biyopsilerinde immün kompleks birikimi görülmektedir. SLE kronik inflamatuvar bir hastalıktır ve çok sayıda otoantikor farklı klinik tablolarla karakterizedir (4,10,13).

Hastalığın gelişmesinde rolü olan çevresel etkenler arasında ilaçlar, ultraviyole ışınlar, hormonlar, infeksiyon ajanları ve gıdalar yer almaktadır. Ayrıca SLE hastalığı UV radyasyonuna maruz kalmakla beraber UV-β ışınları ile de ilişkilidir (11,21).

SLE tanısında klinik kriterlerinin yanında ANTİ dsDNA ve ANA pozitifliğine dayanılarak yapılmaktadır. SLE hastalığı ANA pozitifliğinin en sık görüldüğü hastalık olarak bilinmektedir. Ve %97-100'ünde ANA pozitif olarak saptanmaktadır. Ayrıca negatif olan ANA sonucu SLE hastalığını dışlamada çok önemlidir. Ayrıca SLE hastalığında önemli bir belirti olan yüzde kelebek şeklinde döküntü özelliği atralji ile karakteristik olarak görülmektedir (5,6,15,30,31).

2.7.3 Skloroderma

Sklorederma vücudun çeşitli bölgelerinde bağ dokusunun aşırı derecede artması sonucunda nadir görülen kronik bir OİH'dır. Ayrıca Romatizmal hastalıklar sınıfındandır (4,32). Sklerodermada ANA pozitifliği % 60-90 oranında görülmektedir. Hastalık daha çok 20-40 yaşları arasında olan kadınlarda erkeklere oranla 4-9 kat daha sık olarak görülmektedir. Sklerodermada immünolojik etkenlerle birlikte meydana gelen damar anomalilerinin etkili olduğu düşünülmektedir. Reynaud fenomeni olarak isimlendirilen el ve ayak parmaklarında ısı ve renk değişiklikleri ile parmak uçlarında yara ve şişlikler olarak ortaya çıkan erken belirtiler görülebilir. Sklerodermada genellikle eklem, kan damarları ve sindirim sisteminde tutulum olmaktadır, ayrıca kalp, akciğer ve

böbreklerde ortaya çıkmaktadır. En sık görülen tutulum deri dokusunda görülmektedir (4,11,21,33). İç organ tutulumu ile beraber görülen yaygın scleroderma, ölümle neticelenebilir. İlerleyen scleroderma hastalığında en çok görülen ölüm nedeni böbrek tutulumudur. Ayrıca eller ve yüzde oluşan skleroz yıllar geçtikten sonra CREST sendromuna dönebilmektedir. CREST sendromu'nun Sklerodermanın en iyi huylu formu olduğu bilinmektedir (4,10,11,13).

2.7.4 Sjögren Sendromu (SS)

Otoimmün inflamatuvar, bir hastalık olan SS egzokrin bezlerin lenfositik infiltrasyonu ile karakterize olan ve sebebi bilinmeyen bir hastalıktır. Hastalıkta ANA pozitifliği %70'in üzerinde olmaktadır. SS'nda en çok etkilenen organ salgı bezleridir (34). SS tükürük bezlerinin ve gözyaşı bezlerinin immün reaksiyonlar neticesinde zarar görmesi sonucu oluşan kronik OİH tipidir (4,28,33). Halsizlik, yaygın vücut ağrısı ve artralji gibi nonspesifik bulgularla ve ağız-göz kuruluğu gibi spesifik bulgularla da karakterize bir hastalıktır. SS hastalığının tek başına saptanması Primer Sjögren sendromu olarak ifade edilir. Bu hastalıkla beraber başka bir OİH'nin saptanması da Sekonder Sjögren sendromu olarak ifade edilir. Hastalık erkeklere göre kadınlarda (9/1) oranında daha sıklıkla görülmektedir (13,35). Hastalık genelde RA, Skleroderma ve SLE hastalıkları ile beraber ortaya çıkmaktadır. Hastalığın 40 yaş üstü olan bayanlarda ortaya çıkma olasılığı daha fazladır (1,36,37).

2.7.5 Polimiyozitis – Dermatomyozitis

Bu OİH grubunda çizgili kaslarda bazende deri dokularında iltihapla beraber seyreden zayıflık ve ağrılarla belirtili bir hastalık grubudur. Tutulumu özellikle B hücre infiltrasyonu ve kapiller damar duvarında CD4+T hücrelerinde görülür. Bu hastalık grubunun deri dejenerasyonu ile birlikte görülmesine Dermatomyozit denir. Kadınlarda daha sık görülen bir hastalık tipidir. Hastalık özellikle iki yaş aralığında görülmektedir. Çocuklarda ortalama 5–14 yaşları arasında ve orta yaş grubunda da 45-55 yaş aralığında görülür. Hastalığın yetişkinlerde tanı yaşı ortalama olarak 40'tır (4,10,11,32).

2.8 Organ Spesifik Otoimmün Hastalıklar

Bazı OİH'da tek bir doku veya organda hastalık belirtileri görülebilir. Bu gruptaki OİH'ın meydana geldiği doku ya da organa göre sınıflandırılmaktadır. Bu hastalıklar arasında, midede kronik otoimmün gastrit, tiroid bezinde hashimoto tiroiditi, eritrositlerde immün hemolitik anemi, kas ve sinirlerde myastenia gravis gibi hastalıklar yer almaktadır. Organ spesifik otoimmün hastalık grubunda, tek bir doku veya organ etkilendiği için diğer doku ve organlarda etkilenme olmamaktadır (4).

2.9 Otoantikörler

Çok sayıda OİH'ta hücre elemanlarına veya dokulara karşı hasta serumlarında antikörler tespit edilmiştir. Bu antikörlere otoantikörler denir (4,11). Otoantikörler organizmanın antijenik özellik gösteren yapılarına yönelik oluşan antikörlerdir, hücre yüzeyi, hücre nükleusuna ve sitoplazmik yapılara yönelik oluşabilmektedir. 1956'dan bu yana otoantikörler otoimmün hastalıkların tanısında büyük bir öneme sahiptirler. Bazı patolojik durumlar olduğunda, vücudumuzun farklı bölgelerinde bulunan yapılar, antijen özelliği gösterebilirler. Otoantikörler bir doku ya da organa özgül olabilir ve çeşitli dokular ile reaksiyona girebilirler. Otoantikörler DNA IgG gibi moleküllerle veya mitokondriler, hücre çekirdeği gibi organeller ile bağlanabilmektedirler. OİH'ların teşhisi, prognozu, aktivitesi ve tedavisinin takibinde otoantikörlerin tespit edilmesi hastayı tedavi edecek klinisyen adına büyük oranda yol gösterici olmaktadır. Otoantikörler doğal ve patojenik durumlarda ortaya çıkabilir. Fonksiyonel rolü tam olarak bilinmese de genellikle bu otoantikörler hastalığa özgü, patojenik ve daha sonra oluşabilecek hastalıklar için belirleyici rol üstlenebilirler (16). Hastalar için yanlış pozitif test sonuçları gereksiz kaygı ve tedaviye sebep olabilmektedir. Tek başına otoantikörlerin yokluğu teşhisi dışlamamaktadır ve otoantikör pozitifliği de tek başına tanı koymada yeterli değildir. Testin başarısı, özgüllük, duyarlılık ve olasılık oranları ile ilişkilidir. Bu nedenle, testlerin yorumlanması doğru bir laboratuvar değerlendirmesi adına önemlidir. Bilim ve teknolojiye ilerlemelere

rağmen, romatolojik hastalıklarda iyi bir anamnez yapılması ve kapsamlı bir fizik muayene her zaman en iyi tanı yöntemi olmaktadır (4,7,10,11,28,38,39).

2.9.1 ANA (Antinükleer Antikor)

OİH'ların tanı, tedavi ve takibinde ANA testi büyük önem taşımaktadır. ANA romatizmal hastalıklardan şüphelenilen hallerde çalışılan rutin bir test olmuştur. Aynı zamanda ANA, hücre çekirdeğinde bulunan ve farklı antijenleri hedef alan geniş bir otoantikor grubudur. Genellikle kas iskelet sistemi şikâyetleri veya cilt bulguları görülen hastalarda OİH tespiti ve tanısı için sıklıkla kullanılan bir laboratuvar testidir (6,31).

1941'de Klemperer, Pollack ve Baehr ilk olarak sistemik lupus eritematozus'u (SLE) tanımladılar 1948'de Malcom Hargrave, Helen Richmond ve tıp asistanı Robert Morton, daha sonra SLE'li bir hastanın kemik iliğinde önceden bilinmeyen hücrelerin varlığını tespit ettiler. Bunu LE hücreleri olarak adlandırdılar. Ve onları başka bir lökositin serbest kalan nükleer materyalini fagosite eden olgun polimorfonükleer lökositler olarak tanımlamışlardır. Bu son derece önemli keşif, ANA araştırmalarının temelini atmıştır (40). Richmond, Morton ve Hargrave tarafından 1948' de ilk kez SLE hastalarında lupus eritematozus (LE) hücreleri saptanmıştır. 1950 yılında Coons ve Kaplan tarafından ANA ilk kez tanımlanmıştır ve IIF yöntemi ile tespit edilmiştir (2,11,14,41). 1960'ların başında ise antinükleer faktörlerin, antikor yapısında olduğu ve serumun (gama) globulin fraksiyonuna ait olduğu saptanmıştır. 1957'den itibaren ANA tespit edilmesinde IIF yöntemi kullanılmaktadır. SLE tanısında duyarlılığı %100'e yakın olmakla birlikte, hastalığa özgü antikorların sayısında artış olmasının erken teşhis ve tedavi için yararlı olmaktadır. Hastalık belirtisi görülmeyen sağlıklı bireylerde de ANA pozitif sonuçlanabilir. Ayrıca enfeksiyon hastalıkları ve malign hastalıklar da pozitif olarak sonuçlanabilir. Romatizmal hastalıklarda otoantikorların tespit edilmesi otoimmün etyolojiyi göstermektedir. Fakat hastalıkla ilgili olan otoantikorum pozitif sonuçlanması o hastalığı kesin ispatlamış olmadığı gibi, negatif sonuçlanmış olması da o hastalığın olmasını kesin olarak ispatlamaz. En sık kullanılan otoantikor testi, ANA'dır (1,6,42).

IIF yöntemi ANA tespit edilmesinde Hep-2 hücreleri kullanılarak çalışılan, altın standart olarak kabul edilen en duyarlı yöntemdir. ANA tespitinde Hep-2 hücrelerinde sitoplazmada bulunan yapılara yönelik oluşabilen otoantikorların varlığı da tespit edilebilmektedir. Bu yöntemle elde edilen sonuçların güvenilir olması, hastalığın tanısı açısından son derece önemli bulunmaktadır. Bunlar, ANA hücre çekirdeğinde bulunan farklı antijenleri hedefleyen çok geniş bir otoantikor grubunu ele almaktadır (2). Tanıda genel olarak 1:160 titre ve üzeri anlamlı pozitif olarak kabul edilir. ANA pozitifliği ileri yaşlarda ve bazı sağlıklı bireylerde daha düşük titrelerde görülebilmektedir (43). ANA sınır değeri sistemik otoimmün hastalık tanısı için $\geq 1/160$ titre olarak kabul edilmektedir. ANA tanısında, floresan boyanma paterni dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta olmaktadır. ANA için homojen, benekli (granüler), nükleolar, nükleer membran, sentromer paternleri yanı sıra sitoplazmik boyanma paternleride rapor edilmektedir. IIF testi sonucu ANA titresini ve boyanma paternini göstermektedir (38,44).

2.9.1.1 ANA SUBTIPLERİ (41)

İki ana gruba ayırabiliriz

(1) DNA ve Histona yönelik antikorlar

(2) ENA' ya yönelik antikorlar:

- a) Anti-dsDNA antikorları
- b) Anti-RNP antikorları
- c) Anti-Sm
- d) Antihiston antikorları
- e) Ro ve La antikorları
- f) Anti Scl-70 antikorları
- g) Anti-sentromer antikorlar

2.9.1.2 ANA KOMPONENTLERİ (11,14,21,44)

Homojen patern:

En sık saptanan ANA tipi homojen patern olmaktadır. Ancak homojen boyanma daha yüksek dilüsyonlarda benekli boyanma tipi gibi de görülebilmektedir. Histon, dsDNA ve/veya nükleosomlara (histon-DNA kompleksi) karşı otoantikorların tespitini göstermektedir.

Benekli (Granüler) patern:

Benekli:

Benekli patern kendi içerisinde dört gruba ayrılmaktadır.

1) Büyük Benekli (Nükleer matriks):

Heterojen nükleer ribonükleoproteinlere (hnRNP) karşı otoantikörlerin varlığını göstermektedir. SLE, RA ve MCTD gibi hastalıklarda hnRNP-A1, A2, B2 alt paternleri tutulmakta iken, skleroderma da hnRNP-C1, C2 ve I alt paternlerinin tutulumu görülmektedir.

2) Kaba Benekli:

U1-snRNP'e ve Sm'ye karşı otoantikörlerin varlığını göstermektedir. SLE ve MCTD gibi hastalıklarda görülmektedir.

3) İnce Benekli:

SSA (Ro), SSB (La), RNA Polimeraz II ve III, Ku, Ki ve Mi-2 gibi otoantikörlere karşı gelişir. Skleroderma, SLE, sjogren, myositis ve MCTD gibi hastalıklarda görülmektedir.

4) Yoğun İnce Benekli:

~75kd'luk lens epitelyum kaynaklı büyüme faktörüne (LEDGF) karşı antikör gelişir. Atopik dermatitli hastalarda, sağlıklı kişilerde ve alopecia areatalı hastalarda görülmektedir.

5. Sentromer patern:

Hücrede antisentromer antikörlerin tespitini göstermektedir. Bu antikörler CENP-B, CENP- A, CENP- C ve nadiren CENP- D ye karşı gelişir. Sınırlı kutanöz sistemik sklerozda ve CREST sendromunda yaklaşık olarak %70 oranda görülmektedir.

6. Nükleer Noktalı Patern

7. Nükleer Membran Patern

Nükleolar patern:

Nükleolar patern dört gruba ayrılarak incelenmektedir.

I. Nükleolar Homojen:

Anti Th/To antikorlara karşı gelişmekte ve SLE, sistemik sklerozis, polimiyozitis ve RA’te görülmektedir.

II. Nükleolar Küme:

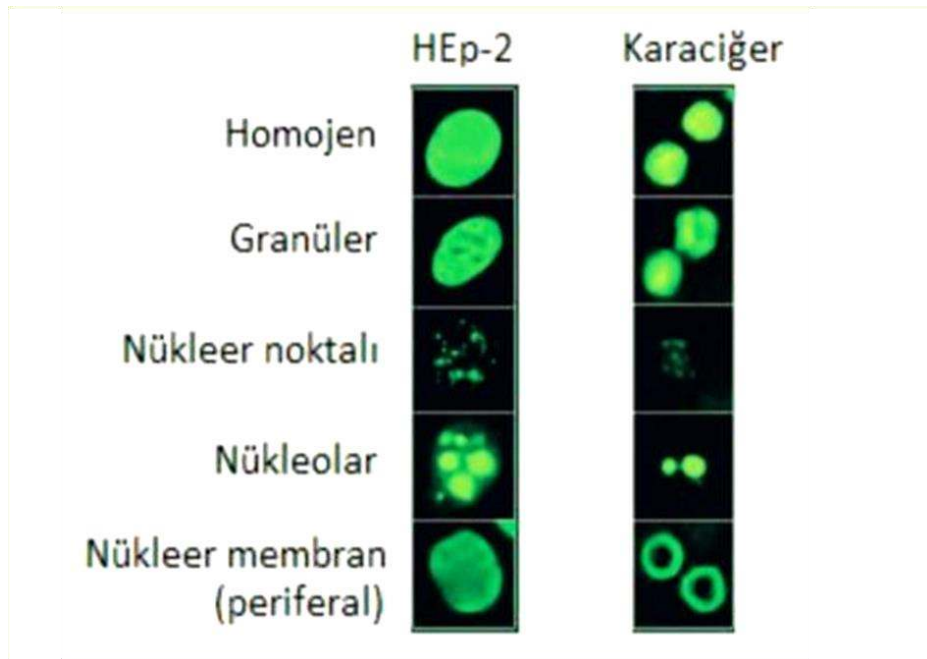
Pulmoner hipertansiyonda ve sistemik sklerozis için yüksek spesifikle hastaların %5’inde görülmektedir.

III. Nükleolar Benekli:

RNA Polimeraz I (RNAP) kompleksine karşı antikor gelişmekte ve SLE, RA ve MCTD gibi hastalıklarda görülmektedir.

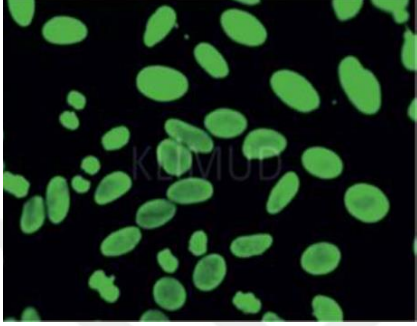
Sitoplazmik Paternler:

Genel olarak sitoplazmik patern daha önceleri ANA IIF testlerinde negatif olarak değerlendirilerek göz ardı edilmiştir. Günümüzde ANA’ları hücre stoplazması ve hücre nükleusunda yer alan antijenlere yönelik gelişen otoantikorlar olarak tanımlamak doğru bir yaklaşım olacaktır. Bütün otoantijenler hücrenin tek bir bölümünde yer almayabilir, bu nedenle fonksiyonları hücrenin fizyolojik durumuna bağlı olarak değişebilmektedir. (14).



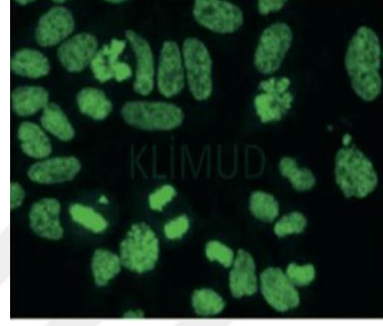
Şekil 2.1. İnterfaz evresinde HEp-2 ve karaciğer hücrelerindeki nükleuslarda görülen boyanma türlerine örnekler (15)

Homojen Patern (15)



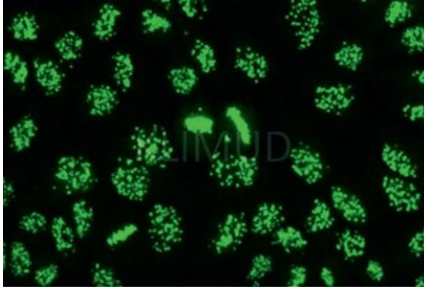
Şekil 2.2. Hep-2 (x40)

Yoğun İnce Benekli patern (15)



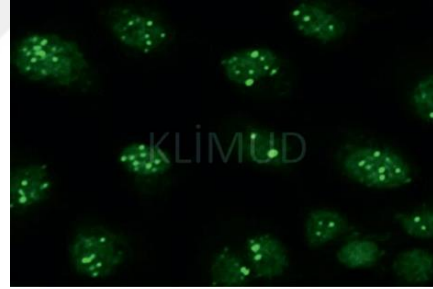
Şekil 2.3. Hep-2 (x40)

Sentromer paterni (15)



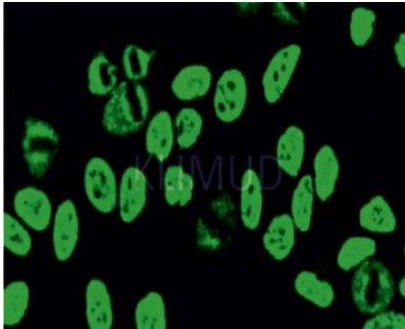
Şekil 2.4. HEp-2 (x40)

Nükleer Noktalı Patern (15)



Şekil 2.5. HEp-2 (x40)

Benekli Patern (15)



Şekil 2.6. HEp-2 (x40)

2.10 Tanı Yöntemleri

OİH'ların tanısında, günümüzde çok çeşitli teknik ve yöntemler kullanılmaktadır. Ancak sadece laboratuvar testlerine dayanarak tanıya varmak güçtür. Öncelikle klinik bulgulara yer verilmesi ve bunun öncülüğünde de test istemlerinin yapılması gerekmektedir. Kısaca testler; klinik bulgular ve prognozdan farklı alt grupları ayırt etmek, klinik göstergeleri doğrulamak ve desteklemek, uygulanan tedaviye yönelik hastadaki reaksiyona bakmak ve değerlendirmek açısından önemlidir. Testler aynı zamanda tedavi amaçlı kullanılan ilaçların yan etkilerini ortaya çıkarmak amacıyla da kullanılmalıdır.

OİH'larda ortak olan özellikler tanıda büyük önem taşımaktadır.

Bunlar:

- 1) Hipergammaglobulinemi
- 2) Otoantikorlar
- 3) Hasta dokularda Ig ve kompleman birikmesi
- 4) Hasta dokularda lenfosit sayısının artması (2,13)

2.10.1 İndirekt İmmünfloresan Yöntemi (IIF)

IIF yöntemi ANA saptanmasında en duyarlı ve altın standart olarak kabul edilen en yaygın kullanılan yöntemdir. İnsan epidermoid larinks karsinom (HEp-2) hücreleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Hep 2 hücreleri ANA saptanmasında diğer dokulara göre daha standart bir substrat elde etmektedir. Hücrenin nükleer, sitoplazmik ve mitotik yapılarına yönelik oluşan otoantikorlar Hep-2 hücrelerinin IIF yöntemi ile taranması yapılmaktadır. Elde edilen sonuçların güvenilir olması hastalığın tanısı açısından oldukça önemli olmaktadır. ANA'nın saptanması ile beraber sitoplazmada / mitotik hücrelerde bulunan yapılara karşı oluşan otoantikorların varlığı da tespit edilebilmektedir. HEp-2 hücrelerinde ki antijen yoğunluğu miktarı ile duyarlılık doğru orantılı olmaktadır. Ancak bu duyarlılık arttıkça özgüllükte azalma kaçınılmaz olmaktadır. 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 gelmiş bulunmaktadır (31,45).

IIF yöntemi gerek enfeksiyon hastalıklarının gerekse OİH'ların serolojik tanısında oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle otoantikorların tespitinde referans yöntem olarak kabul edilmektedir. IIF yöntemi, hasta serumunda özgül antikorların araştırıldığı, katı faz olarak hücre veya doku kesitlerinin kullanıldığı, ANA tespitinde en sık kullanılan bir laboratuvar tanı yöntemidir. IIF yöntemi hasta serumunda yer alan antikorun antijene bağlanması ve floresanla işaretlenmiş olan anti-insan antikorunun bu komplekse bağlanması usulüne göre çalışılmaktadır. Bu yöntemde çeşitli hücre veya dokuların fikse edildiği katı faz olarak slaytlar (lam) kullanılmaktadır. Bu slaytlar ticari olarak hazırlanmaktadır, üzerlerinde fikse edilen hücre veya dokular yer almaktadır. Çalışma prensibinde slaytlar üzerine hasta serumu damlatıldıktan sonra her üretici firmanın kendi önerisi doğrultusunda inkübe edilir. Tampon solüsyonla yıkama gerçekleştirilir. FITC (fluorescein isothiocyanate) işaretli olan konjugat (anti-insan antikor) eklenir. Daha sonra tekrar inkübe edilir ve yıkama yapılır. En son slayt üzerine gliserol damlatılır. Lamel kapatılıp floresan mikroskop altında incelenir (2,15,45).

ANA'nın tespit edilmesinde, hayvan doku substratları kullanılarak uygulanan IIF yöntemleri geliştirilmiştir. Günümüzde ise bu amaçla bir çok yöntem kullanılmaktadır (4). Bu yöntemlerden bazıları şunlardır:

2.10.2 ELİSA (Enzyme Linked İmmünosorbent Assay) Testi

ELISA yönteminde amaç özgül antijen-antikor bağlanmasını göstermektir, enzimle işaretli olan konjugat ve enzim substratı kullanılarak renklendirilme esasına dayalı olarak gerçekleştirilir (4).

ELISA yöntemi, özellikle dsDNA ve ssDNA'ya karşı gelişen antikorların tespit edilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Ayrıca anti ENA ve anti kardiyolipin antikorlarının tespitinde de kullanılmaktadır. Nanogram ve pikogram düzeyinde sonuç verebildiği için RIA yöntemine göre daha çok tercih edilmektedir. Ayrıca ELISA yöntemi RIA' ya göre daha güvenilir ve daha maliyetsiz bir yöntemdir. ELISA yöntemi duyarlılığı yüksek olan bir testtir. ELISA yönteminde total ANA tespiti de gerçekleştirilmektedir. Nükleus içinde yaygın halde yer alan ANA'ları daha kolay tespit ettiği için ve daha kısa sürede daha fazla hasta çalışılabildiği için

IIF yöntemine göre daha kullanışlı bir yöntem olarak kabul edilmiştir. Fakat özgüllüğünün düşük olması sebebi ile yanlış pozitifliklere de sık rastlanılmaktadır. ELISA yönteminde her belirteç ayrı ayrı değerlendirilmektedir. ELISA yönteminin duyarlılığı yüksektir ancak özgüllüğünün düşük olmasından dolayı yanlış pozitifliklere sıkça rastlanılmaktadır. ANA tespitinde ELISA yönteminin pozitif prediktif değeri düşüktür. Bu sebeple ELISA yöntemi ile pozitif saptanan tüm ANA sonuçları IIF yöntemi ile de mutlaka doğrulanmalıdır. Fakat bazı proteinler RibP, Jo-1 ve SS-A gibi IIF yöntemi ile negatif olarak sonuçlanabilir de ELISA yöntemi ile pozitif sonuçlanabilir (4,10,11,46).

2.10.3 RIA (Radioimmünoassay) Yöntemi

RIA yöntemi özellikle az miktardaki antijen tespitinde spesifitesi oldukça yüksek olan bir yöntemdir. Temel amaç radioizotop bir madde ile işaretlenmiş olan antijen veya antikor ile birlikte özgül olan antijenin veya antikorun miktarını ve varlığını saptayabilmektir. RIA yöntemi özellikle anti DNA analizlerinde kullanılmakta olan bir yöntemdir. Solid faz RIA ve Solubl Faz RIA olarak ikiye ayrılmaktadır. Solid faz RIA’da antijen katı bir yüzey üzerine kaplanmaktadır. Spesifik antikorlar antijene bağlanır ve daha sonra bu ortama bağlanabilecek diğer radyoaktif işaretli insan anti-globulin antikoru eklenerek son aşama olarak ortamdaki radyoaktivite gama sayıcı ile belirlenmektedir. Hasta serumunda yer alan antikorların düzeyi, seviyesi bilinen standard serumlar ile belirlenebilmektedir. Solubl faz RIA yöntemi sıvı solüsyonlar kullanılarak gerçekleştirilmektedir (10,39,46).

2.10.4 İmmünodifüzyon (ID) Testi

ID yöntemi, hücrede çözülebilir komponentlere yönelik gelişen antikorların gösterilmesini sağlar. IIF yönteminde anti-Ro antikorlarında boyanma gerçekleşmeyeceği için, klinik görünümü de SLE'yi işaret ediyorsa ELISA veya ID yöntemleri ile bu antikorların araştırılması gerekmektedir. Bu nedenle standart immünofloresans tekniği ile immünodifüzyon yöntemi beraber kullanılarak ANA çalışılması gelişmiş araştırma laboratuvarlarında yaygın düzeydedir. ID yönteminde timus ve dalak doku ekstrakteleri le monospesifik bir prototip serum

kullanılmaktadır. DNA gibi büyük moleküllerin agarda difüzyonu zayıf olduğundan dolayı, ID yöntemi ile anti DNA tespit etmek zor olmaktadır (11,46).

2.10.5 İmmünoiblot (IB) Testi

IB testi nükleer antijenlere yönelik oluşmakta olan antikorların alt gruplarını birbirinden ayırarak, bu alt grupların belirlenmesini sağlamaktadır. Bazı OİH'ların varlığını bu alt gruplar belirlemektedir. Örnek olarak; Anti Scl-70 veya fibrillarine yönelik oluşan antikorlar sklerodermayı, Sm antijenine yönelik oluşan antikorlar da SLE varlığını göstermektedir. IB antikor spesifitesinin tanımı için mecburi bir yöntem haline gelmiştir. IB yönteminin genelde duyarlı ve özellikli bir yöntem olduğu düşünülmektedir. Ayrıca kullanılan kontrollerle sorunsuz bir sonuca ulaşıldığından emin olmak gerekmektedir. Bu sebepten dolayı IB yöntemi ile bilinen antikor kontrolleri kullanılarak değerlendirme sağlanmaktadır. Sistemik romatolojik hastalıkların tespitinde daha fazla yer almasına neden olmaktadır. IIF yöntemi yaygın olmakla beraber bazı zamanlarda ANA tespit edilmesinde duyarlı ve kesin bir yöntem olmayabilir. Bu sebepten dolayı IB yöntemi otoantikorların moleküler düzeyde özgüllüğünü saptamakta önemli bir yöntem olarak düşünülmektedir (11,20).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'nda yapılmıştır. Çalışmanın gerçekleştirilmesi için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 2021/223 sayılı ve 24.08.2021 tarihli etik kurul onayı alınmıştır.

Çalışmamızda Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı İmmünoloji Laboratuvarı'na Mayıs 2019-Eylül 2021 tarihleri arasında otoimmün hastalık şüphesi ile çeşitli polikliniklerden başvurmuş ANA istenen ve yeterli dosya bilgilerine ulaşılabilen 8957 hastanın ANA sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

ANA varlığının tespiti için IIF yöntemi kullanılmıştır. 6050 (%67,54) kadın, 2907 (%32,46) erkek olmak üzere toplam 8957 hasta serumu IIF yöntemiyle çalışılmıştır. Hasta dosyaları; cinsiyet, yaş, ANA paternleri ve klinikleri açısından ayrıntılı olarak incelenmiştir. ANA paternleri; yoğun ince benekli, homojen, benekli, ikili patern, nükleolar, sentromer olmak üzere altı gruba ayrılarak değerlendirilmiştir. Hastalar yaş olarak; 35 yaş altı, 35-39, 50-64, 65 yaş üstü olarak dört gruba ayrılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca hastalar başvurdukları kliniklere göre; İç Hastalıkları, Romatoloji, Nöroloji, Laboratuvar Anlaşmalı Kurum, Göğüs Hastalıkları, Dermatoloji ve diğer poliklinikler olmak üzere 7 grupta değerlendirilmiştir.

3.1 IIF Testi

IIF yöntemi ile ANA testi üretici firmanın (Euroim-mun, Lübeck, Almanya) önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Kullanılan IIF testi her bir

bölmesinde paternin ve pozitifliğin saptanabilmesi için primat karaciğer hücreleri ve Hep-2 hücreleri içermektedir. Testler üretici firmanın önerdiği şekilde ve tek dilüsyonda (1/100) çalışılmıştır.

ANA testi çalışma prensibi; çalışmaya başlamadan önce tüm kitler oda sıcaklığına getirilir. İlk olarak PBS tuzu cam bir şişede bir litre distile suya karıştırılır. Bunun üzerine Tween 20 eklenir. Şişe köpüklenme olmaması için yavaşça alt üst edilerek çalkalama yapmadan alt üst edilir. Boş bir spor alınır ve hasta sayısı kadar boş kuru tüp spora yerleştirilir. 990 µl PBS-Tween 20 karışımı ile 10 µl hasta serumu eklenerek dilüe edilir. Böylece 1/100'lük dilüsyon gerçekleştirilir. Bu karışım vorteks cihazında vortekslenir. Daha sonra hasta serumunun PBS-tween 20 solüsyonu ile iyice karışması için otomatik pipetle pipetaj yapılır. Temiz bir tray alınır. Traylardaki kuyucuklara hava kabarcığı olmamasına dikkat ederek önceden dilüe ettiğimiz örnekten 30 µl örnek pipetlenir. Hepar primat karaciğer hücreleri ve Hep-2 hücreleri içeren doku kaplı slaytlar trayların üzerine 45 derecelik açı ile çok yavaşça hava kabarcığı olmamasına dikkat edilerek kapatılır. 30 dk oda ısısında inkübasyon gerçekleştirilir. İnkübasyon sonrasında slaytlar alınarak, dokulara direk üzerine gelmeyecek şekilde üzerine PBS-Tween 20 karışımı dökülerek bir kez yıkama yapılır. Daha sonra slaytlar PBS-tween 20 karışımı konulmuş şalelerde iki kez beş dk olmak üzere yıkama yapılır. Tekrar boş bir trayın üzerine 25µl hasta sayısı kadar konjugat (IgG) pipetlenir. Slaytlar şaleden çıkarılıp arka tarafları kağıt havlu ile kurulandıktan sonra trayın üzerine yine 45 derecelik açı ile traydaki çentiklere geçirilerek kapatılır. 30 dk oda ısısında inkübasyona bırakılır. Süre sonunda slaytlar alınarak, yine dokulara direk üzerine gelmeyecek şekilde üzerine PBS-Tween 20 karışımı dökülerek bir kez yıkama yapılır. Şalelerde iki kez beş dk olmak üzere tekrar yıkama yapılır. Bu sırada trayların yerleştirildiği boş bir köpük üzerine cover glass (lamel) kapatılır. Lamellerin üzerine hasta sayısı kadar gliserin damlatılır. Yıkaması tamamlanan slaytlar arka tarafı kağıt havlu ile kurulanıp gliserin damlatılmış lamelerin üzerine kapatılır. 200x ve 400x büyütmede Euroimmunstar II plus (Euroimmun AG, Lübeck, Germany) marka floresan mikroskobunda preparatlar ANA paternleri açısından değerlendirilir. Sonuçlar slaytlarda izlenen floresan şiddetine göre kalitatif olarak (+, ++, +++, +++) ve boyanma paternine göre ayrıntılı olarak rapor edilir.

Aynı zamanda IIF TESTİ çalışma aşamaları madde madde olarak ve resimlenerek aşağıda sıralanmıştır;

1. Çalışma başlamadan önce tüm kit içeriği oda sıcaklığına getirilir. Bir lt distile su içine bir paket fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) katılır, tuz çözüldükten sonra üzerine iki ml Tween 20 eklenir. Yavaşça köpüklenme olmadan çalkalanarak çözülmesi sağlanır. PBS-Tween 20 karışımı serum dilüsyonunda ve yıkama aşamalarında kullanılır. (Şekil 3.1-2-3-4-5)



Şekil 3.1. Euroimmun marka IIF için kit içeriği



Şekil 3.2.-3.3. PBS Tween-20 karışımı hazırlanması aşama 1 ve 2

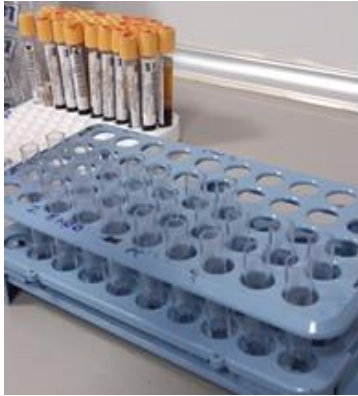


Şekil 3.4.Aşama 2



Şekil 3.5. Aşama 3

2. Her çalışma için ayrı tüp hazırlanır. Her bir tüpe 990 μ l PBS-Tween 20 karışımı konulur. Buna 10 μ l hasta serumu eklenir ve böylece 1/100 dilüsyon gerçekleştirilir. Bu karışım Vorteks cihazı ile karıştırılarak homojen hale getirilir. Şekil 3. (6-7-8-9-10-11) Pipetaj ve vortex uygulaması



Şekil 3.6-7 Pipetaj ve vortex uygulaması aşama 1-2



Şekil 3.8. Aşama 3



Şekil 3.9. Aşama 4



Şekil 3.10. Aşama 5



Şekil 3.11. Aşama 6

3. Tray üzerine sıra ile dilüe edilmiş ve vortekslenmiş örnekten 30 µl kadar pipetlenir. Ön yüzü doku kaplı olan slaytlara hasta numaraları verilir. Hasta örnekleri trayin üzerine pipetlendikten sonra slaytlar 45 derecelik açılış traylerinin kenarında bulunan çentiklere geçirilerek kapatılır.



Şekil 3.12. Boş tray köpüğü



Şekil 3.13-14. Dilüe edilmiş örneğin trayin üzerine pipetlenmesi (aşama1-2)



Şekil 3.15. Trayin üzerindeki kuyucuklara dilüe örneğin pipetlemiş hali



Şekil 3.16. (Hepar primat) karaciğer hücreleri ve Hep-2 hücreleri içeren doku kaplı slayt



Şekil 3. 17. Tray üzerine slaytın kapatılması

4. Slaytların altındaki sıvının dağılmadığı ve slaytın trayin üzerine tam oturduğu kontrol edildikten sonra oda sıcaklığında 30 dk inkübe edilir. Şekil 3.(13-14-15-16-17)



Şekil 3.18. Slaytların traye kapatılmış hali

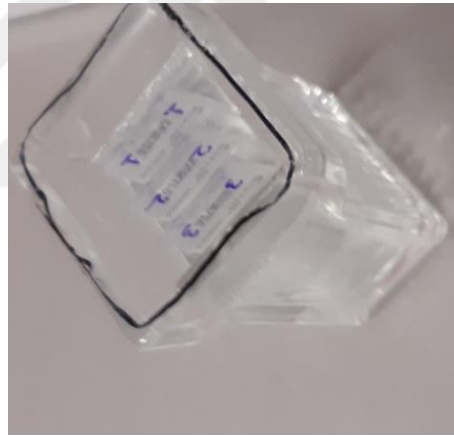
5.İnkübasyon sonrasında slaytlar alınarak dokulara direk gelmeyecek şekilde slaytın üzerine PBS-Tween 20 karışımı dökülerek slayt 1 kez yıkanır. Ardından slaytlar PBS-Tween 20 dolu şale (dik yıkama küveti) içine yerleştirilerek 5 dk bekletilir. 5 dk sonra içinde PBS-Tween 20 karışımı bulunan yeni bir şaleye aktarılır ve bu şalede de 5 dakika yıkanması için bekletilir. Şekil 3.(19-20-21-22)



Şekil 3.19-20 Slaytların yıkama işlemi (aşama 1-2)

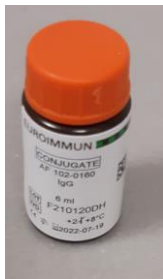


Şekil 3.21.Aşama 3



Şekil 3.22. Aşama 4

6. Temiz bir trayın üzerine sıra ile hasta sayısı kadar 25 µl IgG (konjugat) solüsyonu pipetlenir.



Şekil 3.23-24. Konjugat (IgG) ve konjugatın trayın üzerine damlatılmış hali

7. Yıkama süresi dolan slaytlar şaleden çıkartılır. Slaytların arka yüzeyi kâğıt havlu ile silinir. Trayların kenarında bulunan çentiklere geçirilerek 45 derecelik açı ile tek hamlede traydaki sıvının dağılmadığına emin olarak kapatılır. Oda sıcaklığında 30 dk. İnkübasyon gerçekleştirilir.



Şekil 3.25-26. Konjugat (IgG) damlatılmış trayler üzerine slaytların kapatılması

8. İnkübasyonu biten slaytlar tray üzerinden kaldırılarak, dokulara direk gelmeyecek şekilde üzerine PBS-Tween 20 karışımı dökülerek bir kez yıkanır. Ardından slaytlar PBS-Tween 20 dolu şale içine yerleştirilerek beş dk bekletilir. Beş dk sonra içinde tekrar PBS-Tween 20 karışımı bulunan yeni bir şaleye aktarılır. Bu şalede de beş dakika yıkanması için bekletilir. (Şekil 3.19-20-21-22).

9. Trayların yerleştirildiği boş bir köpük üzerine cover glass (lamel) kapatılır. Lamellerin üzerine hasta sayısı kadar gliserin damlatılır. Yıkaması tamamlanan slaytlar şaleden çıkartılır. Slaytın arka yüzü kâğıt havlu ile kurulanır. Gliserol damlatılmış traylerdeki lamellerin üzerine 45 derecelik açı ile traydaki çentiklere denk gelecek şekilde kapatılır. 30 dk inkübasyona bırakılır. Ve hazırlanan slaytlar değerlendirme aşamasına karanlık ortamda bekletilir (Şekil 23-24-25-26).

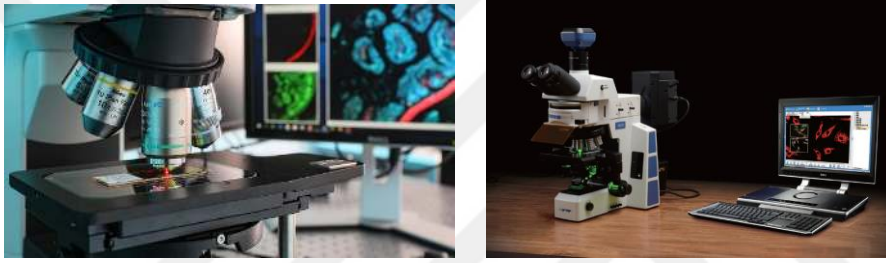


Şekil 3.27-28. Boş tray köpüğüne gliserol damlatılması ve gliserol



Şekil 3.29-30. Slaytların gliserol damlatılmış lamel üzerine kapatılması

10. Slaytlar 200x ve 400x büyütmede Euroimmunstar II plus (Euroimmun AG, Lübeck, Germany) marka floresan mikroskobunda değerlendirilir.



Şekil 3.31-32. Bilgisayar ve monitöre bağlı Floresan mikroskobu

IIF Testinde Kullanılan Laboratuvar Malzeme ve Araçları

1. Santrifüj
2. Sarı kapaklı kuru tüp
3. Ependorf
4. Dilüsyon tüpü
5. Spor

6. Şale (yıkama küveti)
7. Mezur
8. Kağıt havlu
9. Köpük tray tepsisi
10. Tray
11. Slayt (lam)
12. Asetat kalem
13. Phosphate Buffered saline (PBS) tuzu
14. Tween-20 (yıkama solüsyonu)
15. Distile su
16. 1 litrelik cam şişe
17. Vorteks cihazı
18. Konjugat
19. Gliserin
20. Lamel
21. Otomatik pipet
22. Otomatik pipet ucu
23. Eurostar II Floresan Mikroskopu
24. Euroimmun ticari ANS test kit

İstatistiksel analiz

Veriler n (sayı) ve yüzdelerle (%) ifade edildi. Kategorik değişkenler ile test sonucu arasındaki ilişkiler veri dağılımına uygun olarak Pearson'ın ki kare testi ile, sürekli değişkenler ise bağımsız gruplar için t-testi ile değerlendirildi. Verilerin analizinde Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 20 programı kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel olarak anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi

4. BULGULAR

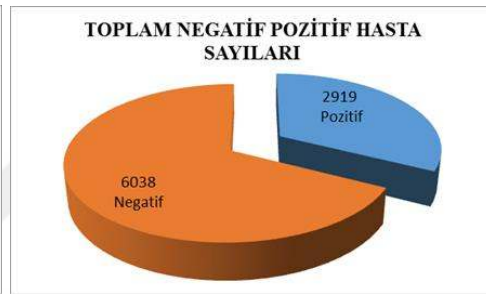
Bu çalışmaya dahil edilen serum örnekleri iki basamakta incelendi. Birinci basamakta laboratuvara gelen tüm hasta örnekleri cinsiyet, yaş, poliklinik ve genel pozitif-negatif sonuç değerlendirmesi şeklinde incelendi. İkinci basamakta ise

sadece pozitif örnekler kendi arasında patern gruplarına ayrılarak yeniden; cinsiyet, yaş, poliklinik açısından ayrıntılı olarak değerlendirildi.

Birinci basamak değerlendirmede; çalışmamıza dahil edilen 6050 (%67,54) kadın, 2907 (%32,46) erkek olmak üzere toplam 8957 hasta serumunda, IIF yöntemiyle hastaların 2919’unda (%33) ANA pozitifliği saptandı, 6038 (%67) hasta ise ANA negatif olarak saptandı. Hastaların pozitif-negatif yüzdeleri ve toplam muayene olan kişi sayısı Şekil 1 ve 2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1.



Şekil 4.2.

Test pozitifliği ile cinsiyet ($p<0.001$), yaş ($p<0.001$) ve poliklinik ($p<0.001$) arasında anlamlı ilişki bulundu (Tablo 1). Toplam 8957 hastanın negatif sonuçlarının 3869’u (%64,1) kadın, 2169’u (%35,9) erkekti. Pozitif sonuçlarının ise 2181’i (%74,7) kadın, 738’i (%25,3) erkekti Pozitif hastaların cinsiyet sayı ve yüzdeleri Tablo 4.1.’de özetlendi.

Tablo 4.1. IIF Yöntemi ile çalışılan ANA sonuçlarının cinsiyet, yaş grubu ve polikliniklere göre dağılımı

	Negatif (n=6038)	Pozitif (n=2919)	p ^a
Cinsiyet			<0,001

Kadın	3869 (%64,1)	2181 (%74,7)	
Erkek	2169 (%35,9)	738 (%25,3)	
Yaş (yıl), ort±ss	49,33±17,02	46,63±17,10	<0,001
Yaş grubu			<0,001
35 yaş altı	1538 (%25,5)	604 (%20,7)	
35-39 yaş	1886 (%31,2)	811 (%27,8)	
50-64 yaş	1616 (%26,8)	924 (%31,7)	
65 yaş ve üstü	998 (%16,5)	580 (%19,9)	
Poliklinik			<0,001
İç Hastalıkları	2032 (%33,7)	939 (%32,2)	
Romatoloji	1646 (%27,3)	1014 (%34,7)	
Nöroloji	1053 (%17,4)	404 (%13,8)	
Laboratuvar Kurum	569 (%9,4)	262 (%9)	
Göğüs Hastalıkları	292 (%4,8)	109 (%3,7)	
Dermatoloji	150 (%2,5)	78 (%2,7)	
Diğer Poliklinikler	296 (%4,9)	113 (%3,9)	

Çalışmamızda hastalar yaş grubu olarak 35 yaş altı, 35-49, 50-64 ve 65 yaş üstü olacak şekilde dört yaş grubuna ayrıldı. 8957 hasta yaş aralıklarına göre gruplandırıldığında; 35 yaş altı 2142 (%23,9), 35-49 yaş aralığında 2697 (%30,1), 50-64 yaş aralığında 2540 (%28,4), 65 üstü yaş aralığında 1578 (%17,6) olarak saptandı. Hastalar yaş gruplarına göre pozitif ve negatif olarak değerlendirildiğinde; 35 yaş altı olan hastaların 604 (%20,7)'ü pozitif, 1538 (%25,5)'i negatif, 35-49 yaş aralığında olan hastaların 811 (%27,8)'i pozitif, 1886 (% 31,2)'sı negatif, 50-64yaş aralığında olan hastaların 924 (%31,7)'ü pozitif, 1616 (%26,8)'sı negatif ve 65 yaş üstü olan hastaların 580 (%19,9)'i pozitif, 998 (%16,5)'i negatif olarak saptandı.(Tablo 1). Kadın hastalar kendi aralarında gruplandırıldığında, 35 yaş altı 1448 (%67,6), 35-49 yaş aralığında 1923 (%71,3), 50-64 yaş aralığında 1721 (%67,7), 65 yaş üstü 958 (%60,7) olarak saptandı. Erkek hastalar kendi aralarında gruplandırıldığında, 35 yaş altı 694 (%32,4), 35-49 yaş aralığında 774 (%28,7), 50-64 yaş aralığında 819 (%32,2), 65 yaş üstü 620 (%39,2) olarak saptandı. ANA testi çalışılan hastaların cinsiyete göre yaş aralıkları Tablo 4.3.'te özetlendi.

Tablo 4.2. Hastaların yaş aralıklarına göre dağılımı

Yaş Grup	Sayı	Yüzde
35 yaş altı	2142	23,9
35-49 yaş	2697	30,1
50-64 yaş	2540	28,4
65 yaş ve üstü	1578	17,6
Total	8957	100,0

Tablo 4.3. ANA testi çalışılan hastaların cinsiyete göre yaş aralıkları

	YAŞ	ERKEK	KADIN	TOPLAM SAYI	ERKEKLERİN YÜZDE ORANI	KADINLARIN YÜZDELİK ORANI
1	35 Yaş Altı	694	1448	2142	32,40%	67,60%
2	35-49	774	1923	2697	28,70%	71,30%
3	50-64	819	1721	2540	32,24%	67,76%
4	65 Yaş Üstü	620	958	1578	39,29%	60,71%
	TOPLAM SAYI	2907	6050	8957	32,46%	67,54%

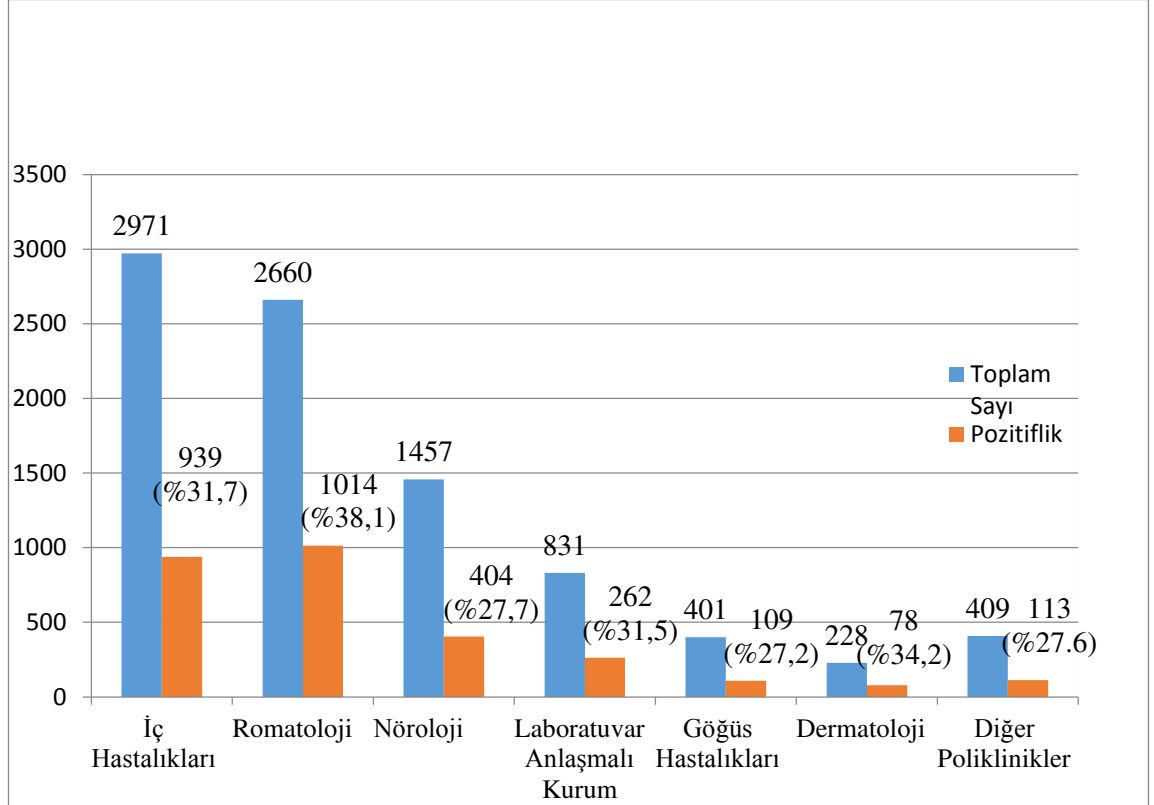
Çalışmamıza dahil edilen hastalar başvuru poliklinikleri açısından 7 farklı poliklinik başlığı altında değerlendirildi. Genel olarak polikliniklere başvuran hasta sayısı yoğunluk sıralamasına göre sırası ile; İç Hastalıkları 2971 (%33,2), Romatoloji 2660 (%29,7), Nöroloji 1457 (%16,3), Laboratuvar Anlaşmalı Kurum 831 (%9,3), Göğüs Hastalıkları 401 (%4,5), Dermatoloji 228 (%2,5) ve diğer polikliniklerden başvuranların sayısı ise 8 (%4,6) olarak saptandı. (Tablo 4.3.)

İstenen ANA testlerinden tüm çalışma popülasyonu için pozitiflik oranı IIF yöntemi ile hastaların 2919'unda %33 olarak bulundu. Pozitiflik oranlarının kliniklere göre dağılımı yoğunluk sırasına göre sırası ile; 1014'ü (%38,1) Romatoloji, 939'u (%31,7) İç Hastalıkları, 404'ü (%27,7) Nöroloji, 262'si (%31,5) Laboratuvar Anlaşmalı Kurum, 109'u (%27,2) Göğüs Hastalıkları, 78'i

(%34,2) Dermatoloji ve son olarak 113'ü (%27,6) Diğer Poliklinikler olarak saptandı. (Tablo 4.4.) (Şekil 4.3.)

Tablo 4.4. Kliniklere göre pozitif hasta sayısı ve yüzdeleri

	Toplam Hasta Sayısına Göre		Kliniklere Göre Pozitiflik Sayı ve Yüzdeleri	
	Hasta Sayısı	Yüzde	Hasta Sayısı	Yüzde
İç Hastalıkları	2971	%33,2	939	%31,7
Romatoloji	2660	%29,7	1014	%38,1
Nöroloji	1457	%16,3	404	%27,7
Laboratuvar Anlaşmalı Kurum	831	%9,3	262	%31,5
Göğüs Hastalıkları	401	%4,5	109	%27,2
Dermatoloji	228	%2,5	78	%34,2
Diğer Poliklinikler	409	%4,6	113	%27,6
Toplam	8957	100	2919	



Şekil 4.3. Kliniklere göre toplam hasta sayısı, pozitif hasta sayısı ve yüzdesi

Polikliniklerden çalışmaya dahil olan pozitif hasta sayıları sırası ile; İç Hastalıkları 939 (%32,2), Romatoloji 1014 (%34,7), Nöroloji 404 (%13,8), Laboratuvar Anlaşmalı Kurum 262 (%9), Göğüs Hastalıkları 109 (%3,7), Dermatoloji 78 (%2,7) ve son olarak diğer polikliniklerde de 113 (%3,9) olarak saptandı (Tablo 4.1.).

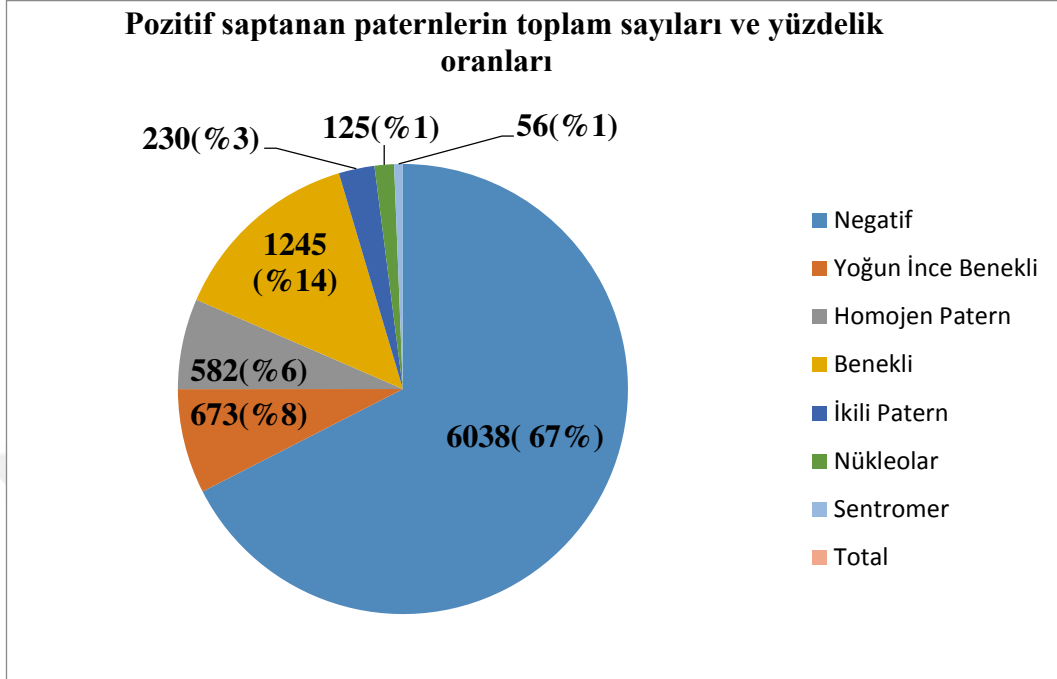
Polikliniklerden çalışmaya dahil olan negatif hasta sayıları sırası ile; İç hastalıkları 2032 (%33,7), Romatoloji 1646 (%27,3), Nöroloji 1053 (%17,4), Laboratuvar anlaşmalı kurum 569 (%9,4), Göğüs Hastalıkları 292 (%4,8), Dermatoloji 150 (%2,5) ve son olarak diğer polikliniklerden de 296 (%4,9) olarak saptandı (Tablo 4.1.).

İkinci basamak değerlendirmede; hasta örneklerinin pozitif ANA testi sonuçları kendi arasında patern gruplarına ayrılarak; cinsiyet, yaş ve poliklinik açısından ayrıntılı olarak değerlendirildi. Bu değerlendirmenin sonucuna göre paternler arasında en sık görülen patern ilk sırada benekli patern 1245 (%13,9), ikinci sırada yoğun ince benekli patern 673 (%7,5) olup, bu oranı sırası ile homojen 582 (%6,5), ikili patern 230 (%2,6), nükleolar patern 125 (%1,4), sentromer patern 56 (%6) izledi. Çalışmamızda, pozitif saptanan paternlerin toplam sayıları ve yüzdelik oranları Tablo 4.5.'te ve Şekil 4.4.'te özetlendi.

Tablo 4.5. Pozitif saptanan paternlerin toplam sayıları ve yüzdelik oranları

	sayı	yüzde
Negatif	6038	%67,4
Yoğun İnce Benekli	673	%7,5
Homojen Patern	582	%6,5
Benekli	1245	%13,9
İkili Patern	230	%2,6
Nükleolar	125	%1,4
Sentromer	56	%6
Total	8949	%99,9
Missing System	8	%1

Total	8957	100,0
-------	------	-------



Şekil 4.4. Genel örneklerin pozitif-negatif sonuçları ve patern dağılımı

ANA pozitif tespit edilen hastalar cinsiyet, yaş ve poliklinik gruplarına göre değerlendirildiğinde, en sık görülen ilk 5 ANA patern dağılımı Tablo 4.6.'da gösterilmiştir.

IIF Yöntemi ile çalıştığımız ANA pozitif sonuçları cinsiyet açısından değerlendirildiğinde; ANA pozitif sonuçlanan 2181 (%74,7) kadın hastada en yoğun saptanan patern benekli tipte olup, 831 (%66,7)'inde kadın hastada saptandı. Bu oranı kadın hastalarda sırası ile; yoğun ince benekli patern 518 (%77), homojen patern 481(%82,6), ikili patern 198 (%86,1), nükleolar patern 97(%77,6) ve sentromer patern 51(%91,1) izledi. IIF Yöntemi ile çalıştığımız ANA pozitif sonuçlanan 738 (%25,3) erkek hastada en yoğun saptanan patern benekli tipte olup, 414 (%33,3) erkek hastada saptandı. Bu oranı erkek hastalarda sırası ile yoğun ince benekli patern 155 (%23), homojen patern 101 (%17,4), ikili patern 32 (%13,9), nükleolar patern 28 (%22,4) ve sentromer patern 5 (%8,9) izledi. Çalışmamızda ANA patern sonuçları yaşlara göre incelediğinde; 35 yaş altı yaş grubunda en sık görülen patern, 268'i (%21,5) benekli patern olarak saptandı. Bu oranı sırası ile yoğun ince benekli patern 126'sı (%18,7) homojen patern, 115'i

(%19,8) homojen patern, 69'u (%30) ikili patern, 17'si (%13,6) nükleolar patern ve 8'i (%14,3) sentromer patern izledi. 35-49 yaş arası yaş grubu değerlendirildiğinde; en yoğun görülen patern, 352'si (%28,3) benekli patern, olup, bu oranı sırası ile 215'i (%31,9) yoğun ince benekli patern, 126'sı (%21,6), homojen patern, 64'ü (%27,8) ikili patern, 39'u (%31,2), nükleolar patern, 13'ü (%23,2) sentromer patern izledi. 50-64 yaş arası yaş grubu değerlendirildiğinde; 383'ü (%30,8) benekli patern olarak ilk sırada yer aldı. Bu oranı sırası ile 217'si (%32,2) yoğun ince benekli patern, 191'i (%32,8) homojen patern, 59'u (%25,7), ikili patern, 44'ü (%35,2) nükleolar patern, 17'si (%30,4) sentromer patern izledi. 65 yaş üstü yaş aralığı değerlendirildiğinde ise ilk sırada 242'si (%19,4) benekli patern olarak, ikinci sırada ise 150'si (%25,8) homojen patern olarak, bunu sırası ile 115'i (%17,1) yoğun ince benekli patern, 38'i (%16,5) ikili patern, 25'i (%20) nükleolar patern ve 8'i (%14,3) sentromer patern izledi (Tablo 4.7.).

Pozitif ANA paternlerinin dağılımı yaş grubuna göre değerlendirildiğinde tüm yaş gruplarında en sık görülen tip benekli patern olarak saptandı. Yoğun ince benekli patern ise, sık görülenler arasında ikinci sırada yer aldı (Tablo 4.7.).

Tablo 4.6. IIF yöntemi ile çalışılan ANA sonuçlarının paternlerine göre dağılımı

	Yoğun İnce Benekli (n=673)	Homojen Patern (n=582)	Benekli (n=1245)	İkili Patern (n=230)	Nükleolar (n=125)	Sentromer (n=56)	p^a
Cinsiyet							<0,001
Kadın	518 (%77)	481 (%82,6)	831 (%66,7)	198 (%86,1)	97 (%77,6)	51 (%91,1)	
Erkek	155 (%23)	101 (%17,4)	414 (%33,3)	32 (%13,9)	28 (%22,4)	5 (%8,9)	
Yaş grubu							<0,001
35 yaş altı	126 (%18,7)	115 (%19,8)	268 (%21,5)	69 (%30)	17 (%13,6)	8 (%14,3)	
35-49 yaş	215 (%31,9)	126 (%21,6)	352 (%28,3)	64 (%27,8)	39 (%31,2)	13 (%23,2)	
50-64 yaş	217 (%32,2)	191 (%32,8)	383 (%30,8)	59 (%25,7)	44 (%35,2)	27 (%48,2)	
65 yaş ve üstü	115 (%17,1)	150 (%25,8)	242 (%19,4)	38 (%16,5)	25 (%20)	8 (%14,3)	
Poliklinik							0,480
İç Hastalıkları	201 (%29,9)	182 (%31,3)	420 (%33,7)	70 (%30,4)	44 (%35,2)	17 (%30,4)	

Romatoloji	230 (%34,2)	222 (%38,1)	404 (%32,4)	86 (%37,4)	42 (%33,6)	28 (%50)	
Nöroloji	95 (%14,1)	73 (%12,5)	182 (%14,6)	34 (%14,8)	16 (%12,8)	4 (%7,1)	
Laboratuvar Kurum	77 (%11,4)	45 (%7,7)	104 (%8,4)	18 (%7,8)	12 (%9,6)	5 (%8,9)	
Göğüs Hastalıkları	28 (%4,2)	19 (%3,3)	50 (%4)	8 (%3,5)	4 (%3,2)	0 (%0)	
Dermatoloji	22 (%3,3)	18 (%3,1)	31 (%2,5)	4 (%1,7)	2 (%1,6)	1 (%1,8)	
Diğer Poliklinikler	20 (%3)	23 (%4)	54 (%4,3)	10 (%4,3)	5 (%4)	1 (%1,8)	

^aPearson'ın ki-kare test

ANA pozitif sonuçlanan hastaların patern dağılımı polikliniklere göre değerlendirildiğinde,

İç Hastalıkları kliniğinde en sık görülen patern; benekli patern 420 (%33,7) olup sırasıyla yoğun ince benekli patern 201 (%29,9), homojen patern 182 (%31,3), ikili patern 70 (%30,4), nükleolar patern 44 (%35,2), sentromer patern 17 (%30,4) izledi. (Tablo 4.6.)

Romatoloji kliniğinde en sık görülen patern; benekli 404 (32,4) olup sırası ile, yoğun ince benekli 230 (%34,2), homojen 222 (%38,1), ikili 86 (%37,4), nükleolar 42 (%33,6) ve sentromer patern 28 (%50) izledi. (Tablo 4.6.)

Nöroloji kliniğinde en sık görülen patern; benekli 182 (%14,6) olup sırası ile yoğun ince benekli 95 (%14,1), homojen 73 (%12,5), ikili patern 34 (%14,8), nükleolar 16 (%12,8) ve sentromer patern 4 (%7,1) izledi. (Tablo 4.6.)

Laboratuvar anlaşmalı kurumlarda en sık görülen patern; benekli 104 (%8,4) olup sırası ile yoğun ince benekli 77 (%11,4), homojen 45 (%7,7), ikili patern 18 (%7,8), nükleolar 12 (%9,6) ve sentromer patern 5 (%8,9) izledi. (Tablo 4.6.)

Göğüs hastalıkları kliniği incelendiğinde en sık görülen patern benekli 50 (%4) olup sırası ile yoğun ince benekli 28 (%4,2), homojen 19 (%3,3), ikili patern 8 (%3,5), nükleolar patern 4 (%3,2) izledi. Sentromer patern ise görülmedi (Tablo 4.6.)

Dermatoloji kliniği incelendiğinde en sık görülen patern benekli 31 (%2,5) olup sırası ile yoğun ince benekli 22 (%3,3), homojen 18 (%3,1), ikili patern 4 (%1,7), nükleolar 2 (%1,6) ve sentromer 1 (%1,8) patern izledi. (Tablo 4.6.)

Diğer poliklinikler incelendiğinde ise en sık görülen patern benekli 54 (%4,3) olup sırası ile yoğun ince benekli 20 (%3), homojen 23 (%4), ikili patern 10 (%4,3), nükleolar 5 (%4) ve sentromer patern 1 (%1,8) izledi. (Tablo 4.6.)

Laboratuvar test sonucu pozitif olan hastalarda, pozitiflik türü ile cinsiyet ($p<0.001$) ve yaş ($p<0.001$) arasında anlamlı ilişki bulundu, ancak pozitiflik türü ile başvuru poliklinik arasında anlamlı ilişki yoktur ($p=0.480$) (Tablo 4.1).

5. TARTIŞMA

İnsanlar için önemli bir sağlık sorunu olan otoimmün hastalıklar ülkelere göre değişiklik göstermektedir. OİH'lar yaklaşık olarak toplumun %3-9'unu etkilediği bildirilmektedir. Altmıştan fazla hastalık tanımlanmış olup, otoimmün hastalıkların semptomları tutulan sistemlere, organlara göre değişiklik göstermektedir. Sistemik OİH tanısında ANA' lar, önemli bir yere sahiptir. IIF yöntemi sistemik ve organ-spesifik otoimmün hastalıkların tanısında altın standart olarak kabul edilmekte ve otoantikor tayini için kullanılmaktadır. Ayrıca Amerikan Romatoloji Enstitüsü' de (American College of Rheumatology) IIF testini altın standart olarak önermektedir (1,3,21) .

Klinik tıp ve klinik immünolojinin önemli bir bölümünü otoantikorların tanımlanması ve gösterilmesi oluşturmaktadır (47,48). Hastalıkların, ölümlerin ve kalıcı sekellerin engellenmesi açısından OİH'ların tanısının erken konulması çok önemlidir. Bu aşamada tanıya yardımcı olan otoantikor testleri klinisyenlere karar sürecinde büyük katkı sağlamaktadır (28). ANA' lar RA, SLE, Sjögren Sendromu, Skleroderma, Dermatomyozit/Polidermamiyozitis gibi Sistemik otoimmün hastalık grubuna dâhil olan hastalıkların tanı ve tedavisinin takibinde büyük önem taşımaktadır (10). IIF testleri ANA saptanmasında en sık başvuru alan yöntemlerden ve duyarlılığı yüksek olarak kullanılan testlerdir. IIF testi 25'den fazla farklı hücresel paterni tanımlayabilen ve 60'dan fazla bilinen antikor aynı anda tespit edebilen gerçek bir mütipleks tarama testidir. Genelde pahalı olmayan maliyet açısından avantajlı kolay uygulanabilir, güvenilirliği yüksek olan son derece yararlı yöntemlerdir. IIF testini değerlendirebilmek için bu konuda en önemli gereksinim deneyimli, eğitimli bu alanda uzmanlaşmış kişilere ihtiyaç duyulmasıdır. Bu kadar önemli ve değerli olan IIF testinin bazı dezavantajları da vardır. Bunlar; testin uygulama zorluğu, pahalı floresan mikroskopuna ihtiyaç duyulması, değerlendirilmesinin subjektif olmasından dolayı; antijen tiplerinin ve paternlerinin kesin ayrımının gerçekleştirilememesi gibi dezavantajlardır (2,3,49–51).

IIF yönteminde katı faz olarak doku kesitlerinden veya hücrelerden fayda sağlanır. IIF yöntemi bir in-vitro tanı yöntemidir, özgül antikorların hasta serumunda araştırıldığı bir yöntemdir. Bu yöntem; hastanın serum örneğinde yer

alan antikorun antijene bağlanması ve oluşan bu komplekse floresanla işaretli olan anti-insan antikorunun bağlanması olayıdır (2,15) . IIF yönteminde kullanılmakta olan standart substrat Hep-2 hücreleri, aynı zamanda insan epitelium karsinom hücreleridir. IIF yönteminde ANA tespit edilmesinde Hep-2 hücre uygulaması standardizasyonu gerçekleşmiştir (2,10).

IIF Testini yorumlamak kişiye özel olduğundan dolayı, ANA paternlerinin adlandırılması ve sonuçların rapor edilmesinde standardizasyon eksikliği bulunmaktadır. Bu sebepten dolayı **ICAP (international consensus on ANA patterns)** uluslararası konsensüsü, ANA paternlerinin morfolojik çeşitliliği hakkında kapsamlı olarak fikir birliği sağlamak adına kurulmuştur. Oto antikorlar için test terminolojisinin yanı sıra, ANA testi için yorumlama kılavuzu olan ICAP paternlerin isimlendirilmesi ve sınıflandırılması konusunda çok önemli bir girişimde bulunarak, 2014 yılında bir standardizasyon önerisi yapmıştır. Ülkemizde de yer alan KLİMUD derneğinin hazırladığı rehber bu önerinin bir benzeridir ve günümüzde birçok merkez tarafından da kullanılmaktadır (3,15,52).

OİH'lar genel olarak, erkeklere göre kadınlarda daha fazla görülmektedir. Bu sebepten dolayı kadınlarda otoantikor pozitifliği daha fazla tespit edilmektedir (7,30). Çalışmamıza dâhil edilen hasta serum örnekleri, iki basamakta incelenmiştir. Toplam 8957 hasta serum örneğinin, 6050'si (%67,54) kadın, 2907'si (%32,46) erkek olmak üzere IIF yöntemi ile değerlendirilen hastaların 2919'u (%33) ANA pozitif, 6038'i (% 67) ise ANA negatif olarak saptanmıştır. Toplam 8957 hastanın negatif sonuçlarının 3869'u (%64,1) kadın, 2169'u (%35,9) erkek olarak bulunmuştur. Pozitif sonuçlarının ise 2181'i (%74,7) kadın, 738'i (%25,3) erkek olarak bulunmuştur.

Polat ve Ark. 2016 – 2017 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı'na farklı polikliniklerden gelen 18-75 yaşları arasında olan IIF yöntemi ile çalışmışlar, toplam 5600 hastanın serum örneklerini ANA pozitifliği açısından retrospektif olarak değerlendirmişlerdir. Toplam 5600 hastanın; 3837'si kadın (%68,51), 1763'ü erkek (%31,48) hasta olarak saptamışlardır. ANA pozitiflik oranını 935 hastada %16,69 oranında saptamışlardır. ANA pozitif saptanan hastaların ise 697'si kadın (%12,44), 238'i erkek (%4,25) olarak, geriye kalan 4665 (%83,30)

ANA negatif hastanın 3140'ı (%56,07) kadın, 1525'i (%27,23) erkek olarak bulmuşlardır (47).

Erke 2015 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'nda yapmış olduğu çalışmada; farklı kliniklerden gönderilen, toplam 559 hasta serum örneğinde 403'ü (%72,1) kadın ve 156'sı (%27,9) erkek olmak üzere IIF ve immunoblot teknikleriyle ANA pozitifliğini araştırmıştır. Çalışmada, IIF yöntemi ve mikroskopik boyanma paternleri dikkate alınmıştır, immünoblot yöntemi ile de alt grup tayini gerçekleştirilmiştir. IIF yöntemi ile hastaların serum örneklerinin 160'ı (%28,6) ANA pozitif olarak saptamıştır. Çalışmada ANA pozitif sonuçların 35'i (%21,9) erkek ve 125'i (%78,1) kadın olarak saptamıştır. İmmünoblot yöntemi ile hastaların 190'ı (%34,0) ANA pozitif olarak saptamıştır (11).

Aktar ve Ark. 2014 – 2015 yılları arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Diyarbakır Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na OİH şüphesi ile gelen hastaların serum örneklerini IIF yöntemi ile incelemişlerdir. Retrospektif olarak değerlendirdikleri toplam 4363 serum örneğinin sonuçlarının, 873'ünü (%20) ANA pozitif olarak saptamışlardır (2).

Azeez 2016 yılında yapmış olduğu çalışmasına; 2013-2015 yılları arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi'ne otoimmünite ön tanısı ile gelen toplam 8626 hastayı çalışmasına dahil etmiştir. 5905'i (%68) kadın ve 2721'i (%32) erkek olmak üzere toplam 8626 hastayı çalışmasına dahil etmiştir. 1334(%15,4) hasta ANA pozitif olarak tespit etmiştir. Çalışmada cinsiyete göre ANA testi sonuçları, 5905 kadından 1069'u (%18,1) ve 2721 erkekte 265'i (% 9,7) pozitif olarak tespit etmiştir (21).

Delioğlu 2014 yılında, Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda; Konnektif Doku Hastalığı (KDH) ön tanısı ile başvuran hastalarda yapmış olduğu çalışmasına 145 (%75,9) kadın, 46 (%24,1) erkek olmak üzere toplam 191 hasta dahil etmiştir. Hastalardan alınan serum örnekleri anti nükleer antikor, IIF ve IB yöntemleri ile araştırmıştır. IIF yöntemiyle hastaların 76'sında (%39,8) ANA pozitif, 115'inde (% 60,2) ise ANA negatif saptamıştır (13).

Karakeçe ve arkadaşları 2012-2013 yılları arasında, Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na otoimmün

hastalık şüphesi ile otoantikör araştırılması istenen 2268 hastanın sonucunu geriye dönük olarak değerlendirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada IIF yöntemi ile ANA araştırılmasında; 2268 hasta serumunun ANA testi sonucunun 755'i (%33,3) pozitif, 1513'ünü (%66,7) negatif olarak saptamışlardır (28).

Çağlayan'ın 2006 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'nda yapmış olduğu çalışmasına; farklı kliniklerden laboratuvara gönderilmiş olan toplam 117 hastanın serum örneğinde; IIF, Dot Blot ve ELISA tanı yöntemleri ile ANA pozitifliği araştırmış ve IIF yöntemi referans yöntem olarak kabul etmiştir. Bu çalışmada toplam 117 hasta serum örneği 85'i (%72,6) kadın, 32'si (%27,4) erkek olup, 81'i (%69,2) farklı titrelerde IIF yöntemi ile ANA pozitif saptamıştır. Hasta serum örneklerinin 98'i (%83,3) Dot Blot yöntemi ile ve 56'sı (%47,9) ELISA yöntemi ile ANA pozitif olarak belirlemiştir. Bu çalışmada toplam değerlendirilen 117 hasta serum örneğinin 36'sı (%30,8) IIF yöntemi ile negatif olarak değerlendirilmiştir (10).

Yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde; kadınlardaki pozitiflik oranının erkeklere oranla yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda da erkeklere oranla kadın sayısı ve kadın pozitiflik değeri erkeklerin yaklaşık iki katı kadardır.

Özetle; Polat ve Ark.'nın yapmış olduğu çalışmada ANA pozitiflik oranı %16,69, kadınlardaki pozitiflik oranı ise %12,44 olarak tespit edilmiştir. Erke'nin yapmış olduğu çalışmasında IIF yöntemi ile ANA pozitiflik oranı %28,6 kadınlardaki pozitif oranı ise %78,1 olarak tespit edilmiştir. Aktar ve Ark.'nın yapmış olduğu çalışmada ANA pozitiflik oranı %20 olarak tespit edilmiştir. Azeez'in yaptığı çalışmada ANA pozitiflik oranı %15,4 kadınlardaki pozitiflik oranı ise 18,1 olarak tespit edilmiştir. Delioğlu'nun yapmış olduğu çalışmada ANA pozitiflik oranı %39,8 olarak tespit edilmiştir. Karakeçe ve Ark.'nın yapmış olduğu çalışmada ANA pozitiflik oranı %33,3 olarak tespit edilmiştir. Çağlayan'ın yapmış olduğu çalışmada ANA pozitiflik oranı %69,2 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre; ANA pozitiflik oranları değerlendirildiğinde bizim çalışmamızdaki %33 ANA pozitiflik oranı, Karakeçe ve ark.'nın %33,3 yaptığı çalışma, Erke'nin %28,6 ve Delioğlu'nun çalışmasındaki %39,8 oran ile uyumlu olduğu görülmüştür. Polat ve Ark.'nın %16,69, Aktar ve Ark.'nın %20 ve

Azeez'in çalışmasındaki pozitiflik oranları %15,4 ise bizim çalışmamızdaki pozitiflik oranından %33 daha düşük tespit edilmiştir. Bunun sebebi olarak bu çalışmalarda yer alan klinikler ayrıntılı olarak incelendiğinde Azeez'in çalışmasında olduğu gibi immünolojik açıdan daha anlamlı olan Romatoloji gibi kliniklerin çalışma gruplarında yer almadığı görülmüştür. Çağlayan'ın yapmış olduğu çalışmadaki pozitiflik oranı da %69,2 olarak, bizim çalışmamız ve diğer çalışmalardaki pozitiflik oranlarından daha yüksek düzeyde olduğu görülmüştür. Çağlayanın çalışması ayrıntılı olarak incelendiğinde çalışmasında farklı titrelerde serum örneği ele aldığı ve pozitif değerlendirmelerin daha çok düşük titrelerde olduğu dikkat çekmiştir. Ayrıca çalışmaya dâhil edilen örnek sayısının da 117 hasta ile bizim çalışmamıza 8957 göre daha düşük olduğu görülmüştür (2,10,11,21,28,47).

Çalışmamızda hastaları yaş olarak gruplandırıdığımızda; hastalar 35 yaş altı, 35-49 arası, 50-64 arası ve 65 yaş üstü olacak şekilde dört grupta değerlendirilmiştir. Her yaş grubunda oto antikorların saptanabildiği görülmüş olup çalışmamızın yaş ortalaması negatif hastalarda $49,33 \pm 17,02$ olarak, pozitif hastalarda ise $46,63 \pm 17,10$ olarak bulunmuştur. Çalışmamızda toplam 8957 hastanın; 2142 (%23,9)' si 35 yaş altı, 35-49 yaş aralığında 2697 (%30,1), 50-64 yaş aralığında 2540 (%28,4), aralığında 1578 (%17,6) 65 üstü yaş olarak saptanmıştır.

Çeliker çalışmasında, 2016-2018 yılları arasında Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'ne gelen hastalardan, ANA testini pozitiflik açısından değerlendirmiştir. Toplam olarak 4550 çocuk hasta dosyası retrospektif olarak değerlendirmiştir. Hastaların %14,3'ü (n:651) ANA sonucu yüksek titrede pozitif olarak saptamıştır. Toplam olarak 4550 hastada 2441'i (53,6) kız, 2109'u erkek olarak saptamıştır. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'ne gelen hastaların yaşları, 2 ay ile 18 yaş aralığında bulunmuştur. Yaş ortalaması ise 124 ± 52 (median 121) ay olarak tespit edilmiştir (14).

Azeez 2016'ta yapmış olduğu çalışmasında; tüm hastaların yaş ortalaması 35,1 olarak, erkek hastaların yaş ortalaması 33,5 olarak, kadın hastaların yaş ortalaması ise 35,8 (En küçük yaş 1, En büyük yaş 93) olarak saptanmıştır.

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

Cansu ve Ark. Ocak 2014 ile Ağustos 2016 yılları arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı Hematoloji Laboratuvarı'nda yaptıkları çalışmalarında, farklı sebeplerle istenen ANA test örnekleri, IIF yöntemi ile istem sıklığı ve ANA sonuçları açısından tetkik kodu girilerek retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Yetişkin hasta grubunda ANA istenen hasta sayısı 8946 olarak ve yaşları ortalaması (46,8) yıl olarak saptanmıştır. Tüm çocuk ile alakalı bölümlerde ise toplam ANA test sayısı 2461 olarak ve yaşları ortalaması 12,7 yıl olarak saptanmıştır. Bu çalışmada erişkin ve çocuk hastaların toplamında, istenen ANA testlerindeki pozitiflik oranı (%20,3) ve sadece yetişkin grupta ise (%17,9) olarak saptanmıştır (53).

Barut ve Ark. 2002-2011 tarihleri arasında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Hastanesi Nöroloji Polikliniği'ne başvuran, IIF yöntemi ile ANA testi çalışılan ve pozitif saptanan 309 hastayı geriye dönük olarak değerlendirmişlerdir. ANA pozitif olan 309 hastada 111'i (%35,9) erkek, 198'i (%64,1) kadın olarak saptanmıştır. Yaş ortalamaları ise $42,50 \pm 14,66$ (min:18, max:84) olarak saptanmıştır (27).

Yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde; bizim çalışmamızda ve diğer çalışmalarda otoantikorların her yaş grubunda saptanabildiği ve tüm yaş aralıklarında cinsiyet açısından en çok pozitiflik oranı kadınlarda görüldüğü açıkça ortaya çıkmıştır. Bizim çalışmamızda ki yaş ortalaması negatif hastalarda $49,33 \pm 17,02$, pozitif hastalarda $46,63 \pm 17,10$ olarak bulunmuştur. Cansu ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada yaş ortalaması 46,8 ve Barut ve Ark.'nın yapmış olduğu çalışmada yaş ortalamaları $42,50 \pm 14,66$ olarak bulunmuş olup bizim çalışmamızla uyumludur. Azeez'in yaptığı çalışmadaki yaş ortalaması (35,1) bizim çalışmamızda ki yaş ortalamasına göre daha düşük olarak bulunmuştur. Çeliker'in yapmış olduğu çalışma, çocuk hastalarda yapıldığı için yaş ortalaması 124

± 52 (median 121) bulunmuş olup yaş grupları açısından bizim çalışmamız ile karşılaştırılamamıştır (14,21,43,53). Ayrıca çocuk yaş grubunda da cinsiyet açısından kız çocuklarında daha çok ANA pozitifliğinin görülmesi bakımından dikkat çekicidir.

ÖİH tanısının konulmasında, hastanın yaşı, cinsiyeti, öyküsü, fizik muayenesi, enfeksiyon tespiti ve hastanın ilaç kullanımı vb. bilgiler önem arz etmektedir. Bu bilgiler klinik hekimleri tarafından değerlendirilerek yapılmaktadır. ANA pozitifliği cinsiyet ve yaş ile ilişkili olabildiği için tetkik isteyen branş önemlidir. Klinisyenlerin zahmetli tetkikler istemeden evvel ayrıntılı bir öykü ve muayene gerçekleştirmeleri uygun olacaktır. Bunun neticesinde ÖİH tanısı için, ANA istemi yapan klinik hekim ve bölümü tetkik sonuçlarının pozitifliği açısından önem arz etmektedir. Tetkiği isteyen branştaki klinisyenlerin sonuçları yorumlamada da dikkatli olmaları gerekmektedir. Hastalardan gerekmedikçe ANA testi istenmemesi son derece önemlidir. Ayrıca, sadece ANA testi sonucuna göre hastalık tanısına karar verilemeyeceği gibi, ANA testi pozitifliği durumunda hastanın klinik öyküsü ve hastanın muayene bulgularının da buna eşlik etmesi pozitif sonucu anlamlı hale getirecektir. Zira ANA pozitifliğinin sağlıklı bireylerde de görülebildiği unutulmamalıdır (43,49).

Bizim çalışmamızda; ANA testi istemi kliniklere göre değerlendirildiğinde; sıklık sırasına göre en fazla ANA isteyen (pozitif ve negative sonuçlar dahil) ilk 5 bölüm sırası ile; 2971'i (%33,2) İç Hastalıkları, 2660'ı (%29,7) Romatoloji, 1457'i (%16,3) Nöroloji, 831'i (%9,3) Laboratuvar Anlaşmalı Kurumlar ve 401'i (%4,5) Göğüs Hastalıkları olarak saptanmıştır. Çalışmamızdaki pozitiflik oranının kliniklere göre dağılımı yoğunluk sırasına göre sırası ile; 1014'ü (%34,7) Romatoloji, 939'u (%32,2) İç Hastalıkları, 404'ü (%13,8) Nöroloji, 262'si (%9) Laboratuvar Anlaşmalı Kurumlar, 109'u (%3,7) Göğüs Hastalıkları, 78'i (%2,7) Dermatoloji ve 113'ü (%3,9) diğer poliklinikler olarak bulunmuştur. 6038 (%67) negatif ANA sonucunun kliniklere göre dağılımı ise yoğunluk sırasına göre sırası ile; 2032'si (%33,7) İç Hastalıkları, 1646'sı (%27,3) Romatoloji, 1053'ü (%17,4) Nöroloji, 569'u (%9,4) Laboratuvar Anlaşmalı Kurum, 296'sı (%4,9) diğer poliklinikler, 292'si (%4,8) Göğüs Hastalıkları ve 150'si (%2,5) Dermatoloji kliniği olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca her poliklinik kendi açısından değerlendirildiğinde Romatoloji kliniğinden 2660 örnekten %38,1'i pozitif olarak sonuçlanmış olup bu oran diğer kliniklere (78'i (%34,2) Dermatoloji, 939'u (%31,7) İç Hastalıkları, 404'ü (%27,7) Nöroloji, 262'si (%31,5) Laboratuvar Anlaşmalı Kurumlar) göre de en yüksek değer olarak bulunmuştur. Çalışmamızda, Göğüs Hastalıkları, Dermatoloji ve Laboratuvar Anlaşmalı Kurum gibi kliniklerinden yapılan ANA istemleri düşük düzeyde olmasına rağmen ANA sonuçlarının pozitifliklerinin kliniklere göre dağılımı değerlendirildiğinde; ANA istemine göre pozitiflik değeri yüksek düzeyde saptanmıştır. İç Hastalıkları bölümü en çok ANA isteyen klinik olmasına rağmen Romatoloji bölümü kliniklere göre pozitiflikte ilk sırada yer almaktadır. Dermatoloji kliniği ise diğer polikliniklere göre dahaz az sayıda ANA isteyen kliniklerden olmasına rağmen, neticede %34,2 pozitiflik oranı ile ikinci sırada yer almıştır. Ayrıca ANA istemi yine üçüncü sırada yer alan Nöroloji kliniği, kliniklere göre pozitiflik oranlarında beşinci sıraya gerilemiştir.

Cansu ve Ark. 2014 - 2016 yılları arasında yaptıkları çalışmalarında; IIF yöntemi ile çalışılan 11.407 hasta örneğini geriye dönük olarak değerlendirmişlerdir. ANA testi istemi bölümlere göre değerlendirildiğinde; sıklık sırasına göre en fazla ANA isteyen ilk 5 bölüm sırası ile: Nöroloji bölümü 1917 (%24,7), Dermatoloji bölümü 1825 (%23,6), Romatoloji bölümü 1574 (%20,3), Çocuk Nefrolojisi bölümü 1404 (%18,1) ve Hematoloji bölümü 1027 (%13,3) olarak saptanmıştır. ANA pozitiflik oranları ise yoğunluk sırası ile Romatoloji (%32,6), Dermatoloji (%15,4), Nöroloji %14,9 ve Hematoloji %14,1 bölümleri olarak sırası ile değerlendirmişlerdir. Cansu ve Ark. çalışmalarında en çok ANA testi istemi yapan polikliniği, Nöroloji olarak tespit etmiş olup en yüksek negatiflik oranını da yine Nöroloji bölümüne ait olarak bildirmişlerdir. Pozitiflik sonucu bakımından bu çalışmada en yüksek oranın Romatoloji bölümüne ait olduğu bildirilmiştir. En çok ANA istenen bölüm olan Nöroloji bölümünde ANA istenen 1928 hastanın 1630'unun (%85) test sonucu negatif olarak saptanmıştır. Dermatolojide istenen 1825 testin 1525'i (%83,6), Romatoloji bölümünde istenen 1574 testin 1053'ü (%66,8) ve Hematoloji bölümünden istenen 1064 testin 904'ü (%84,9) negatif olarak saptanmıştır. Çalışmada tüm çalışma popülasyonu için ANA testi pozitiflik oranı %20,3 olarak saptanmıştır. Erişkin grupta pozitiflik oranı %17,9 iken pozitiflik oranları bölümlere göre yoğunluk sırası ile;

Romatoloji (%32,6), Dermatoloji (%15,4), Nöroloji (%14,9),ve Hematoloji (%14,18)olarak saptanmıştır (53).

Karakeçe ve Ark. 2012 - 2013 tarihleri arasında yaptıkları çalışmalarına, toplam 2268 hasta örneğinin IIF yöntemi ile ANA testi sonuçlarını dahil etmişlerdir. Çalışmaya alınan hasta örneklerinde değişik titrelerde ve paternlerde 755(%33) oranında pozitiflik saptanmıştır. Bu çalışmaya Romatoloji (%36,29), Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon (%14,81), Dahiliye (%12,7), Dermatoloji (%11,3) ve Nöroloji (%7,0) klinikleri başta olarak 10 tane farklı farklı klinikten hasta örneği dahil edilmiştir. ANA testi sonucu pozitiflik oranı 310 (%41,1) oranı ile antikor pozitifliği en sık Romatoloji kliniğinde saptanmıştır. 113(%15,0) oranı ile Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon kliniklerinde saptanmıştır. Kliniklerin kendi içindeki ANA pozitiflik oranının dağılımı sırası ile; Romatoloji 310 (%37,7), Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon 113 (%33,6), Dahiliye 88 (%30,4), Dermatoloji 69 (%27,1), Nöroloji 41 (%25,5), Gastroenteroloji 61 (%38,4), Genel Cerrahi 41 (%36,0) ve diğer kliniklerden 32 (%24,4) olarak saptanmıştır (9). Çalışmada, kliniklerin pozitiflik oranları arasında, istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. Fakat kliniklerden gönderilen örnek sayıları ve pozitiflik oranları arasındaki fark anlamlı düzeyde gözlenmiştir (28).

Azeez'in 2016'da yapmış olduğu çalışmasında, toplam 8626 hastanın ANA test sonuçlarını kliniklere göre gruplandığında yoğunluk sırasına göre; 1334 ANA pozitif hastanın 357'si (%26,8) İç hastalıkları, 173'ü (%13) Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon, 117'si (%8,8) Nöroloji, 117'si (%8,8) Pediatri, 32'si (%2,4) Dermatoloji ve 538'i (%40) diğer klinikler olarak bulmuşlardır (21).

Bizim çalışmamızda ANA test sonucu pozitif olan hastalarda, pozitiflik türü ile başvuru poliklinikler arasında istatistiksel anlamda bir ilişki bulunmamıştır. Yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde; her kliniğin kendi içindeki pozitiflik sonucu açısından bizim çalışmamız Romatoloji bölümü pozitiflik oranı %34,7 ile Cansu ve Ark.'nın çalışmasındaki Romatoloji bölümü pozitiflik oranı %32,6 uyumlu bulunmuştur. Ayrıca bizim çalışmamızdaki nöroloji bölümü pozitiflik oranı %13,8 ile bu çalışmadaki nöroloji bölümü pozitiflik oranı %14,9 da uyumlu bulunmuştur. ANA testi pozitiflik sonucunun genel olarak tüm kliniklere göre dağılımı incelendiğinde; Azeez yapmış olduğu çalışmada İç Hastalıkları bölümünü %26,8 pozitiflik oranı ile birinci sırada

bulmuştur. Bu oran, bizim çalışmamızdaki İç Hastalıkları bölümünde görülen %34,7 pozitiflik oranından daha düşük bulunmuştur. Karakeçe ve Ark. yapmış olduğu çalışmalarında ANA pozitiflik oranı bakımından en yoğun görülen klinik %41,1 Romatoloji bölümü olmuştur ve bizim çalışmamız ile uyumlu bulunmuştur. Karakeçe ve Ark. yapmış olduğu çalışmalarında, bizim çalışmamızda olduğu gibi Romatoloji kliniğini, pozitiflik oranı %37,7 ile en yoğun klinik olarak tespit etmişlerdir. Karakeçe ve Ark.'nın çalışmasındaki Dahiliye kliniği pozitiflik oranı %30,4 bizim çalışmamızdaki İç Hastalıkları kliniği pozitiflik oranı ile %31,7 uyumlu bulunmuştur. Ayrıca bizim çalışmamızda ve Karakeçe ve Ark.'nın yapmış oldukları çalışmalarında Dahiliye/İç Hastalıkları pozitiflik oranları kliniklere göre pozitiflik sıralamasında üçüncü sırada yer almıştır (21,28,53).

Son 50 yıldır OİH'ların tanı ve tedavi takibinde serumda otoantikor araştırılması büyük önem kazanmıştır. Üretici firmalar tarafından araştırmacıların istek ve önerileri üzerine, geniş ürün yelpazesinde olan, kullanımı ve değerlendirmesi kolay olan ve maliyeti düşük olan testler üretilmiştir. Bu testlerden biride IIF yöntemidir. IIF yöntemi Sistemik ve organ-spesifik otoimmün hastalıkların tanısında otoantikor tespiti için kullanılmaktadır. HEp-2 hücreleri ve doku kesitleri günümüzde 100'den fazla otoantikoru tespit edilmesine olanak sağlamaktadır. ANA-IIF yönteminde insan epitelyum karsinom hücreleri olan Hep-2 hücre uygulaması ile ANA IIF testlerinde standardizasyon gerçekleşmesini kolaylaştırmaktadır. Floresan boyanma paterni ANA tanısında dikkat edilmesi gereken en önemli unsurdur. Hasta sonucu patern açısından rapor edilirken homojen, benekli (granüler, speckled), nükleolar, nükleer membran, sentromer, yoğun ince benekli ('anti-dense fine speckled antigen70 antibodies' (anti-DFS70), sitoplazmik patern gibi farklı boyanma modelleri genel olarak belirtilmelidir (2,8,15,54).

IIF yöntemi ile çalışılırken hazırlanan preparatta hasta serumunda yeralmakta olan otoantikorların yoğunluğuna benzer olarak floresan boya yer almaktadır. Floresan mikroskopunda preparat incelendiği zaman, floresan boyanın yoğunluğuna göre benzer düzeyde bir ışımaya da izlenmektedir. Bu ışımının yoğunluğu fazla olduğu zaman paterni belirlemekte güçlük çekilmektedir. Ayrıca, yoğun ışımının görüldüğü preparatlara ait serumlara dilüsyon yapılabilir. Ayrıca,

Buradaki amaç ise, aynı ölçüde serumda bulunan otoantikör miktarını tespit etmektir. Bu tespit edilen miktara titre denilir. ANA sonucunun titresi hastanın tedavi ve takibinde önemli bir yer tutmakta ve klinisyene büyük oranda yardımcı olmaktadır (36,55).

Bizim çalışmamızda; ANA testi pozitif olan hasta örneklerinde saptanan ANA patern özellikleri çeşitlilik göstermiştir. Çalışmamızda ANA pozitif sonuçlarda genel olarak patern dağılımı değerlendirildiğinde; paternler arasında en sık görülen patern olarak ilk sırada, 1245'i (%13,9) benekli patern, ikinci sırada ise 673'ü (%7,5) yoğun ince benekli patern olmuştur. Bu oranı sırası ile 582'si (%6,5) homojen patern, 230'u (%2,6) ikili patern, 125'i (%1,4) nükleolar patern, 56'sı (%6) sentromer patern izlemiştir. Kadın hastalarda en yoğun görülen ANA patern özelliği; 831'i (%66,7) benekli patern olarak saptanmıştır. Bu oranı pozitif ANA patern özelliğinde kadın hastalarda sırası ile; 518'i (%77) yoğun ince benekli patern, 481'i (%82,6) homojen patern, 198'i (%86,1) ikili patern, 97'si (%77,6) nükleolar patern, 51'i (%91,1) sentromer patern izlemiştir. Çalışmamızda ANA testi pozitif olan erkek hastalarda ise en yoğun görülen ANA patern özelliği; 414'ü (%33,3) benekli patern olarak saptanmıştır. Bu oranı Pozitif ANA patern özelliğinde erkek hastalarda sırası ile; 155'i (%23) yoğun ince benekli patern, 101'i (%17,4) homojen patern, 32'si (%13,9) ikili patern, 28'i (%22,4) nükleolar patern ve 5'i (%8,9) sentromer patern izlemiştir. Çalışmamızda en sık görülen ilk 5 ANA paterni ile yaşlar arasındaki ilişki incelendiğinde, ANA paterninin benekli patern grubu tüm yaş aralığında en sık görülen patern olarak gözlenmiştir. Bunu sırası ile homojen patern, ikili patern, nükleolar patern ve sentromer patern izlemiştir. Ayrıca bu sıralama her yaş gurubu için aynı şekilde görülmüştür.

Çeliker 2016-2018 yılları arasında yaptığı çalışmasında Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'ne başvuran toplam 4550 hastanın ANA testi sonuçlarını retrospektif olarak değerlendirmiştir. IIF yöntemi ile ANA pozitifliği saptanan 1401 hastada en yoğun olarak saptanan paterni %42,9 oranı ile granüler patern olarak bulmuşlardır. Ardından sırası ile %24,9 DFS-70 patern, %15,5 ise homojen patern olarak saptamışlardır (18).

Polat ve arkadaşları 2016 – 2017 yılları arasında yaptıkları çalışmada, en yoğun görülen ilk beş patern özelliğini kadın hastalarda 417 (%77) oranında homojen patern olarak saptamışlardır. Bu oranı kadın hastalarda sırası ile; 103'ü (%73,5) benekli patern, 43'ü (%58,1) granüler patern 41'i (%78,8) sentromer

patern ve 41'ini (%74,5) nükleolar patern olarak bulmuşlardır. Erkek hastalarda 238 hastada elde edilen pozitiflik oranı %17,1 olarak saptamışlardır. Bu çalışmada, ANA pozitif saptanan erkek hastalarda en yoğun görülen ilk beş patern özelliği erkek hastalarda 124 (%22,9) oranında homojen patern olarak bulunmuştur. Bu oranı erkek hastalarda sırası ile; 37'si (%26,4) benekli patern, 31'i (%41,8) granüler patern, 17'si (%36,9) nükleer tanecikler ve 14'ü (%25,4) nükleolar patern olarak saptamışlardır (47).

Aktar ve Ark. 2014 – 2015 yılları arasında yaptıkları çalışmada, toplam 10.659 hastanın serum örneğini IIF yöntemi ile retrospektif olarak değerlendirmişlerdir. Değerlendirme sonucunda en yoğun görülen ilk beş paterni 873 ANA testinin sonucunda 348'i (%39,8) granüler patern, 183'ü (%20,9) nükleolar patern, 174'ü (%19,9) homojen patern, 67'si (%7,6) homojen+granüler, 40'ı (%4,5) granüler+nükleolar patern çeşitleri olarak saptamışlardır (2).

Delioğlu 2014 yılında yapmış olduğu çalışmasına toplam 191 hasta dahil etmiştir. Hastalardan alınan serum örneklerinde IIF ve IB yöntemleri ile ANA araştırılmıştır. Toplam 191 hasta serumunun 76'sını ANA pozitif olarak bulmuşlardır. Belirlenen 76 hastanın ANA pozitif sonucuna göre değerlendirme sonucunda en yoğun görülen ilk beş paterni sırası ile; 28'i (%36,8) homojen patern, 11'i (%14,5) ince granüler patern, 10'u (%13,2) nükleolar patern, 8'i (%10,5) homojen/sitoplazmik patern, 7'si (%9,2) iri granüler patern olarak bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucunda, nükleer ve stoplazmik antijenlere yönelik oluşan çoğu antikorun IIF yöntemi ile saptanabilmesine rağmen sonuç verme adına sonuçlandırmanın iyi bir deneyiminin olması kanısına varılmıştır (13).

Çelikkalek ve Ark. 2009-2011 yılları arasında Ankara Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi ve Ankara Yıldırım Bayezid Üniversitesi Tıp Fakültesi ile birlikte yapmış oldukları çalışmada laboratuvarında yapılan ANA tetkik sonuçlarını retrospektif olarak değerlendirmişlerdir. Toplam 5068 hastanın serum örneğinde IIF yöntemi ile ANA varlığını araştırmışlardır. ANA testi sonucu pozitif belirlenen 982 hasta incelenmiştir. ANA sonucu pozitif bulunan hastalarda en sık görülen patern çeşitleri sırası ile; 226'sı (%23) homojen patern, 212'si (%22) benekli homojen patern, 152'si (%15,5) benekli patern ve 133'ü (%13,5) nükleolar patern olarak saptanmıştır (56).

Barut ve Ark. 2002-2011 tarihleri arasında yaptıkları çalışmada, ANA testi sonucu pozitif çıkan 309 hastanın tetkik sonuçlarını retrospektif olarak

değerlendirdiklerinde pozitif ANA sonuçlarını, ANA paternlerini ve en sık görülen nörolojik tanıları belirlemişlerdir. Toplam 309 pozitif örnekte saptanan ANA pozitif hastaların patern dağılımı; 123'ü (%39,8) granüler patern, 74'ü (%23,9), homojen patern, 58'i (%18,8) nükleolar patern, 17'si (%5,5) stoplazmik patern, 10'u (%3,2) sentromer patern ve 27'si (%8,7) diğer paternler olarak saptanmıştır (43).

Genel olarak çalışmalar patern dağılımına göre değerlendirildiğinde; Aktar ve arkadaşları, Barut ve arkadaşları ve Çeliker'in yapmış olduğu tez çalışmasında en yoğun görülen patern bizim çalışmamızda da olduğu gibi benekli patern olarak saptanmıştır. Polat ve arkadaşları, Çelikkilek ve arkadaşları ve Delioğlu'nun yapmış olduğu tez çalışmasında en yoğun görülen patern homojen patern olarak tespit edilmiş olup bizim çalışmamızda homojen patern üçüncü en sık görülen patern gurubunda değerlendirilmiştir. Bunun sebebi bir kaç basamakta yorumlanabilir. İlk olarak diğer çalışmalarda ki örnek sayısı farklılıkları ikinci olarak patern değerlendirmesindeki subjektiflik düşünülebilir. Ayrıca bizim çalışmamızda ikinci sırada yer alan yoğun ince benekli patern mikroskopik değerlendirmelerde homojen patern+ benekli patern ile karışabileceği göz önünde bulundurulduğunda oran farklılıklarına bunun da sebep olabileceği düşünülmüştür (2,13,14,43,56).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmada, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na OİH şüphesi ile gelen 8957 hasta serum örneklerinden IIF yöntemi ile ANA testi çalışıldı.
2. Yapılan çalışmalar incelendiğinde Bolu ilinde son 10 yıl içinde ANA testi bakımından en geniş kapsamlı çalışmanın 8957 hasta ile bizim çalışmamız olduğu tespit edildi.
3. 8957 hasta serumun 2919'unda (%33) ANA pozitifliği saptandı. Pozitif sonuçların 2181'i (%74,7) kadın, 738'i (%25,3) erkek olarak saptandı. Negatif sonuçların ise 3869'u (%64,1) kadın, 2169'u (%35,9) erkek olarak saptandı. Bu çalışma; tüm cinsiyetler, tüm yaş grupları ve tüm poliklinikler açısından değerlendirildiğinde ANA pozitifliği oranı en yüksek olarak kadınlarda görüldü. Kadınlardaki pozitiflik oranı erkeklerin yaklaşık olarak üç katı kadar bulundu.
4. Çalışmada hastalar yaşlara göre genel olarak gruplandırıldığında en çok ANA istenen yaş grubunun 35-49 yaş aralığında olduğu görüldü. Pozitif sonuçlanan hastaların yaş ortalaması ise 46.63 ± 17.10 olarak bulundu. En çok pozitiflik görülen yaş grupları ise 50-64 ve 35-49 olarak bulundu. Bu sonuçlar ile OİH ların bolu ilinde daha çok orta ve ileri yaş grubunda görüldüğü düşünüldü. İnsan yaşam süresinin gelişen teknoloji ile uzamasına bağlı olarak OİH'ların daha da ileri yaş gurubunda görülebileceği ve buna yönelik daha fazla ANA test istenmesi gerektiği kanaatine varıldı. Ayrıca otoantikörlerin her yaş grubunda saptanabildiği anlaşıldı.
5. Bu çalışmada tüm yaş gruplarında, her iki cinsiyette de en sık görülen patern çeşidi benekli patern olarak saptandı. Yoğun ince benekli patern ise, sık görülenler arasında ikinci sırada, homojen patern ise üçüncü sırada yer aldı.
6. IIF yönteminde ANA değerlendirmesinin subjektif olması, bu testin değerlendirmesinin kişilere göre farklılık arz etmesi laboratuvarlar arası patern dağılımı açısından farklı oranlar elde edilmesine neden olduğu düşünüldü.

7. Çalışmanın sonucuna göre en fazla istem yapan klinik İç Hastalıkları olmasına karşın, Romatoloji kliniğinde pozitiflik oranı en yüksek olarak bulundu. ANA testi istemi konusunda dahili kliniklerden daha fazla istemde bulunulduğu görüldü. İmmünolojik bakımdan Romatoloji kliniğinde ANA istemlerinin daha anlamlı olduğu görüldü. Gereksiz ANA testi çalışılması sağlık hizmeti maliyetlerinde artışa sebep olduğu için bu gibi test istemlerinin daha çok klinik açıdan anlamlı bölümler tarafından yapılmasının gerektiği düşünüldü.
8. Hastalardan gerekmedikçe ANA testi istenmemesi son derece önemlidir. Ayrıca, sadece ANA testi sonucuna göre hastalık tanısına karar verilemeyeceği gibi, ANA testi pozitifliği durumunda hastanın klinik öyküsü ve hastanın muayene bulgularının da buna eşlik etmesi pozitif sonucu anlamlı hale getirecektir. Zira ANA pozitifliğinin sağlıklı bireylerde de görülebildiği unutulmamalıdır.

Çalışmamızın kısıtlılıkları;

9. Çalışmamızda ki süre kısıtlılığı ve hasta sayısının fazla olması sebebiyle test sonuçlarının pozitiflik dereceleri (zayıf pozitif, +, ++, +++, +++) bakımından sınıflandırılması yapılamadı.
10. Aynı sebeplerden dolayı çalışmamızda ANA pozitif olarak değerlendirilen hastalar hangi nükleer antijenin pozitifliğinin saptanması (ENA, ELİSA vb. Yöntemleri ile) bakımından eksik kalmıştır. Daha ileri dönemlerde farklı çalışmalarla bunun desteklenebileceği düşünüldü.
11. Çalışmamız tartışma kısmında yurt dışı yayınlarla kıyaslanamadı. Bunun sebebi olarak yabancı çalışmaların daha çok hastalık spesifik gruplarda ototantikor çalışması yapmış olması ve farklı yöntem kıyaslamaları yapması olarak düşünüldü.
12. Çalışmamızda ANA test öncesi, OİH ihtimali yüksek ise ANA isteminin faydalı olabileceği ve klinik bulgular yetersizse OİH görülme olasılığının düşük olması durumunda da bu testin fayda sağlamayacağı kanısına varıldı. ANA testi değerlendirme aşaması değerlendirilen örnek sayısının fazla olması nedeni ile kliniklerin vermiş olduğu hastalık tanıları bakımından değerlendirilmeye alınamadı.

7. KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır.)

1. Kaya K. İmmünoloji. 3. baskı. İstanbul: Nobel Kitabevi; 2003. 240–64 p.
2. Aktar GS, Ayaydin Z, Onur AR, Vural DG, Temiz H. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde ifa yöntemiyle çalışılan otoantikör sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. Turkish J Immunol. 2017;5(3):77–81.
3. Turan Faraşat V. Otoimmün hastalıkların tanısında antinükleer antikör tarama testlerinin değerlendirilmesi. 2017.
4. Ruacan Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Kitabı. Güneş Kita. Ustaçelebi Şemsettin, editor. Ankara; 1999. 245–249 p.
5. Kongur E, Kaklıkkaya N, Bayramoğlu G, Özkaya E, Önder Ş, Akyol R, et al. Retrospective Investigation of ICD Codes of Patients with Dense-Fine Speckled (DFS) Pattern Antinuclear Antibodies. Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg. 2016;46(2):82–7.
6. Batu ED, Sönmez HE, Bilginer Y. Çocuk Romatoloji Polikliniğine Anti-Nükleer Antikör (ANA) Pozitifliği ile Yönlendirilen Hastaların Özellikleri. Turkish J Pediatr Dis. 2018;13–8.
7. Kayasü D. Sistemik Otoimmün Romatolojik Hastalıklarda Ve Sağlıklı Bireylerde AntiDFS-70 Otoantikörleri. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2010.
8. Afşar İ, Şener AG, Vural A, Hızlı N, Türker M. Anti nükleer antikörlerin pozitif saptandığı hastalarda immunoblotting test sonuçlarının değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg. 2007;37(1):39–42.
9. International consensus on ANA patterns. www.anapatterns.org [Internet]. [cited 2022 Nov 7]. Available from: <https://www.anapatterns.org/>
10. Çağlayan ES. Anti Nükleer Antikörlerin Farklı Yöntemlerle Bakılması ve Alt Gruplarının Karşılaştırması. Afyon Kocatepe Üniversitesi; 2006.
11. Erke K. Antinükleer Antikör (ANA) Sonuçları İle Ekstrakte Edilebilir Nükleer Antikörleri (ENA) Arasındaki İlişkinin Araştırılması [Internet]. Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi; 2016. Available from: <https://medium.com/@arifwicaksanaa/pengertian-use-case-a7e576e1b6bf>
12. Akşit F. Genel Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Eskişehir: Web Ofset Tesisleri; 2006.
13. Delioğlu S. Antinükleer Antikörlerin İmmünolojik Tanı Yöntemleri ile Araştırılması. Gaziantep Üniversitesi; 2014.
14. Çeliker S. Çocuk Polikliniklerinde Antinükleer Antikör (ANA) Tetkik Edilen Hastaların Retrospektif İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Üniversitesi; 2019.
15. Kaklıkkaya N, Karaman M, Kaşifoğlu N, Sarıbaş Z, Şener B, Taşkınoğlu T, et al. Otoantikörlerin Laboratuvar Tanısı Rehberi [Internet]. 3.Baskı. Ankara; 2020. Available from: [https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/Otoantikörlerin Lab Tanisi Rehberi_Ver3_2020.pdf](https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/Otoantikörlerin_Lab_Tanisi_Rehberi_Ver3_2020.pdf)
16. Abbas AK, Lichtman A h. Temel İmmünoloji. 1.Baskı. İstanbul: Medikal Yayıncılık; 2007. 1–20 p.
17. Bilgehan H. Temel mikrobiyoloji ve bağışıklık bilimi. 10.basım. Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları;

18. Kılıçturgay K. İmmünolojiye Giriş. 2.baskı. Güneş Kitabevi; 1991.
19. Kokuludağ A. Otoantikörlerin Doğru Kullanımı. In 2005.
20. Mammadli T. Otoimmun romatolojik hastalıklarda otoantikör profilinin geriye dönük değerlendirilmesi. Erciyes Üniversitesi; 2020.
21. Azeez HJ. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Antinükleer Antikör Sonuçlarının Değerlendirilmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi; 2016.
22. Cotsapas C. İmmün Aracılı Hastalık Genetiği. J Chem Inf Model. 2013;
23. Akkaraju S. Bir dizi CD4T hücre toleransı. 1997. 1997 p.
24. Nasuhbeyoğlu N. Bölgemizdeki Bazı Otoimmun Hastalıklarda Antinükleer Antikör Prevalansı,ASO,CRP VE RF İlişkisi. Atatürk Üniversitesi; 1995.
25. Stojanovich L. Stress and autoimmunity. Autoimmun Rev. 2010;9(5):19931651.
26. Ercolini AM, Miller SD. The role of infections in autoimmune disease. Clin Exp Immunol. 2009;155(1):1–15.
27. Wucherpfennig KW. Mechanisms for the induction of autoimmunity by infectious agents. J Clin Invest. 2001;108(8):1097–104.
28. Karakeçe E, Atasoy AR, Çakmak G, Tekeoğlu İ, Harman H, Çiftçi İH. Bir üniversite hastanesinde antinükleer antikör pozitiflikleri. Turkish J Immunol. 2014;2(1):5–8.
29. Altan L, Yurtkuran M. Romatoid Artritli Hastalarda Anksiyete ve Depresyon. 2004;7–13.
30. Berkem R, Gümüş T, Karakoç E, Acar N. Antinükleer Antikörlerin Saptanmasında Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması. 2003;
31. Yurttutan Uyar N, Güngör Ö, Serteser M, Akyar I. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 2017;74(1).
32. Theofilopolus A. Autoimmunity. In: 6.Baskı. USA; 1987. p. 1987.
33. Tokem Y, Özel F. Skleroderma ve hemşirelik bakımı. Ege Üniversitesi Hemşirelik Yüksek Okulu Dergisi. 2011;27(2):69–77.
34. Uğur S. Sjögren Sendromu Ön Tanısı ile Minör Tükürük Bezi Biyopsisi Yapılan Hastalarda Biyopsi Sonuçlarıyla Serolojik Testlerin Karşılaştırılması. Akdeniz Med J. 2021;7(2):239–43.
35. Çefle A, Yazıcı A, Turgut T. Primer Sjögren sendromu olan 25 hastanın klinik ve laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi. 2010;
36. Yumuk Z, Çarışkan Ş. Klinik laboratuvarında kullanılan otoantikör tanı testlerinin değerlendirilmesi. 2008;38:37–41.
37. Terzioğlu E, Gümüşiş G, Doğanavşargil E. Klinik Romatoloji Kitabı. İstanbul: Deniz Matbaası; 1999. 1999 p.
38. Ersöz D. Antinükleer Antikörler ve Hastalıklarla İlişkileri. Mikrobiyoloji Bülteni. 1992;379–89.
39. Keser G. Romatolojik Hastalıkların Tanı sında Hematolojik, Biyokimyasal ve Serolojik İncelemeler. In İstanbul: Deniz Matbaası; 1999. p. 1999.
40. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: A journey revisited. Diagn Pathol. 2009;4(1).

41. Küçük A. Ailesel Akdeniz Ateşi Hastalarında Antinükleer Antikor Sıklığı. Necmettin Erbakan Üniversitesi; 2014.
42. Ece A, Şahin C. Çocuk romatolojisi pratiğinde laboratuvar testlerinin kullanımı. J Clin Exp Investig. 2014;4(2):258–61.
43. Özen Barut B, Emre U, Demir AS, Ünal A, Tekin İ. Nörolojik hastalarda ANA incelemesinin önemi. 2013;9(2):74–8.
44. Ülfer E. Efüzyonlu otitis media hastalığında serumda antinükleer antikor düzeyleri ve otoimmunitenin rolü. Atatürk Üniversitesi; 2010.
45. Us D. serolojik tani yöntemleri uygulama ve değerlendirme. Ankara: Hipokrat Kitapevi; 2006. 2006 p.
46. Emerk K. Romatizmal hastalıklarda laboratuvar bulguları. Tuna N, editor. Taş yayınları; 1994. 1994 p.
47. Gürel Polat N, Safran N, Erten Yurdağül G. İmmüno Floresan Yöntemi ile Belirlenen Otoantikorlarda Kadın/Erkek Dağılımı. Experimed. 2020;10(3):119–23.
48. Peene I, Meheus L, Veys EM, Keyser FD. Detection and identification of antinuclear antibodies (ANA) in a large community hospital. Acta Clin Belg. 2009;64(4):317–23.
49. Yılmaz Ö, Karaman M, Ergon MC, Bahar İH, Ğ NY. Konnektif Doku Hastalıklarının Tanısında Antinükleer (ANA) ve Anti-Double Stranded DNA (Anti-dsDNA) Antikorlarının Önemi. 2005;29(4):287–90.
50. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. Arch Pathol Lab Med. 2000;124:71–81.
51. Ej B, Jh J, Ml L, Ma P, Mikrobiyoloji K. AB. Enfeksiyon Hastalıklarının Tanısında İmmünolojik. 9.Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2009. 2009 p.
52. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, de Melo Cruvinel W, Francescantonio PLC, et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns (ICAP) 2014-2015. Front Immunol. 2015;6(JUL):1–13.
53. Üsküdar Cansu D, Üsküdar Teke H, Gündüz E, Korkmaz C. Günlük pratikte ANA istemleri ve pozitifliklerinin kliniklere göre dağılımı. Ulus Romatoloji Derg. 2019;11(1):16–22.
54. Fritzler M, Wiik A. Otoantikorları tespit etmek için kullanılan ticari kitlerin kullanımı ve kötüye kullanılması. In: Demographic Research. 2003. p. 1-33 : 29 pag texts + end notes, appendix, referen.
55. Ulvestad E, Kanestrom A, Madland T, Thomassen E, Haga H, Vollset S. Romatolojik uygulamada antinükleer antikorlar için tanısal testlerin değerlendirilmesi. Encyclopedia of volcanoes. 2000;52(1995):662.
56. Çelikkilek N, Özdem B, Açıkgöz ZC. Evaluation of Anti-Nuclear antibody test results in clinical practice. J Microbiol Infect Dis. 2015;5(2):63–8.