

283922

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ENSTİTUSU

SİSTEMİK LUPUS ERYTHEMATOSUS
VE
BENZERİ KOLLAGEN DOKU HASTALIKLARINDA
ANTİ-NUKLEAR ANTİKOR TEŞHİSİNDE
FLORESAN ANTİKOR TEKNİĞİNİN KULLANILMASI

(Doktora Tezi)

Hazırlayan
M.Şadi Çetinkaya

1 9 7 1
A N K A R A

İÇİNDEKİLER

	<u>Sahife</u>
GİRİŞ VE AMAÇ	1-9
MATERİAL ve METOD	9-11
Antijenin Hazırlanması	9
İndirekt Floresan Antikor Tekniği	10-11
Değerlendirme	11
BULGULAR	12-18
TARTIŞMA	19-26
ÖZET	27
BAŞKA ARAŞTIRICILARIN BULDUKLARI SONUÇLAR	28
KAYNAKLAR	29-33

GİRİŞ ve AMAÇ

İnsanın ve hayvanın kendi vücut antijenlerine karşı, çeşitli olayların etkisiyle antikor yapması ve otosensitizasyon durumunun ortaya çıkması haline otoimmün hastalık denir. Kendi vücut antijenlerine karşı duyarlılık meydana gelmesi normal olmayan bir durumdur. Çünkü yetişkin insanın immün mekanizması kendinden olan antijen ile kendinden olmayana tanıma özelliğine sahiptir. Ancak fötüs veya yeni doğmuş dönemlerinde kendisine ait olan antijenlerle, yabancı antijenleri ayırdedebilme özelliğine sahip değildir. Demekki kendinden olan antijenle, olmayana ayırdedebilme yeteneğine sahip olan yetişkin insan veya hayvanda otosensitizasyonun ortaya çıkması bir hastalık halidir ve bunun çeşitli sebepleri olabilir. Otoimmün hastalıkların oluş mekanizmasını izah etmeye çalışan bazı teoriler vardır.

Bilindiği üzere lens, beyin, tiroid ve sperm hücreleri genel dolaşımdan ayrıdırlar. Travma veya enfeksiyon sonucu bu antijenler genel dolaşıma karışıp immünolojik bir cevaba -otosensitizasyona- sebep olurlar. Örneğin; Aspermatogenesis denilen otoimmün hastalığın oluş mekanizması böyle bir teori ile izah edilmeye çalışılmaktadır. İnsan hayatının senelerce süren bir döneminde testisler gelişmemiş ve spermler teşekkül etmemiştir. Testisler ve spermler, immün mekanizma tam olarak teşekkül ettikten sonra gelişir ve teşekkül ederler. Bu duruma göre bunların antijenik özellikleri immün mekanizma için yabancıdır. Herhangi bir sebeple bu hücreler dolaşıma geçtiklerinde, immün mekanizma bunları tanıyamadığı için antikor sentez etmeye başlar. Böylece otosensitizasyon yani otoimmün hastalık ortaya çıkar.

Otoimmün hastalıkların oluşmasını izaha çalışan diğer bir teoriye şöyledir; Enfeksiyon etkenlerinin veya enfeksiyondan sonra organizmanın meydana getirdiği toksinler veya enzimler vücut antijenlerinde haptetik değişikliğe yol açarlar.

Normal antijenik yapının değişmesi sonucu, immün mekanizma için yabancı olan bir antijen teşekkül etmiş olacağından, bu anti-jenik yapıya karşı antikor sentez edilir. Sentez edilen antikor, değişikliğe uğramış antijenik yapı ile birleştiği gibi normal du-rumdaki antijenlerde birleşebilir. Bu suretle bir otoimmünite -oto-sensitizasyon- meydana gelir.

Normal doku antijenlerine, sedormit ve kinidin gibi ilâçla-rın bağlanması ile yeni bir antijenik yapı ortaya çıkar. Böyle bir antijende, ilaçlar haptetik grup görevi yaparlar. Antijenin özgül-lüğünü veren haptetik grup (belirtici grup)vücut için yabancı oldu-ğundan, immün cevap görülebilecektir. Otoimmun bir hastalık olan Akkiz hemolitik anemi böyle teşekkül eder.

Otoimmun hastalıkların oluşunda bir diğer teori ise çapraz reaksiyon esasına dayanır. Yabancı bir antijene karşı meydana ge-len antikor vücudun normal bir doku antijeni ile doğal olarak reak-siyon verir. Akut romatizma (rheumatik fever) da streptokokların M antijenine karşı husule gelen antikorlar, insan kalb dokusunun sar-kolemasındaki bazı doku antijenleriyle çapraz reaksiyon verirler. Buna benzer reaksiyonlar bazı ilâçlardada ortaya çıkarılabilir.

Bir hastalığa otoimmün diyebilmek için bazı bulgular gerek-lidir. Bunları şöylece özetliyebiliriz:

1. Otoimmün hastalık belirtisi gösteren insan veya hayvanda kendi antijenlerine karşı otoantikor veya geç tip aşırı duyarlılık tesbit edilmelidir.
2. Bu otoantikorlar ve geç tip aşırı duyarlılığa sebep olan duyarlı hücreler normal hayvana nakledildiğinde hastalık belirtileri mey-dana getirmeli.

3. Hastalığa sebep olan antijenin şıngası ile de normal hayvanda hastalık belirtileri gözlenebilir. Fakat bu belirtilerin veya kuralların, bugün otoimmün olarak kabul ettiğimiz hastalıkların hepsinde tespit edilmesi mümkün olmamaktadır.

Bazı otoimmün hastalıklarda lezyonlar özellikle bazı organ veya dokuları tutabilirler. Kollagen dokuyu (Bağ dokuyu) afettede eden otoimmün hastalıklara, kollagen doku hastalıkları denir.

Sık, sık allerjik nöbetler geçiren, astmatik krizleri olan insanlarda, sık antijenik stimülasyon sonucu küçük damarlarda ve küçük damarların endotel dokusunda zedelenmeler husule gelebilir. Polyartheritis nodosa denilen Kollagen doku hastalığında böyle bir patogenesis düşünülmektedir. (1,2)

Diğer bir kollagen doku hastalığı olan Sistemik Lupus erythematosus'un (S.L.E.) oluş mekanizmasını şöyle izah edilebilmektedir; Ultraviyole ışınları, aşırı duyarlılık reaksiyonları, ilaçlar (Hydralazin, İsomiazide, Procainamide, α Metildopa, Chlorthalidone) hormonlar, virüs ve bakteri enfeksiyonları etkisiyle hücre harabiyeti ve ölümü vuka gelir. Böyle bir yıkım sonunda DNA ve nükleoproteinler açığa çıkar. Bu yıkım ürünlerine karşı antikor sentez edilir. DNA ve nükleoproteine karşı teşekkül bu antikorlar, normal hücrenin DNA ve nükleoproteinleriyle birleşerek antijen-antikor kompleksi yaparlar. Teşekkül eden antijen-antikor kompleksi yeni hücrelerin yıkımına ve bol miktarda DNA ve nükleoprotein antijenlerinin dolaşıma karışmasına sebep olurlar. Bu siklus devam eder gider ve antikor seviyesi gittikçe yükselir. Antikorum artmasıyla birlikte hastalıkta şiddetlenir. SLE'nin teşekkülü bu şekilde cereyan eder. Yukarıda belirttiğimiz etkenlerin sebep oldukları hücre yıkımı sonunda neden her şahısta otoantikor teşekkül etmiyor? sorusunun cevabı kesin olarak verilememekle beraber bu gün için şöyle bir düşünceden hareketle bu durum izah edilebilir;

1. Yıkım ürünleri bazı kimselerde farklı antijenik özellik kazanabilirler. Bu antijenik yapılar immün mekanizmaya yabancı oldukları için immün bir cevap görülür. Bazı kimselerde ise yıkım ürünlerinin antijenik özelliklerinde herhangi bir değişiklik olmaz ve immün mekanizma bu antijenleri tanıdığı için immün bir cevap görülmez. Yıkım ürünleri katabolize edilerek dolaşımdan kaybolurlar. Böyle durumlarda SLE teşekkülü söz konusu olmaz.
2. Bazı şahıslar yıkılma ürünlerine karşı immün cevap verme bakımından, diğer şahıslardan genetik olarak farklılık gösterirler. Genetik farklılık nedeniyle immün cevap ve bunun sonucu SLE teşekkül eder. (3,4,5,6,7)

Otoimmün hastalıklarda çok çeşitli otoantikörler tesbit edilmiştir. Oto antikörlerin bazıları organa ve türe özgüllük gösterirler. Bazı otoantikörler ise tür, organ ve doku özgüllüğü göstermezler. Bazı antikörler hemen hemen bütün memelilerinin doku antijenleri ile reaksiyon verirler. Böyle otoantikörlere genellikle kollagen doku hastalıklarında rastlanır. Türe, organa ve dokuya özgül olmayan bu antikörler hücrenin çeşitli kısımlarına karşı teşekkül ederler. Sitoplazmik ürünlerle reaktivite gösteren otoantikörlere antisitoplazmik antikörler, nüklear yapılara yönelenlere ise anti-nüklear antikörler(anti-nüklear faktör) (A.N.A) (A.N.F) denir.

ANTI-SİTOPLAZMİK ANTIKÖRLER

Gözlemler birden fazla sitoplazmik antijenlerinin var olduğu fikrini vermektedir. Sitoplazmik determinantlara yönelmiş antikörler şunlardır:

- a. Anti-ribozomal antikörler,
- b. Anti-RNA antikörleri,
- c. Anti-mitokondrial antikörler,
- d. Anti-mikrozomal antikörler,
- e. Anti-lizozomal antikörler.

Sitoplazmik antikorlar çeşitli hastalıklarda tespit edilmiştir; SLE, primary biliary cirrhosis, sjögren sendromu, tiroiditis ve lupus nefritisli hastalar ile etiyojisi kati olarak bilinmeyen birçok hastalıklarda bu antikorlar gözlenmiştir. (8,9,10,11,12, 13,14)

Sitoplazmik antikorların tesbiti için genellikle şu metodlar kullanılır;

- a. Indirek Floresan antikor metodu,
- b. Kompleman birleşmesi,
- c. Presipitasyon,
- d. Bentonit flokülasyon,
- e. Antiglobulin tüketim.

Sitoplazmik antikorların gösterilmesinde kullanılan bu metodlarda; saçan, tavşan ve insan kaynaklı purifiye sitoplazmik ürünler antijen olarak kullanılır. (9,10,11,15)

En iyi teşhis metodunun indirek floresan antikor tekniği olduğu bildirilmiştir. İkinci derecede iyi sonuç, Kompleman birleşmesi deneyleriyle alınmıştır. (8,11)

ANTI-NUKLEAR ANTIKORLAR (A.N.A) = ANTI-

NUKLEAR FAKTOR (A.N.F)

Kollagen doku hastalıklarında antinükleer antikorlar tespit edilmesi, bu hastalıkların teşhisinde önemli bir bulgu olarak kabul edilmektedir. A.N.A'lar nükleus'un çeşitli komponentleri ile reaksiyon verirler. Değişik nükleus komponentlerine karşı teşekkül etmiş olan antikorların ayırımı bazı klinik önemlere sahiptir. (3,16,17,18,19) Klinik bakımından önemleri bilinen antinükleer antikorlar şunlardır;

- a. Anti-nükleoprotein (Anti-DNP),
- b. Anti-Desoxyribonükleikacid (Anti-DNA),
- c. Biyokimyasal tabiatı bilinmeyen nüklear bir antijenle reaksiyon veren antikor.

Klinik önemleri ve hastalıklarla ilgileri bilinmeyen
A.N.A'ları

- a. Nükleolar ve sitoplazmik RNA'larla reaksiyon verenler,
- b. Nüklear histon ile reaksiyon verenler. (20,21,22)

a. ANTI-DESORİ-NÜKLEOPROTEİN (ANTI-DNP):

Bu antikor, normal kromozomal materialde mevcut DNA-protein kompleksi ile reaksiyon verir ve LE hücresi fenomeninden sorumlu faktördür.

Anti-DNP kortikosteroid tedavisi görmemiş S.L.E. li hastaların serumunda daima mevcuttur. Antikor titresi, hastalığın şiddetli döneminde en yüksek seviyeye ulaşır. S.L.E.'li bir hastada Anti-DNP gösterildiği halde LE hücresi fenomeni negatif olabilir. Bunun sebebi kesin olarak bilinmemekle beraber, çok miktarda kortikosteroid tedavisi yapıldıktan sonraki dönemde, bir serum faktörünün yokluğuna bağlı olabilir. Veyahutda antikor titresinin düşüklüğü veya fagositik aktivitenin zayıflığı LE hücresi fenomeninin negatif olmasına sebep olabilir diye düşünülmektedir. Fakat anti-DNP titresinin yüksek olduğu durumlarda da LE hücresi fenomeninin negatif olabilmesi bu izah şekillerini yalanlar görülmektedir. (17,23)

Anti-DNP antikorları, S.L.E. den başka, rheumatoid arthrit, ilaç aşırı duyarlılığı, dermatomiyositozis, scleroderma, aktif kronik hepatit, arasıra akut enfeksiyöz hepatit ve bazı küçük tip nekrotize vaskülitisli hastaların serumlarında görülebilir. Bazende atipik pnömoni, aktif akciğer tüberkülozu, lenfoma ve ana-plastik karsinomalı hastalarda düşük titrede anti-DNP görülebilir. (17)

b. ANTI-DESOXYRIBONUCLEIC ACID (ANTI-DNA) :

Bu antikora S.L.E. dışındaki hastalıklarda nadiren rastlanabilir. Proteinden arı DNA ile reaksiyon verir. Genellikle hastalığın akut fazlasında bulunur. S.L.E.'li hastalardaki glomerulonefritisin etiyolojisi ile yakından ilgilidir. Humoral anti-DNA antikörleri DNA ile kompleksler yaparlar, komplemanı fikse ederler ve renal glomerüllerde toplanarak büyük ihtimalle glomerulonefritise sebep olurlar. (3,6,19,24,,25,26)

c. BİYOKİMYASAL TABİATI BİLİNMEYEN NÜKLEAR BİR ANTİJENLE REAKSIYON VEREN ANTIKOR:

Bu antikör anti-DNP nin gösterildiği bütün durumlarda bulunmuştur. Teşhis yönünden önemi bilinmemektedir. (27)

Bu üç anti-nükleer antikörün birlikte varlığı veya yokluğu "total antinükleer faktör" den bahsetmemize sebep olur ve genellikle total ANA 'nın tesbiti tercih edilir. (27,28)

S.L.E.'li hasta serumundaki A.N.F. nin IgG, rheumatoid arthritisi'li hasta serumundaki rheumatoid faktörün ise IgM tabiatında olduğu rapor edilmiştir. (9,29)

Felty sendromundaki immunoglobulinler, IgG, IgA ve IgM tabiatındadır. Lupoid hepatit ve scleroderma'da IgG tabiatında ANA'lar vardır. Yaşlılığa bağlı olarak meydana gelen anti-nükleer antikörlerin ise IgA ve IgM tabiatında immunoglobulinlerdir (18, 30).

Anti-nükleer faktör teşhisi için kullanılan metodlar önem sırasına göre şunlardır:

- a. İndirek floresan antikör metodu,
- b. Kompleman birleşmesi,
- c. LE hücresi arama,
- d. Antiglobulin tüketim,
- e. Bentonit aglütinasyon,
- f. Presipitasyon.

INDİREK FLORESAN ANTIKOR TEKNİĞİ İLE BÖYAMA

1. Lökosit preparatı % 95 lik metil alkol ile 30 dakika oda derecesinde tesbit edilir.
2. Sonra fosfat tamponu ile 10 dakika yıkanır. Yıkama bir şâle içinde hafif, hafif sallıyarak ve tampon solüsyonu üç defa değiştirilerek yapılır.
3. Preparatın boş kısımları kurutma kağıdı ile kurutulur ve yaymanın bulunduğu kısma hasta serumu damlatılır.
4. İçinde, ıslatılmış bir kurutma kağıdı bulunan bir petri kutusuna preparat konur. Bir gece 4°C de bekletilir.
5. Serum preparat üzerinden kurutma kağıdı ile alınır ve şâle içinde fosfat tamponu ile 10 dakika çalkalıyarak yıkanır. Bu esnada fosfat tamponu üç defa değiştirilir.
6. Yaymanın dışındaki boş saha kurutma kağıdı ile kurutulur. Üzerine konjuge anti-insan gama globulini damlatılır. (Floressein iso tiyosiyanat ile işaretlenmiş anti-insan gama globulini Difco firmasından temin edilmiştir. Bu konjuge antiserum tarafımızdan, doku veya aktif karbon ile adsorbisyona tabi tutulmuştur.)
7. İçinde ıslak kurutma kağıdı bulunan petri kutusuna konur. Böylece nemli bir atmosferde ve oda derecesinde 45' inkübe edilir.
8. Sonra preparat, fosfat tamponu üç defa değiştirilerek 10 dakika, şâle içinde hafif hafif sallamak suretiyle yıkanır. Preparat havada kurutulur.
9. Fosfat tamponu ile hazırlanmış %50 lik gliserin solüsyonu yayma üzerine damlatılır ve lâmel ile kapatılır. Lâmel kapatmaksızın da tetkik yapılabilir.
10. Mikroskopik inceleme hemen yapılmıyacak ise preparat buz dolabında saklanmalıdır.

Yukarıdaki işlemlere ilaveten kontrol olarak şunlar yapılır:

Bir preparata müsbet, diğer bir preparata da menfi olduğu bilinen hasta serumları damlatılır. Ayrıca bir preparat- da hiçbir insan serumu damlatmadan müteakip boyama işlemleri aynen yapılır.

DEĞERLENDİRME

Boyanmanın parlaklık derecesine göre değerlendirdik. Zayıf floresans verenleri (+) pozitif, orta derecede floresans verenleri (++) pozitif ve kuvvetli floresans verenleri ise (+++) pozitif olarak kaydettik (8).

B U L G U L A R

Hastanemiz kliniklerinde kollagen doku hastalıkları şüphesi ile yatan 155 hastanın serumunda indirek floresan antikor tekniği ile ANF aradık. Çalışmamızı tamamladıktan sonra hastalarımızın enson klinik teşhislerini dosyalarından tesbit ettik.

Klinik teşhise göre, toplam 155 hastanın 97 si kollagen doku, 31 i Oto immun ve otoimmun oldukları düşünülen hastalıklar idi.

Kollagen doku grubundan 97 vak'anın 38 i (% 39.1), oto immun ve oto immun oldukları düşünülen 31 hastanın 8 i (% 25.8), mikrobial hastalıkları olan 11 vak'anın 1 i (% 9.1), ANF pozitif bulundu. Çeşitli hastalıklar grubundan 16 hastada hiç müsbet reaksiyon gözlenemedi. (Tablo 1)

Tablo 1. Tetkik edilen 155 hasta serumunun hastalık gruplarına dağılışı ve bu grublarda Anti-Nükleer Faktör sıklığı.

Hastalık Grubu	Toplam vaka Sayısı	A.N.F.			
		N e g a t i f		P o z i t i f	
		S a y ı	%	S a y ı	%
Kollagen doku Hastalıkları	97	59	60.8	38	39.1
Oto immun ve oto immun oldukları düşünülenler	31	23	74.2	8	25.8
Mikrobial Hastalıklar	11	10	90.9	1	9.1
Çeşitli Hastalıklar	16	16	100	0	0
T O P L A M	155	108	69.6	47	30.4

Tablo 3. S.L.E. ve diğer Kollagen Doku Hastalıklarınının C inse göre dağılımı.

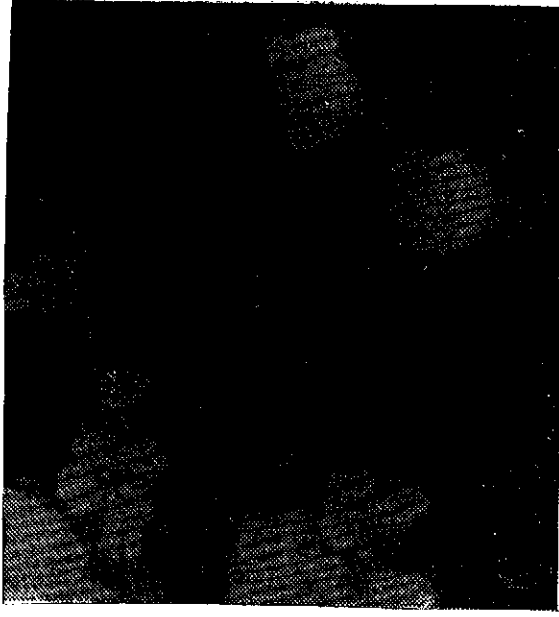
Hastalık adı	Toplam vaka Sayısı	c i n s			
		K a d ı n		E r k e k	
		Sayı	%	Sayı	%
Sistemik Lupus Erythematosus	18	13	72.2	5	27.8
Rheumatoid arthritis	19	14	73.7	5	26.3
Ayırddilemeyen Kollagen doku Hastalıkları	42	30	71.4	12	28.6
Scleroderma	5	4		1	
Polyartheritis Nodosa	3	1		2	
Kronik Lupoid Hepatit	3	1		2	
Rheumatic fever	6	5		1	
Osteoarthritis	1	1		0	
T O P L A M	97	69	71.1	28	28.9

Tablo 3. S.L.E. ve diğer kollagen doku hastalıklarında cinse göre dağılımı göstermektedir. Sistemik Lupus erythematosuslu hastaların % 72,2 si kadın, % 27,8 i erkek, Rheumatoid arthritis'lilerin % 73,7 si kadın, % 26,3 ü erkek, ayırddilemeyen kollagen doku hastalıklılarını % 71.4 ü kadın, % 28,6 sı erkektir. Toplam 97 kollagen doku hastalıklı'nın % 71.1 inin kadın, % 28,9 unun erkek olduğu tesbit edildi.

Tablo 6. Mikrobial hastalıklarda anti-nükleer faktör sıklığı.

Hastalıkların adı	Toplam Vaka Sayısı	A. N. F. Derecesi				Total Pozitif
		-	+	++	+++	
		Sayı	Sayı	Sayı	Sayı	
Kist hidatik	1	1	0	0	0	0
Kronik pyelonefrit	3	3	0	0	0	0
Pyonefroz	1	1	0	0	0	0
Granulomatöz hepatit	1	1	0	0	0	0
Lepra	1	1	0	0	0	0
Akciğer toberkülozu	2	1	1	0	0	1
Enfeksiyona bağlı anemi	2	2	0	0	0	0
T O P L A M	11	10	1	0	0	1

Mikrobial hastalığı olan 11 hastadan sadece 1 tanesi ANF pozitif bulunmuştur ki, bu hasta akciğer tüberkülozlu idi.



Şekil 2: A.N.F. pozitif boyanmanın floresan mikroskopunda görünüşü.

T A R T I M A

Klinik olarak kollagen doku hastalığı şüphesi veren 155 hastanın serumunda İndirek floresan antikor tekniği ile anti-nükleer faktör (ANF) (ANA) aradık. Çalışmamızın sonunda, klinikçe konan son teşhisleri tesbit ettiğimizde bütün hastaların kollagen doku hastalığı olmadığını gördük. 155 hastadan 97 si için kollagen doku hastalığı teşhisi konmuştu.

Kollagen doku hastalığı olan hastaların serumlarında, diğer hastalık gruplarındaki hastaların serumlarına nazaran daha yüksek sıklıkta ANF gözlemlendi. 97 kollagen doku hastasından 59 u ANF negatif, 38 si ANF pozitif bulundu ki, pozitiflik oranı % 39.1 dir. Kollagen doku harabiyeti olan bütün hastalıklarda ANF tesbit edilebileceği ve ANF'nin kollagen doku hastalıklarının teşhisinde önemli bir serolojik bulgu olduğu bildirilmektedir (3,4,5). Alexander ve arkadaşları yaptıkları bir araştırmada klasik kollagen doku hastalıklarında ANF sıklığını %95 olarak gözlemişlerdir (34). Tablo 1 de görüldüğü gibi bizim çalışmalarımızda kollagen doku grubundan hastalıkların totalinde ANF sıklığı % 39.1dir. Bu sonucun diğer araştırmacıların bulduğu değerlerden farklı oluşu bizi şu fikre götürmektedir. Bu gruptaki 42 hastadan "Ayırdedilemeyen kollagen doku hastalığı" şeklinde söz edilmektedir. Klinik tablo kollagen doku hastalığı intibasını verdiği halde, bu hastaların bir kısmı kollagen dokulu olmaya bilir veya kollagen dokulu olduğu halde, ANF ihtiva etmeyebilir. Yahut da hasta serumları bize gelmeden önce hastaya kortikosteroid tedavisi yapılmış olabilir ki bu da ANF tesbit edilememesine sebep olur (19).

Oto immün ve oto immün oldukları şüpheli olan hastalıklar grubundan 31 hastanın serumu tetkik edildi ve 23 ü (% 74.2) ANF negatif, 8 i (% 25.8) ANF pozitif bulundu. Bu gruptaki hastalıkların çoğu oto immün oldukları katıyetle kabul edilenler olup,

Pozitif reaksiyon veren hastalıkların büyük bir kısmı doku harabiyeti göstermektedir. Alexander ve arkadaşları bizim yaptığı gibi gruplandırma ve sonuç bir gruplandırmada ANF sıklığını % 17 olarak bildirmektedirler (32). Ancak Alexander'ın gruplandırması ile bizim gruplandırmamız tamamen aynı olmadığından sonuçlarımızda farklılık olabilir. Gruplandırmamız tamamen aynı dahi olsa tetkik edilen hasta sayısı farklı olduğu için sonuçlar farklı olabilir.

Mikrobiale hastalıkları olan 11 hastanın serumunda ANF aranmış ve 1 (%9.1) hasta serumu ANF pozitif bulunmuştur. (Tablo 1) Tetkik ettiğimiz hasta serumu sayısının az oluşu sebebiyle gerçek bir değerlendirmeye gidemeyeceğimiz görülmekte isede, başka araştırmacılar da bizim bulduğumuz değere yakın olabilecek değerler bildirmektedirler. ANF pozitif bulduğumuz 1 vakanın klinik teşhisi akciğer tüberkulozu idi. Bu hastadan aynı zamanda S.L.E. şüphesi edilmekteydi. Weir ve arkadaşları (33) 65 akciğer tüberkülozlu hastanın 2 sini ANF pozitif buldukları halde, Alexander ve arkadaşları (34), 7 akciğer tüberkülozlu hastadan 3 ünü ANF pozitif olarak tesbit ettiler.

Yukarıda bahsettiğimiz grupların dışında düşündüğümüz 16 hastanın bulunduğu bir grupta ANF aradık ve pozitif ANF reaksiyonu gözliyemedik (Tablo 1).

Tablo 1 göstermektedirki ANF'ün en sık olduğu hastalık grubu, kollagen doku hastalıkları grubudur. Kollagen doku hastalıklarının meydana geliş teorileri, bu hastalıkların ilerleyiş tarzı, antinükleer antikörelere bu hastalıklarda daha sık rastlanması gerektiği fikrini vermekte ve bir çok araştırmacıların bulguları da bunu doğrulamaktadır (7).

Kollagen doku hastalıkları grubundan olduklarını tesbit ettiğimiz 97 hastanın serumunda ANF aradık. Tablo 2 de görüldüğü gibi hastaların 18 i sistemik lupus erythematosus'lu idi.

Bir çok araştırıcılar, S.L.E.li hasta serumlarında yüksek titre veya derecede ANF mevcut olduğunu bildirmişlerdir. S.L.E.'li hasta serumlarında ANF sıklığı o kadar yüksektir ki, eğer serum alınmadan önce hasta kortikosteroid tedavisi görmemiş ise % 100 veya % 100 e yakın oranda pozitif ANF reaksiyonu tesbit etmek mümkündür. Çeşitli memeli dokuları ve normal insan lökositleri antijen olarak kullanılmış ve birbirine çok yakın değerler kaydedilmiştir. Antijen özgüllüğü konusunda yapılan bütün araştırmaların sonuçları göstermektedir ki, anti-nüklear antikolar türe, organa ve dokuya özgüllük göstermezler (8,15,29,33,34,35,36,38,39). Friou (39) 35 S.L.E.'li hasta serumunu, antijen olarak doku kullanmak suretiyle, indirek floresan antikor tekniğı ile tetkik etmiş ve % 100 ANF pozitif bulmuştur. Bardawil ve arkadaşları (40) 5 S.L.E.'li hasta serumunun 5 ininde doku ile, Duthie ve arkadaşları (41) 10 S.L.E. li hasta serumunun 10 nunda normal insan lökositini ile, Alexander ve arkadaşları (35) 12 S.L.E.'li hasta serumunun 12 sininde normal insan lökositini ile ANF reaksiyonu verdiklerini kaydetmektedirler. Weir ve arkadaşları (34) ise, tiroid kesitlerini antijen olarak kullanmışlar ve 63 S.L.E.li serumunun 62 sinde (% 98), Robert (15) ise hem insan lökositini ve hem de insan menşeli olmayan doku kesitlerini antijen olarak kullanmış ve 65 S.L.E.li hasta serumunun 62 sinde (% 98) ANF pozitif reaksiyon kaydetmişlerdir. Bütün bu çalışmalar göstermektedir ki anti-nüklear antikolar ayrı türlerden olan memelilerin dokuları ile hemen hemen aynı derecede reaksiyonlar verirler.

Değişik türlerden memelilerin dokuları neden anti-nüklear antikolarla aynı derecede ve aynı şekilde reaksiyon verirler, sorusunun cevabını bir çok çalışmanın neticeleri vermektedir. Nüklear yapılara karşı teşekkül etmiş olan bu antikoların, hangi nüklear biyokimyasal yapılara karşı meydana geldikleri, bir çok araştırıcı tarafından rapor edildi. Bu antikolar ya DNP, ya DNA veyahut da ne DNP nede DNA ile ilgisi olmayan ve

tabiatı tam olarak tayin edilememiş olan, bir nükleer antijenik yapıya karşı teşekkül ederler. Bu üç cins nükleer antijenik yapıya karşı meydana gelen, üç ayrı cins antikoru ayrı ayrı göstermek mümkündür. Üç cins antikorda çoğu zaman birlikte bulunurlar ve bundan total ANF diye söz edilir. İşte bu antijenik yapılar, bütün memeli nükleuslarında aynı yapısal karakterde olmak üzere mevcuttur (3,17,19,20,22,23,27,28).

Biz çalışmalarımızda normal insan lökositlerini antijen olarak kullandık. 18 S.L.E.'li hasta serumunun 16 sıını ANF pozitif bulduk. % 88.9 oranında pozitif sonuç, diğer araştırmacıların sonuçlarına yakın değerde görülmektedir. Bu hasta serumlarının 4 ü (% 22.2) (+) pozitif, 8 i (% 44.4) (++) pozitif, 4 ü ise (% 22.2) (+++) pozitif olarak değerlendirildi. Tablo 2 de görüldüğü üzere S.L.E.'li hasta serumlarının büyük çoğunluğu yüksek derecelerde pozitif bulundu. Bir çok yazarlar S.L.E.'li hasta serumlarında genellikle yüksek titre veya derecelerde anti-nükleer antikolar bulduklarını bildirmektedirler (14,19,33,34, 38, 40).

S.L.E.'li hastalarda klinik aktivitenin derecesi; serum gama globulin seviyesi, LE hücrelerinin sayısı ve ANF titresi ile korrelasyon gösterir. Hastaya kortikosteroid verilirse LE hücresi fenomeni baskı altında tutulur ve ANA titresi düşer. ANA titresi yükselince klinik aktivite yenilenir (3,15,16,36).

Rheumatoid arthritis'li hastalarda da yüksek oranda ANF antikoları bulunduğu rapor edilmiştir. Ancak rheumatoid arthritis'li hasta serumlarında ki ANF sıklığı S.L.E. deki ANF sıklığına nazaran daha düşüktür. ANF'nin titresi veya derecesi de genellikle S.L.E.'dekinden daha zayıftır. Rheumatoid arthritikli hasta serumlarında ANF sıklığı hakkında farklı değerlere rastlamak mümkündür. Örneğin; Friou (39) 42 Rheumatoid arthrit'li hasta serumundan 4 ünde (% 10), Duthie ve arkadaşları (41) 264 hasta serumundan 127 sinde (% 48), Alexander ve arkadaşları (35) 183 hastadan 118 inde (% 65), Weir ve arkadaşları (34) 132 serumun 19 unda (% 14), ve Robert (15) 190 hastadan 77 sinde (%41) ANF gösterebilmişlerdir.

Biz, Rheumatoid arthritisi'li 19 hasta serumunu indirek floresan antikor tekniği ile tetkik ettik. Rheumatoid arthritisi'li 9 (% 47.3) hasta serumunda (+) pozitif anti-nükleer antikor tesbit ettik. Yüksek derecelerde ANF gösteremedik. (Tablo 2). Gerek boyanma derecesine göre yapılan değerlendirmelerde, gerekse titrasyon çalışmalarında S.L.E. de olduğu gibi yüksek değerler bulmak pek nadirdir.

Rheumatoid arthritisi'lilerde gösterilen antinükleer antikorlara Rheumatoid faktör de denir. Bu antikorlar'da, S.L.E.'li hasta serumlarında bulunan ANF'ler gibi, nükleer materialle reaksiyon vermekle beraber, immunoglobulin yapıları itibariyle farklıdır. S.L.E.'li hasta serumundaki immunoglobulin IgG tabiatında olduğu halde, Rheumatik hastalıklar'daki Rheumatoid faktör veya ANF IgM tabiatındadır. (9, 29) Immunoglobulin yapısı bakımından, bu iki hastalığın oto antikorları arasında, bu kadar açık bir farklılık olmasına rağmen, S.L.E. de olduğu gibi, Rheumatoid arthritisi'li hastalarda da LE hücreleri fenomeni görülmesi, iki hastalığın birbirinden tefrik edilmesinde karşımıza bir güçlük olarak çıkabilir (17).

Klinik olarak kollagen doku hastalığı belirtileri gösterdikleri halde ayırdedilemeyen kollagen doku hastalıklı 42 hasta serumundan 35 i (% 83.3) ANF negatif, 7 si (% 16.7) ANF (+) pozitif bulundu.

Scleroderma, polyarteritis nodosa, dermatomyositis gibi kollagen doku hastalıklarında, en sık ANF gözlenebilen hastalıklardandır. Scleroderma için ANF sıklığı bir çok yazarlara göre yakın değerlerde ve yüksek olmasına karşılık, bazı raporlarda sıklık düşüktür. Ancak ANF sıklığının düşük gözüktüğü bildirimlerde, teste sokulan hasta serumu sayısı az olduğu halde, ANF sıklığının yüksek olarak bildirildiği raporlarda hasta sayısı fazladır.

Weir ve arkadaşları (34) 8 Sclerodermalı hasta serumunda hiç ANF gösterememişken, Bardawil ve arkadaşları (40) 10 vakadan 9 unda, Robert (15) 24 vakadan 21 inde ANF gösterdiklerini rapor etmektedirler ki, bu araştırmacılara göre Scleroderma'da ANF sıklığı % 90 kadardır.

Bizim çalışmalarımızda, 5 Scleroderma'lıdan 1 tanesinde (++) pozitif ANF tesbit edilmiştir. Bu değer, hasta sayısının azlığı sebebiyle, Scleroderma'da ANF sıklığı hakkında gerçek bir fikir vermemektedir.

Bir kollagen doku hastalığı olan polyarteritis nodoza vakalarında da pozitif ANF reaksiyonları gözleendiği bildirilmiştir (7, 35). Tablo 2 de görüldüğü üzere biz 3 polyarteritis nodoza'lı hasta serumundan 1 inde (+) pozitif ANF tesbit ettik.

Kronik lupoid hepatit'lilerin serumlarında gerek kompleman birleşmesi gerekse indirek floresan antikor tekniği ile ANF gösterilmiştir (8, 30, 34). Çalışmamızda 3 kronik lupoid hepatit'li hasta serumunun 1 inde (+) pozitif, 1 inde (++) pozitif ANF bulduk.

Rheumatik fever'li hasta serumları bir çok araştırmacı tarafından incelenmiş ve ANF gösterilememiştir. Bir araştırmacı 56 vakada, bir diğeri 13 vakada hiç ANF pozitif test gözleyememişlerdir (34,39). Rheumatik fever'li 6 hasta serumundan 1 ini (+) ANF pozitif bulduk. Bu Rheumatik fever'e bağlı olmayabilir.

Alexander ve arkadaşları (35) 49 osteoarthritis'linin 11 ini (% 22) ANF pozitif olarak bildirmektedirler. Osteoarthritis'li hasta serumlarında sıklıkta ANF'ye rastlamak çoğu kere mümkündür. Biz ancak 1 osteoarthritis'li serum tetkik ettik ve 1 (+) pozitif olduğunu tesbit ettik (Tablo 2).

Ayrıca doku harabiyeti ve bunun sonucu yeni antijenik yapıların ortaya çıktığı ve bu antijenik yapılara karşı teşekkül eden antikorların, normal doku antijenleri ile kompleks teşkil ettikleri bilinmektedir. (1) Kollagen doku hastalıklarındaki kadar sık ANF reaksiyonu görülmemekle beraber, bu hastalıklarda da ANF tipinde antikorlar bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. (3,8,18,19,34,35).

Tablo 5 Hodgkings, anaplastik epitelial tümör, Turner sendromu, renal hipertansiyon, dermatitis, akut bening perikardit, kardiyomiyopati ve behçet hastalığı olan hastalarda ANF bulunamadığını göstermektedir. Toplam 16 hastadan hiçbirinde ANF reaksiyonu gözlenemedi.

Mikrobiai hastalıkları olan 11 hasta serumu incelendiğinde, 1 akciğer tüberkülozlu hasta serumunda (+) pozitif ANF tesbit edildi (Tablo 6). Ancak bu hastada S.L.E. şüphesi de mevcut idi. Akciğer tüberkülozlu hastalarda ANF arayan araştırmacılar pozitif sonuçlar elde ettiklerini bildirmektedirler (34,35).

Ö Z E T

Sistemik lupus erythematosus ve benzeri kollagen doku hastalıklarının taşhisi yönünden kliniğe yardımcı olmak amacıyla, hastahanemiz kliniklerinde yatan, kollagen doku hastalığı şüpheli 155 hastanın serumunu tetkik ettik.

Çalışmamızda "indirekt floresan antikor tekniğini" kullandık. Antijen olarak normal insan lökositini -harızlanış kolaylığı dolayısıyla- tercih ettik. Difco firmasından getirttiğimiz konjuge anti-insan gama globulinini kullandık.

Sonuçlar kısmında görüldüğü üzere, tetkik edilen 155 hastanın 97 si kollagen doku hastalıkları grubundan, 31 i diğer otoimmün hastalıklar, 11 i mikrobiol hastalıklar ve 16 si çeşitli hastalıklar grubundan idi.

ANF sıklığı, kollagen doku hastalıklarında % 39.1, diğer otoimmün hastalıklarda % 25.8 oranında bulundu.

S.L.E. li hastaların % 88.9 u, reumatoid arthrit'li hastaların % 47.3 ü, ayırdedilemeyen kollagen dokularının %16.7 si ANF pozitif idi.

Kollagen doku hastalığı olan 97 hastanın % 71.1 inin kadın, % 28.9 unun erkek olduğunu tesbit ettik.

Çeşitli hastalıklar grubunda hiç bir pozitif reaksiyon kaydedilemedi.

Mikrobiyal hastalığı olanlardan sadece akciğer tüberkülozlu 1 hastada ANF müsbet bulundu.

Bulgular göstermektedir ki, ANF tesbiti, en çok sistemik lupus erythematosus teşhisinde önemli olabilmektedir. Rheumatoid arthrit ve diğer kollagen doku hastalıklarında, ANF müsbet bulunması teşhis için yardımcı bir bulgu olarak değerlendirilebilir kanaatindeyiz.

Tartışma bölümünde bulgularımız ile diğer araştırmacıların bulguları karşılaştırılmıştır. Sonuçların birbirleriyle **uygunluk** gösterdiği belirtilmiştir.

Yazarlar	Weir, Helberow Johnson	Friou	Alexander		Duthie,		Robert
			Bardawil Toy, Gains Alexander	Bremner Duthie	Bremner Alexander	Duthie	
Tarih	1961	1958	1960	1958	1959	1970	
Ablajon	Tireid	Doku	Insaan		Insaan		Insaan
			Lökosit	Doku	Lökosit	Lökosit	
B.L.E	63	62	35	35	12	12	5
Rheumatoid arthrit	132	19	42	4	183	118	8
Rheumatic fever	56	0	13	0	8	0	3
Scleroderma	8	0	3	1	3	2	10
Polyarteritis nodosa					3	3	
Tiroid hastalıkları	110	14					
Karaciger hastalıkları	39	5					
Akciğer tüberkülozu	65	2			7	3	
Nefeksiyon sonu siroz	9	4			7	2	
Osteoarthritis					49	11	
Haşimato tiroiditis					2	1	
Hyperparathyroidism					2	0	
Çeşitli hastalıklar			257	4	36	7	17
					0		0

Tablo 7. Bazı araştırmacıların buldukları anti-nükleer faktör sonuçları.

K A Y N A K L A R

1. Serter, F ve Bilgehan, H.: Klinik Mikrobiyoloji cilt. 1
1967.
2. Akman, M. ve Gülmezoğlu, E.: Tıbbi Mikrobiyoloji Hacettepe
1966.
3. Peter, H. Schur; "A.N.A." The New England Journal of Medicine
282: 1205, 1970.
4. Feltkamp, T.E.W. and Veen, J.H. Ten; "Drug - induced Anti-
nuclear Antibodies" Abstracts of the VII European Rheuma-
tology congress 1971, 6.3 (den alınmıştır).
5. Walker, S.E. and Bole, G.G.; "Patterns of Response to 17 β -Beta
Estradiol in an Animal Model of Autoimmune Disease".
Abstracts of the VII European Rheumatology congress 1971, 37.1
(den alınmıştır).
6. Altman, H., Eberl, R. and Cabela, E.; "The influence of Radia-
tion on the Production of Anti DNA Antibodies in NZB/NZWF₁
Mice" Abstracts of the VII European Rheumatology congress
1971, 37.2 (den alınmıştır).
7. Vajda, J., Bakos, L., Elias, L., and Köröskenyi; "Serological
Similarities and Differences in Cases of Rheum. arthritis,
Sistemic Lupus Erythemotosus and Hypertensive Vascular
Disease". Abstracts of the VII European Rheumatology congress
1971, 6.5 (den alınmıştır).
8. S.C. Dyke; Recent Advances in Clinical Phathology. Series IV.
1964.
9. D. Carleton Gajdusek; "An Autoimmun Reaction Against Human
Tissue Antigens in Certain Acute and Chronic Diseases"
A.M.A. Archives of int. Medicine 101: 9, 1958.

10. Nobuo Watanabe, Herbert M. Fisher, and Wallace V. Epstein; "Specificity and Reactivity of Cytoplasmic and Nucleolar Antibody in S.L.E. sera". *Arthritis and Rheum.* 12: 173, 1969.
11. Ed Lamon and J. Claude Bennett; "Determination of Antiribosomal Antibodies in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Preliminary Identification of Antigen". *Arthritis and Rheum.* 12: 310, 1969.
12. Benjamin C. Sturgill and Robert R. Carpenter; "Antibody to Ribosomes in Systemic Lupus Erythematosus". *Arth. and Rheum.* 8: 213, 1965.
13. Helmuth R. G. Deicher, Halsted R. Holman and Henry G. Kunkel; "Anti-Cytoplasmic Factors in the Sera of Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Certain other Diseases". *Arth. and Rheum.* 3:1, 1960.
14. Ed. Lamon and J. Claude Bennett; "Antibodies to cytoplasmic antigens in primary biliary cirrhosis and chronic active hepatitis". *Arthritis and Rheum.* 12: 337, 1969.
15. Robert F. Ritchie; "Antinuclear Antibodies Their Frequency and Diagnostic Association". *The New England Journal of Medicine* 282: 1174, 1970.
16. Benjamin C. Sturgill and Merle R. Preble; "Antibody to Ribosomes in Systemic Lupus Erythematosus: Demonstration by Immunofluorescence and Precipitation in Agar". *Arthritis and Rheum.* 10:538, 1967.
17. Robert F. Ritchie; "The Clinical Significance of Titered Antinuclear Antibodies". *Arthritis and Rheum.* 10:544, 1967.
18. George J. Frison; "Antinuclear Antibodies: Diagnostic Significance and Methods". *Arthritis and Rheum.* 10:151, 1967.

29. Barnett, E.V., Condemi, J.J., Leddy, J.R., and Vaughan, J.H.;
"Gamma₂, gamma_{1A}, and gamma_{1M} antinuclear factors in
human sera" J.clin.invest. 43:1104, 1964.
30. V.Faber, P.Elling, G.Norup, B. Mansa, and N.I.Nissen.;
"An Antinuclear Factor specific for Leucocytes". Lancet
2:344, 1964.
31. Kathryn H.Svec; "Immunologic and Clinical Observations of
Granulocyt-Specific Antinuclear Antibodies". Arthritis
and Rheum. 12:165, 1969.
32. K.Couchman, Deborak Doniack, I.M.Roitt; "Antinuklear Faktor"
Lancet 1, :669+670, 1961.
33. E.J.Holborow, D.M.Weir, and G.D.Johnson.; "A serum Factor
in Lupus Erythematosus with Affinity for Tissua Nuclei".
Brith. Med.J. 732-34, 1957.
34. D.M.Weir, E.J. Holborow, G.D.Johnson.; "A clinical Study
of serum Antinuclear Factor". Brith. Med.J. 1:933, 1961.
35. W.R. M.Alexander, Joan M.Bremner, and J.J.R. Duthie;
"Incidence of the Anti-Nuclear Factor in Human Sera".
Ann. Rheum. Dis. 19:338, 1960.
36. J.P. Castanedo, James C. White And Ralph. C.Williams, JR.;
"Anti-Nuclear Antibodies in Normal human Subjects"
Arthritis and Rheumatism. 10:431, 1967.
37. Viggo Faber and Preben Elling.; "Leucocyte Specific Anti-
Nuclear Factors in Potients with Felty's Syndrome, Rheumato-
id Arthritis Systemic Lupus Erythematosus and other Diseases".
Acta Med. Scand. 179:259, 1966.

38. Preben Elling.; "Reaction of Antinuclear Factors with Polymorphonuclear Leucocytes". Acta path. et microbiol. Scandinav. 68:281-292, 1966.
39. George J.Friou.; "The significance of the Lupus Globulin Nucleoprotein Reaction". Ann. of Internal Med. 49:866, 1958.
40. Wadi A.Bardawil, Benjamin L. Toy, and Nora Galins.; "Disseminated Lupus Erythematosus, selenoderma And Dermatomyositis As Manifestations of sensitization to DNA. Protein". Amer. J. of Path. 34:607, 1958.
41. Duthie. J.J.R. Bremner, J.M. and Alexander.; "ANF" Communication to the Fourth European Rheumatological Congress, 1959 İstanbul. Ann. of the Rheum. Dis. 19; 338, 1960 dan alınmıştır.
42. Kathryn H.Svec and Bruce C.Veit; "Age-Related Antinuclear Factors immunologic Characteristics and Associated Clinical Aspects". Rheum. and arthritis 10:509, 1967.
43. Glenn M.Clark, Stanley Kaplan and David Mills.; "Antinuclear Factors in Noman with Periodic Arthritis". Arth.Rheum. 9:498, 1966.