



Otoimmün Hastalıklar & Otoantikorlar

Dr. Tercan US
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Otoimmün hastalıklar;

- enflamasyona sebep olan
- doku ve organlara hasar veren
- vücudun kendi hücre ve dokularına karşı immün reaksiyonlarla oluşur.
- Toplumun → %5 'ini etkiler

Otoimmün hastalıkların sınıflandırılması

Organ Spesifik Otoimmün Hastalıklar	Sistemik Otoimmün Hastalıklar
Hashimoto Troiditi Otoimmün Hemolitik Anemi Pernisiyöz Anemi Addison Hastalığı Otoimmün Ensefalomiyelit Goodpasture Sendromu Otoimmün Trombositopeni Myastenia Graves Toksik Guatr İnsüline Bağlı Diabetes Mellitus Aktif Kronik Hepatit Ülseratif Kolit Primer Biliyer Siroz	Romatoid Artrit Sistemik Lupus Eritematozus Sjögrens Sendromu Skleroderma Polimiyozit-Dermatomiyozitis Reiter Sendromu Karışık Bağ Dokusu hastalıkları (MCTD)

Otoantikolar

- Öz antijenlere karşı gelişen özgül antikorlar
- Öz antijenler
protein,
glikoprotein,
nükleik asit,
fosfolipit, glikosfingolipit yapısında olabilir
- **Serum**, vücut sıvıları, dokuda bulunabilir

Otoantikolar

- Genellikle IgG
- Affiniteleri yüksek
- Kompleman bağlar
- OIH sebebi veya sonucu olabilirler
- Hüморal immün cevaba bağlı otoimmün hastalıklar, belli otoantikolar ile tanımlanır
- SLE → 100'den fazla otoantikor

**Tablo 2. Bazı Otoimmün Hastalıklarda
Otoantijen-Otoantikor ilişkisi**

Hastalık	Otoantijen	Otoantikor
Hashimoto tiroiditi	Tyroglobulin	Anti Tg
Kronik Aktif hepatit	Düz kas	ASMA
Good Pasteur Sendromu	Glomerul bazal membranı	Anti GBM
Primer Biliyer Siroz	Mitokondri	AMA
Romatoid Artrit	IgG,DNA,kollajen	RF, ANA
SLE	RANA,Nükleoprotein, DNA,RNA	Anti DNA, Anti nRNP/Sm, Anti histon
Sjögren Sendromu	Jo,La	Anti-SS-A, Anti-SS-B
MCTD	ENA	Anti ENA

Otoantikörlerin Klinik Önemi

- Otoimmün hastalıkların;
 - tanısında
 - izlenmesinde
 - sonucunun tahmin edilmesinde temel rol oynar
- Sağlıklı kişilerde oluşacak hastalığın prediktif markerleri olarak kullanılabilir
- Otoantikörler hastalıkların sınıflandırılmalarında / bir hastalığın alt gruplarının belirlenmesinde yardımcı



ANCA ile ilişkili vaskülit altgrubu

- 
- Otoantikorlar, klinik tablo ile birlikte değerlendirilmeli
 - Klinik bulgu olmaksızın , tek başlarına varlıkları kesin tanı koydurucu değildir.
 - Çoğu otoantikor hastalık aktivitesi ile korelasyon göstermez. İstisna durum:SLE:ds-DNA, vaskülit:PR3
 - Bazı otoantikorların klinik önemi bilinmiyor.

Otoantikör gerektiğinde istenmeli !

- Bir klinisyen neden istediğini ve nasıl değerlendireceğini bilerek otoantikör tayini istemelidir.
- Rastgele istenen testler gereksiz tekrar, ekonomik kayıp ve hasta açısından endişeye yol açmaktadır.

Otoantikörlerin Laboratuvar Tanı Yöntemleri

- İmmünokimyasal metodlar;
 - İndirekt immünfloresan (İİF)
 - Kompleman fiksasyon
 - Pasif aglütinasyon
 - İmmündifüzyon
 - Counter immünelektroforez
 - İmmünopresipitasyon
 - İmmünoblot (Lineblot/dotblot)

Otoantikörlerin varlığı ya da yokluğunu tanımlayan kalitatif değerlendirmeler

- İmmünometrik metodlar;
 - ELISA
 - Radioimmünassay
 - Fluoroimmünassay
 - Kemiluminesens immün assay

Otoantikör konsantrasyonlarının kantitatif ölçümü

İndirekt İmmünfloresan (İİF)

Serumda bulunan bir çok otoantikorun tanımlandığı en çok kullanılan test

*Substrat:memeli dokuları

*Rat karaciğer, böbrek,mide

Dondurulmuş dokuların cryostattatta kesitleri alınarak hazırlanır

Kesitler, cam lamın çukurcuklarına yerleştirilir ve sabitlenir

İndirekt İmmünofloresan (İİF)

Floresan mikroskopta
değerlendirilir



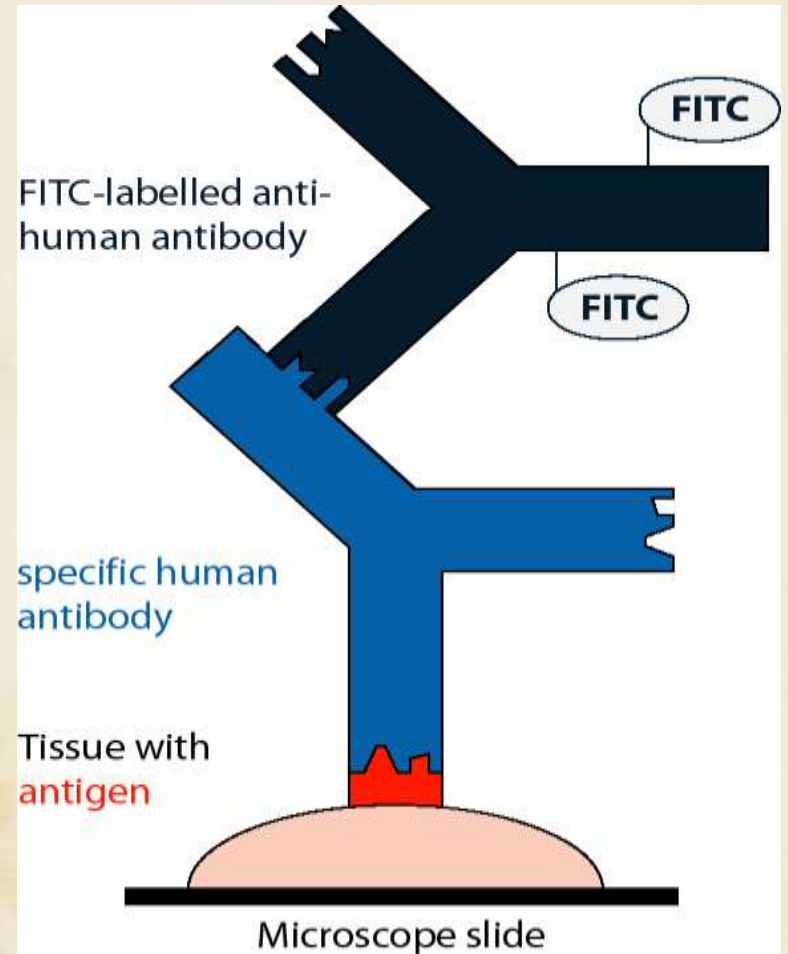
Floresan (FITC) işaretli
anti human immünglobulin



Hastanın serumundaki
otoantikörler
Doku ve hücreye bağlanır

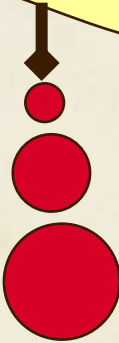


Doku ve hücre örnekleri



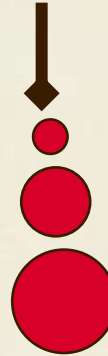


ANA



-HEp-2
hücreleri
-Human larinks
karsinoma
hücreleri
+
Maymun
Karaciğer

dS(DNA)



Crithidia luciliae
içeren slaytlar
(DNA'dan zengin
bir kinetoplastı
sahip olan
protozoan)



HEP-2 Hücresinin Avantajları

HEp-2 hücreleri büyük nukleusludur.

*Nükleer ve sitoplazmik yapılar iyi tanınır.

*Hücrelerin yorumu kolaydır.

*Siklusa spesifik antijenler kolay tanınır.

İndirekt İmmunfloresanın avantajları

- *Substratların hazırlanması kolay
- *Vizüel ayrımla yüksek duyarlılık
- *Bu metodla 1000 farklı test parametresi
Anti GBM, anti bazal membran, ANA, Endomisyum...
- *Bir substratla 30 farklı otoantikor
ANA homojen, sentromer, granüler, sitoplazmik...

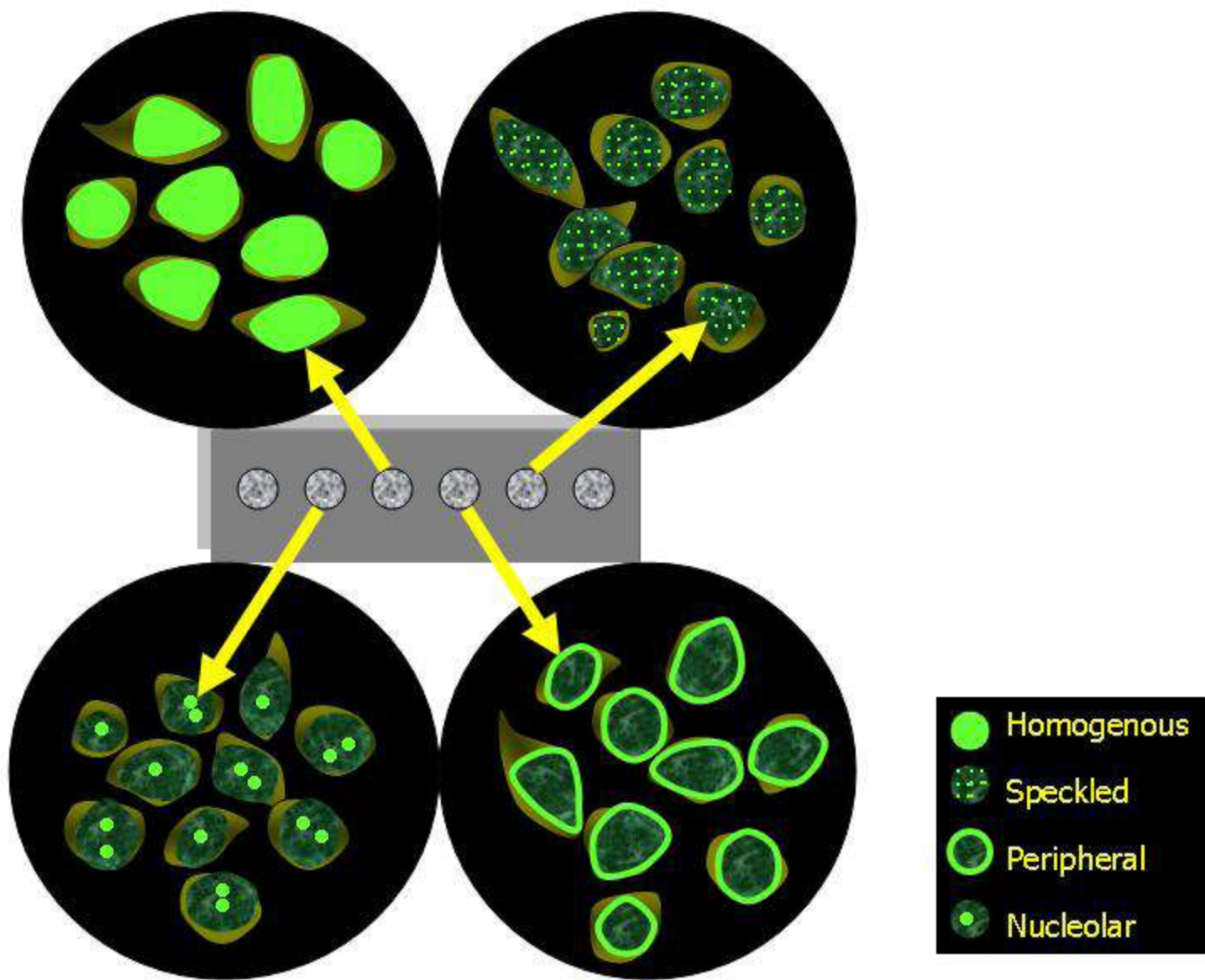
İlk Dilüsyon

GRUP 1

- 1:10'luk dilüsyonla çalışılanlar
- organ spesifik antikorlar
- ANCA
- dsDNA'ya karşı antikorlar

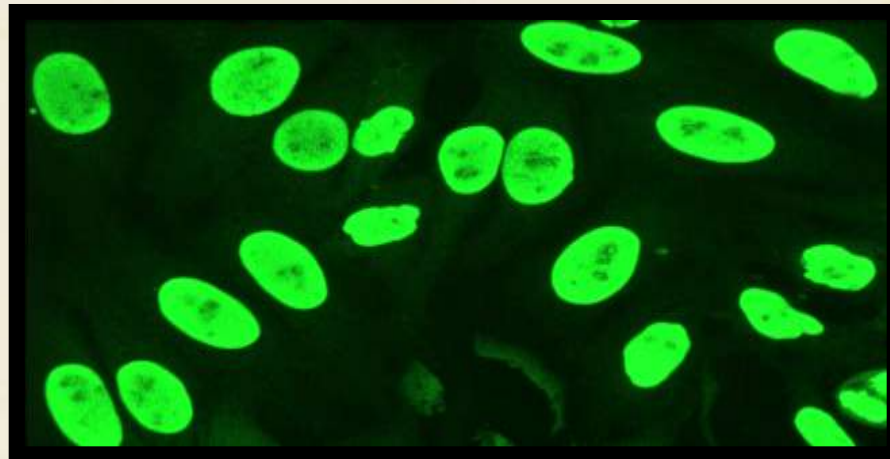
GRUP 2

- 1:100'lük dilüsyonla çalışılanlar
- ANA
- AMA, ASMA
- iskelet kaslarına karşı otoantikorlar



Antinükleer antikor (ANA)

- Hücrelerin nükleuslarında bulunan antijenlere karşı oluşan bir grup antikoru tanımlar.
- Hedef antijenler genellikle protein ve nükleik asit komponentleri içeren büyük komplekslerdir
- Genellikle **ilk tarama İFA** ile yapılır.
- **Alt grupların belirlenmesi ve miktar tayini :**
ELISA,IB gibi çok değişik metodlar kullanılabilir.



ANA Titreleri: Sağlıklı bireylerde

Sağlıklı bireylerde de bulunur

❖ 1:40	%20-30
❖ 1:80	%10-12
❖ 1:160	% 5
❖ 1:320	%3

ANA için kabul edilen pozitif titre 1:100 ve üzeridir

ANA TESTİNİN YARARLI OLDUĞU HASTALIKLAR

HASTALIK	ANA pozitiflik oranı %
TANI İÇİN ANA TESTİNİN ÇOK YARARLI OLDUĞU HASTALIKLAR	
SLE	95-100
Sistemik sikleroz (Skleroderma)	60-80
TANI İÇİN ANA TESTİNİN BAZEN YARARLI OLDUĞU DURUMLAR	
Sjögren sendromu	40-70
Dermotomiyozit/Polimiyozit	30-80
HASTALIĞIN TAKİBİ VE PROGNOZUNDA ANA TESTİNİN YARARLI OLDUĞU DURUMLAR	
Üveyitle birlikte olan juvenil kronik oligoartiküler artrit	20-50
Raynaud fenomeni	20-60
POZİTİF ANA TEST SONUCUNUN TANI KRİTERLERİNDEN BİRİ OLDUĞU DURUMLAR	
İlaca bağlı SLE	-100
Otoimmün karaciğer hastalığı	-100
Yumuşak bağ dokusu hastalığı	-100

ANA TESTİNİN YARARSIZ OLDUĞU HASTALIKLAR

Romatoid Artrit	30-50
Mültiple skleroz	25
İdyopatik trombositopenik purpura	10-30
Tiroid hastalıkları	30-50
Diskoid lupus	5-25
İnfeksiyon hastalıkları	Değişken
Maligniteler	Değişken
Silikon meme implantlı hastalar	15-25
Fibromiyalji	15-25

ANA RAPORLAMA

ANA(IFA) sonuçları--> pozitif / negatif

Pozitifse--> patern ve son titre rapor edilir.

Zayıf pozitif sonuçlar → zayıf pozitif ya da sınırda pozitif şeklinde rapor edilerek takibe alınır

ANA IFA BOYANMA PATERNİ / ANTİJEN / HASTALIK İLİŞKİSİ

ANA/ BOYANMA	ANTİJEN	HASTALIK
Homojen/Diffüz	Kromatin,histon,ds DNA, nükleozom	SLE,ilaca bağlı SLE,sistemik skeleroz
Periferal	nükleer por(laminler A,B,C,)	Fosfolipid sendromu, otoimmün hepatit, PBS
Benekli (granüler)	DNA harici antijenler(ENA): Sm,RNP ,SS-A,SS-B PCNA,Ku, Mi -2	SLE,Sistemik sklerozis,Sjögren sendromu,neonatal lupus, MCTD
Nükleer dot/Sentromer	Anti-sentromer (CENP-A,B,C), Sp100	Raynoud fenomeni, sistemik sklerozis, PBC
Nükleolar	Nükleolar RNA (Fibrillarin,RNA P I, Scl-70, PM/Scl(70-100)	Sistemik sklerozis, PM, DM
Sitoplazmik	Organeller:ribozom,mitokodri,li zozom,golgi,tRNA ,Rib P proteinleri	PM,DM,SLE,Sjögren,PBS ,SS

BAZI OTOİMMÜN HASTALIKLARLA İLİŞKİLİ ANA ALT TIPLERİ

Hastalık	İlişkili antikorlar
SLE	Anti-dsDNA, Anti-Sm, Anti-nRNP/Sm, Anti-Rib-PProtein, Anti-PCNA, Nükleozom
Sjogren's	Anti-SS-A (Ro-60), Anti-SS-B (La)
Scleroderma	Anti-Scl-70, Anti-RNA polimeraz I/III, Anti Fibrillarin, Anti-Th(7-2) ribonikleroprotein, Anti-Sentromer
Miyositis	Anti-Jo-1, Anti-PL-7, Anti-PL12, Anti-EJ, Anti-OJ, Anti-Mi2,

SLE'de karakteristik otoantikorlar

Antikorlar

ssDNA

dsDNA

Histon

Nukleozom

U1nRNP

Sm

SS-A

SS-B

Prevalans (%)

70-95

30-90

50-80

50-95

15-40

5-30

20-60

10-20

Sjögren sendromunda karakteristik otoantikorlar

Antikor

SS-A

SS-B

Romatoid Faktör

Ro-52

Prevalans (%)

60-80

40-95

60-80

81

Progresif sistemik sklerozda(Diffüz Form) karakteristik otoantikorlar

Antikor

Scl-70

RNA Polimeraz1/111

Fibrillarin

Anti-Th(7-2 RNP)

Sentromer

Prevalans(%)

50

21

5-10

4

8

Progresif sistemik sklerozda(Limited Form) karakteristik otoantikorlar

Antikor
sentromer
scl-70

prevalans(%)

80

10

Polimiyozit ve dermatomyozitte karakteristik otoantikorlar

Antikor

Jo-1

Pm-scl

Mi-2

Ku

Pl-7,Pl-12

Ro-52

Prevalans(%)

25-35

8

5

3-5

3-4

31



Otoimmün Karaciğer Hastalıklarında Tanısal Otoantikorlar

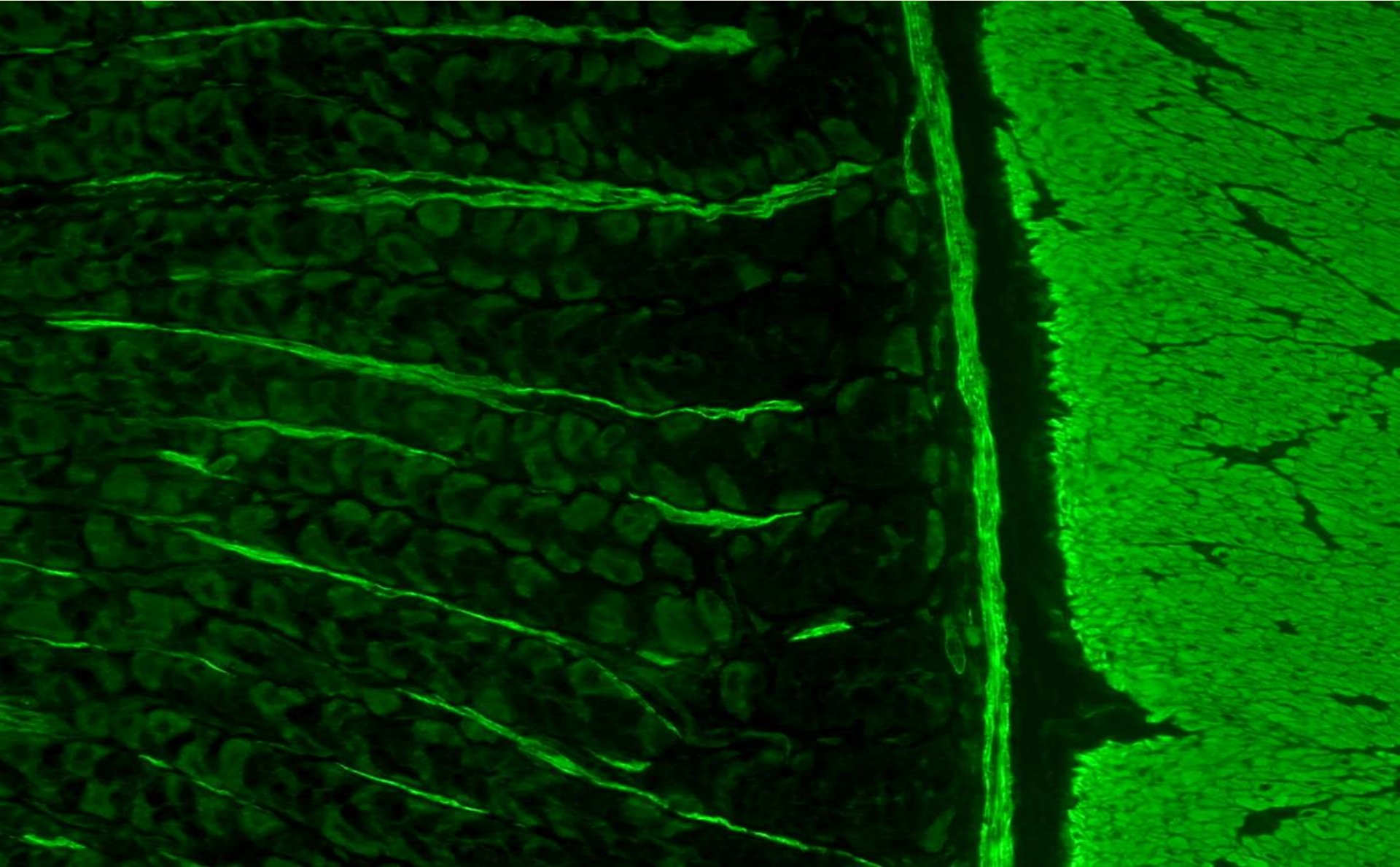
- Tip I Otoimmün Hepatit: ANA, ASMA
- Tip II Otoimmün Hepatit: LKM-1
- Tip III Otoimmün Hepatit: SLA/LP
- Primer Biliyer Siroz: AMA, Sp-10, gp210
- Primer Sklerozan Kolanjit: ANCA

Düz kas hücrelerine karşı otoantikorlar (ASMA)

- İskelet proteinlerine karşı oluşur. (aktin, troponin gibi)
- Rat midesi, Ösofagus, intestinal doku
- Rat midesinde: Tunica muscularis, lamina muscularis mucosa, tunica mucosadaki interglandüler kontraktıl fibrillerde tutulum

- Otoimmün hepatitli hastaların %87'sinde pozitif (%54 ANA ile birlikte, %33 tek başına)

Rat mid: ASMA

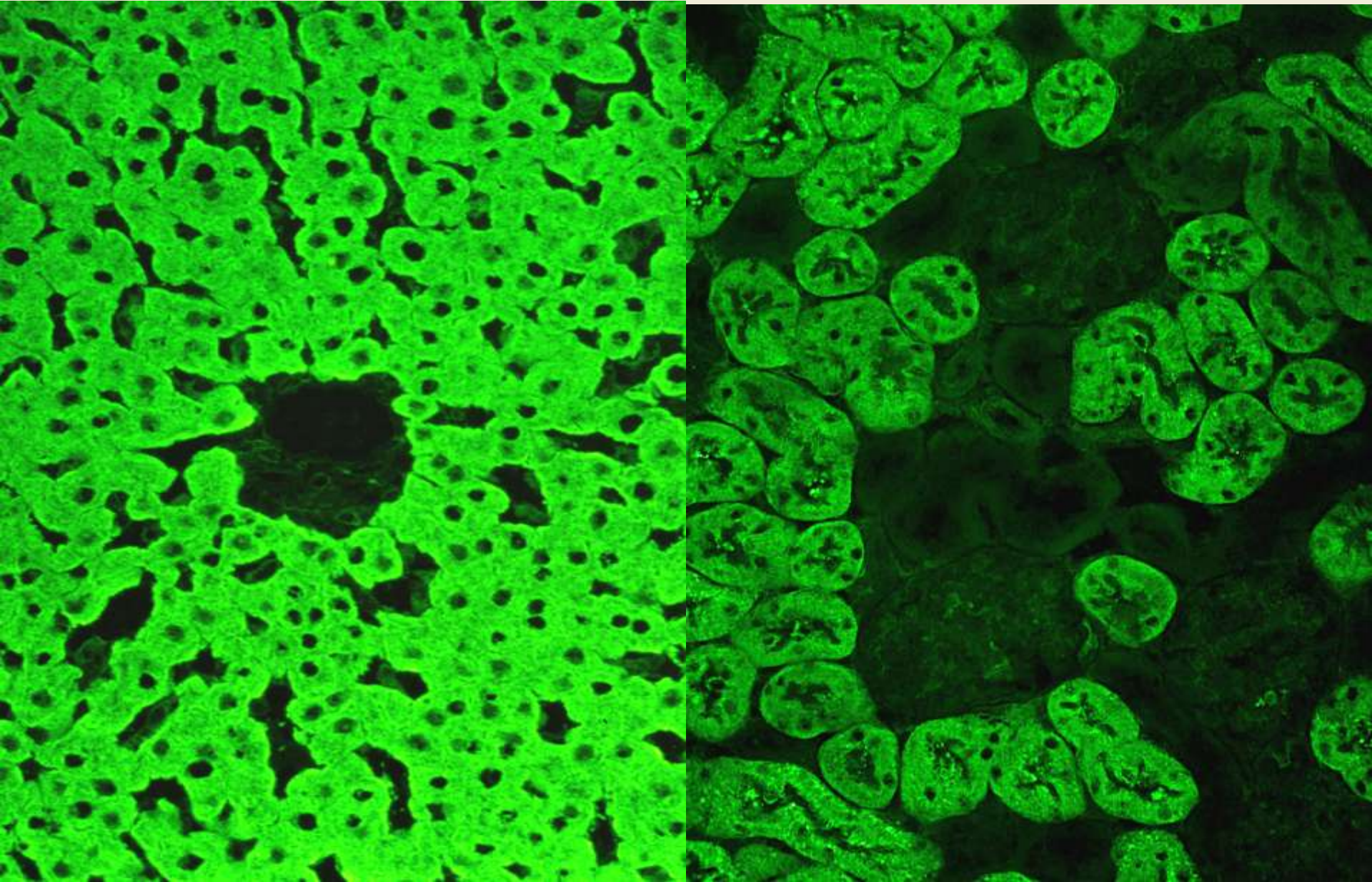




Karaciğer-Böbrek Mikrozomlarına karşı otoantikorlar(LKM)

- LKM-1(cytochrom P450 IID6)
- IFA testi, kolay ve ucuz
- Standart substrat: Rat böbreği ve rat karaciğeri
- Standart patern:Proksimal tubüllerin boyanması (distal tübüller boyanmadığından heterojen görüntü)

Rat karaciğer, rat böbrek: LKM

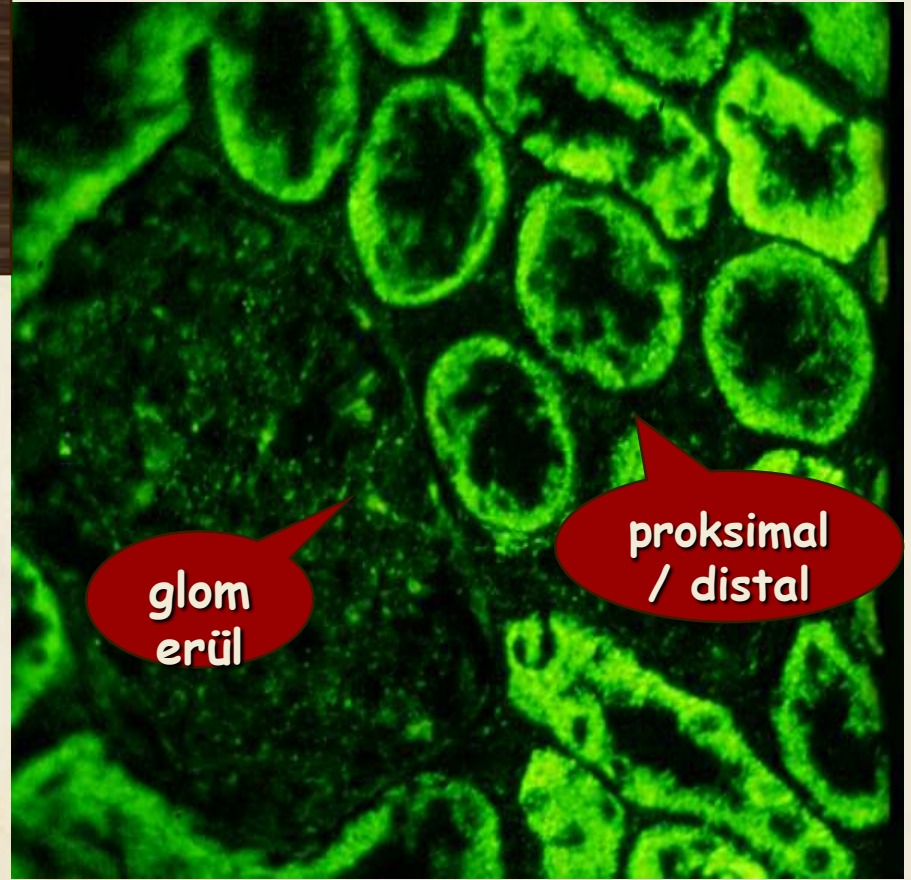


AMA

Endoplazmik Retikulum
tarafından
eksprese edilen
antijenlere karşı oluşur.

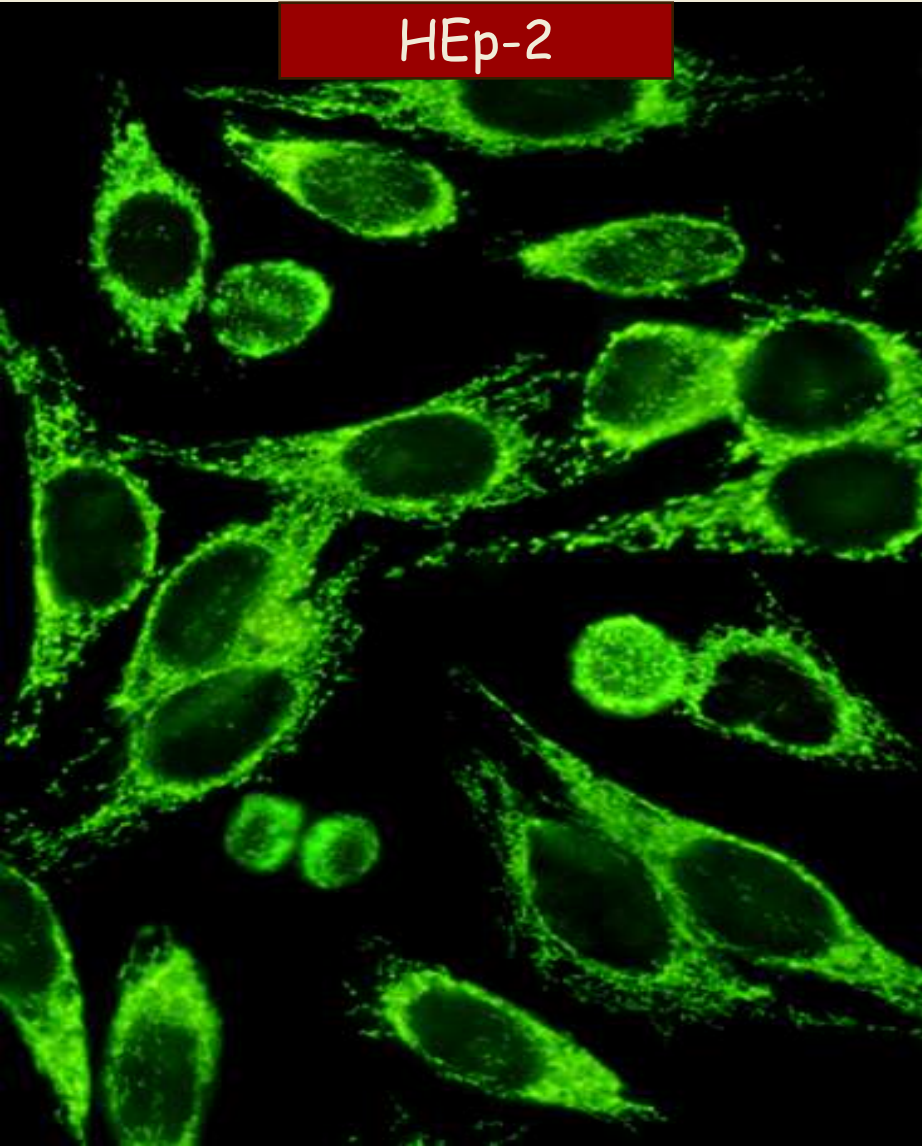
IFA testi ucuz ve
pratik
Standart substrat:
rat/mouse böbreği

AMA tarama:
proksimal ve distal
tubuller eşit miktarda
floresan verir

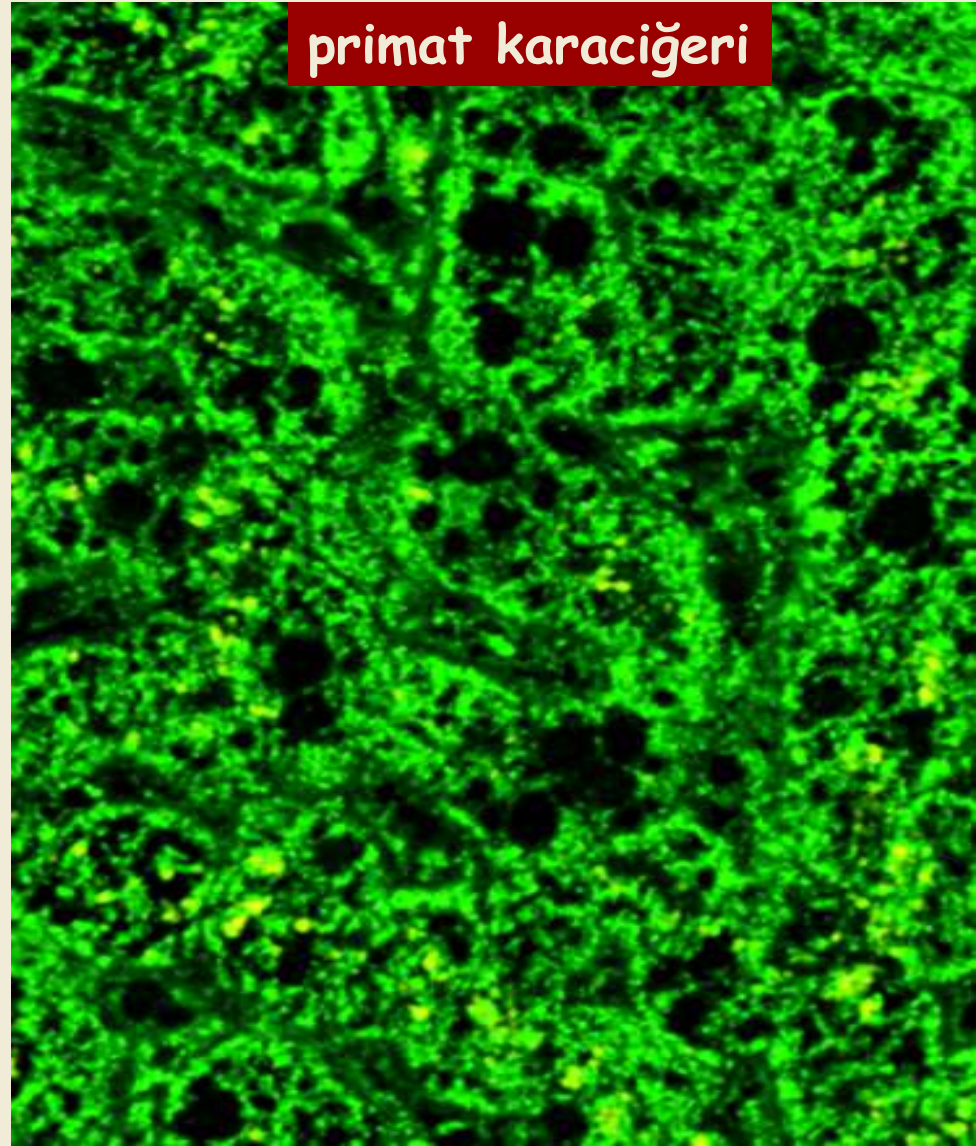


Anti-Mitokondri Antikoru (AMA)

HEp-2



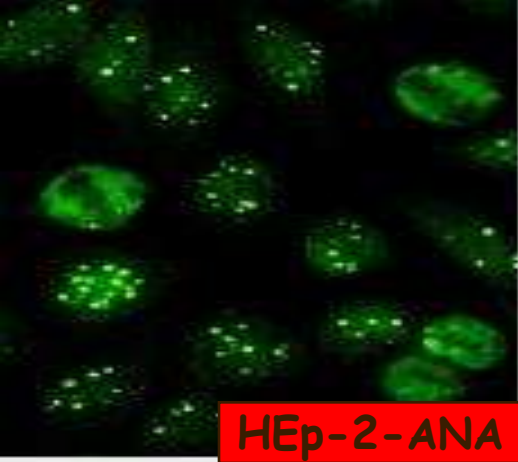
primat karaciğeri



PBC'de Otoantikokorlar

- AMA 1-9 Tipi var.
- **AMA M2 Pyruvate dehydrogenase complex** %95
- **AMA M4 :Sulfite oxidase (geç dönem)** %40-60
- **AMA M9 Glikogen phosphorilase (erken marker)** %35
- Sp-100 (nükleer noktalar) %30
- gp-210 (nükleer membran) %10-30

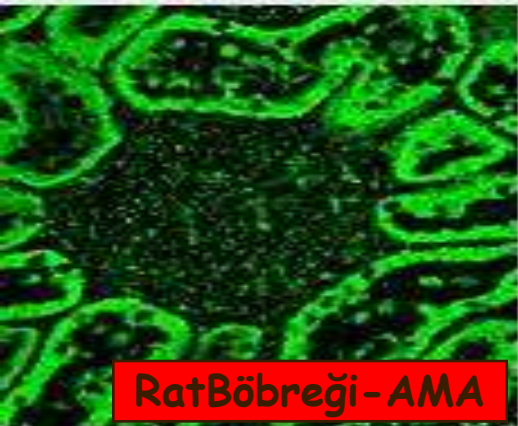
Otoimmün Karaciğer Hastalıkları ilişkili otoantikörler



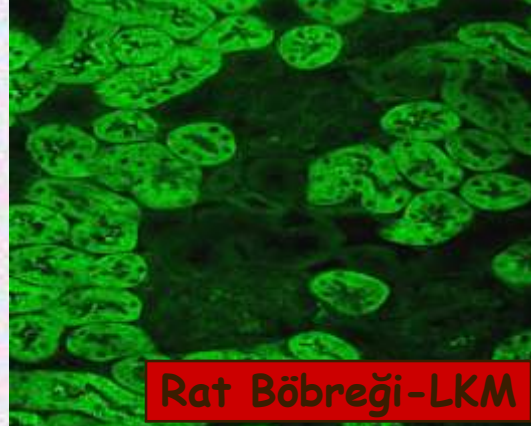
HEp-2-ANA



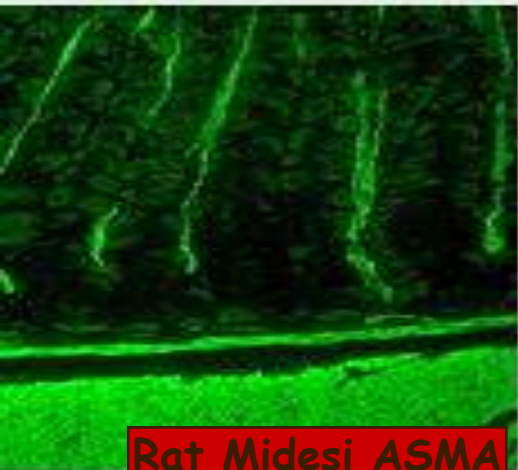
Maymun KC-Anti-LSP
(liver spesifik protein)



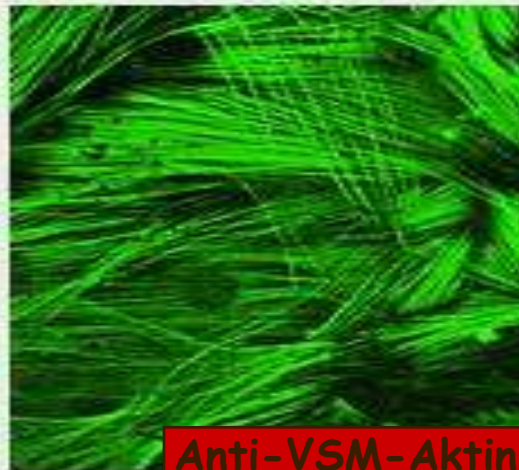
Rat Bubreği-AMA



Rat Bubreği-LKM



Rat Midesi ASMA



Anti-VSM-Aktin

ANTI-NÖTROFİL SİTOPLAZMİK ANTİKORLAR

Lökosit lizozomal granül proteinlerine karşı gelişen otoantikordır.

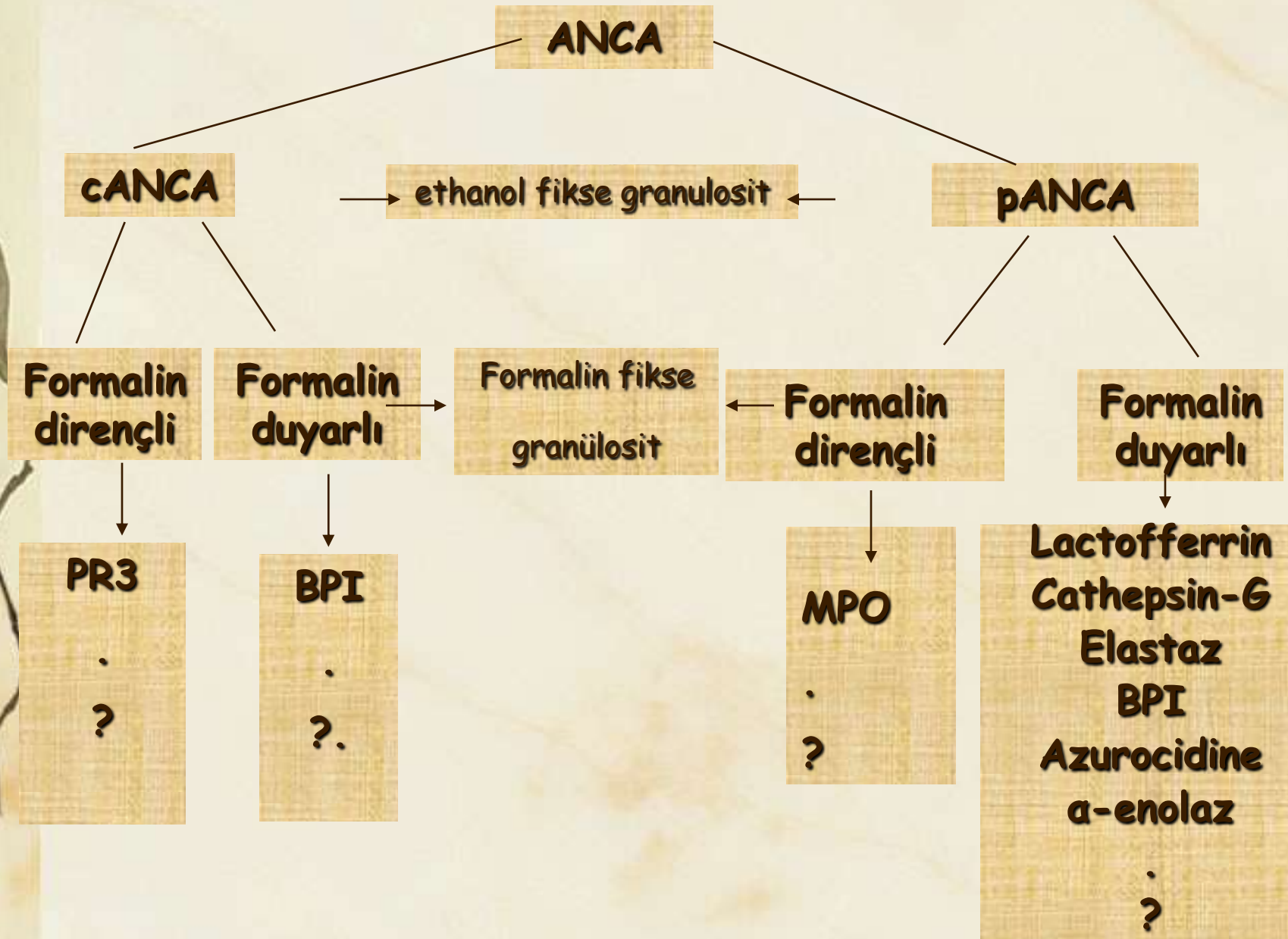
Mikroskopik görünümüne göre 3'e ayrılırlar:

- ▶ Perinükleer boyanma gösterenler (pANCA)
- ▶ Diffüz sitoplazmik boyanma gösterenler (cANCA)
- ▶ Atipik boyanma gösterenler (aANCA)

ANCA ve Vaskülitler

HASTALIK	cANCA	pANCA
	%	%
Wegener Granülomatozu	80-95	5-20
Mikroskopik polianjiit	20-40	60-80
Churg-Straus Sendromu	5-20	5-20
Poliarteritis Nodoza	0-10	20-40
Kawasaki Hastalığı	?	?
Behçet Hastalığı	-	-
Henöch-Schönlein Purpurası	-	-
Takayasu Arteriti	-	-
Dev Hücreli Arterit	-	-

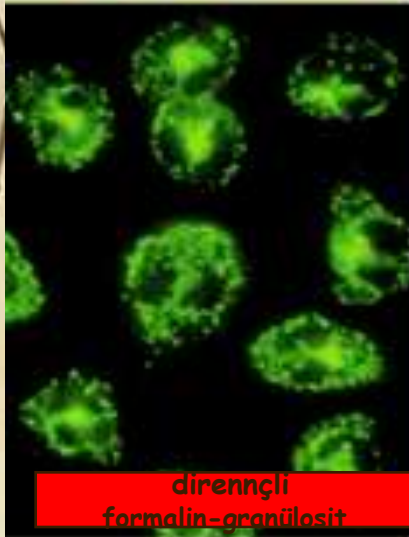
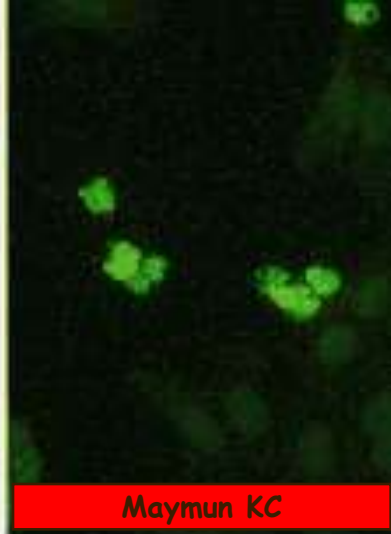
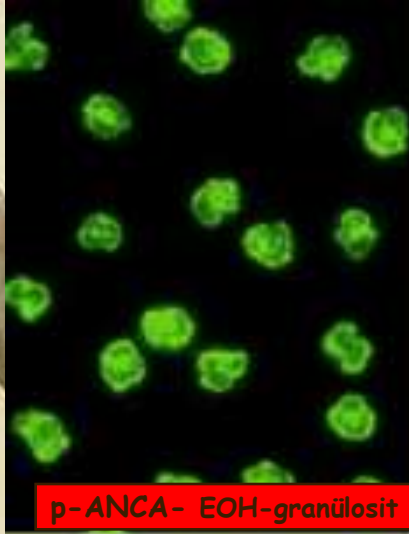
ANCA Tiplendirme



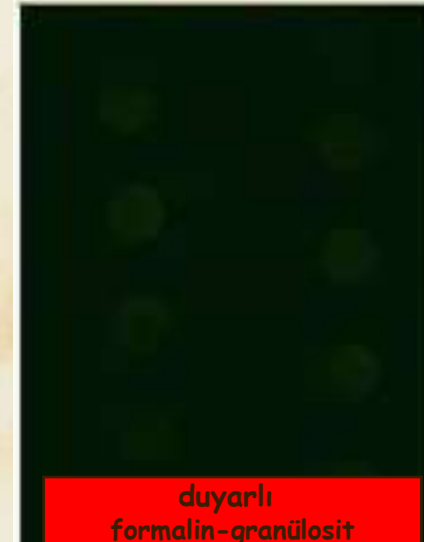
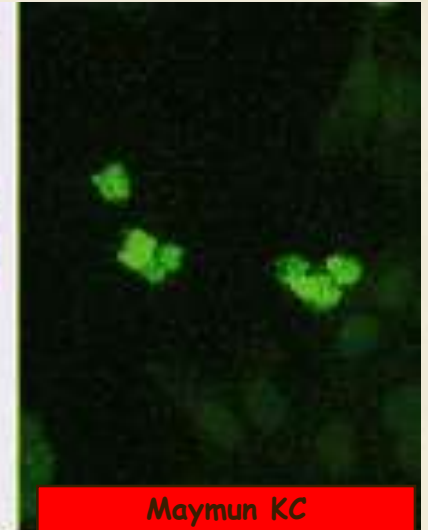
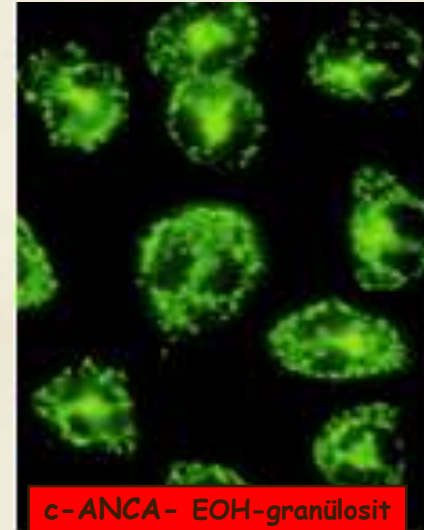
ANCA /İlişkili antijen / Hastalık

Boyanma Tipi	İlişkili Antijen	Hastalık
cANCA	Proteinase 3	Wegener's granulomatosis
pANCA	Myeloperoxidase	Microscopic arteritis, Churg-Strauss syndrome, polyarteritis nodosa
pANCA	Elastase	Ulcerative colitis, Crohn's disease, primary sclerosing cholangitis, systemic lupus erythematosus
pANCA	Kathepsin G	Ulcerative colitis, primary sclerosing cholangitis, Crohn's disease
pANCA	Lysozym Colitis	Ulcerative colitis, primary sclerosing cholangitis, Crohn's disease
pANCA	Laktoferrin	Ulcerative colitis, primary sclerosing cholangitis, Crohn's disease, systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis
pANCA / cANCA	BPI	Primary sclerosing cholangitis, ulcerative colitis, or pANCA Crohn's disease
pANCA	bilinmiyor	Ulcerative colitis, Crohn's disease

p-ANCA formalin dirençli



c-ANCA formalin duyarlı





Mide Paryetal hücrelerine karşı otoantikörler(PCA)

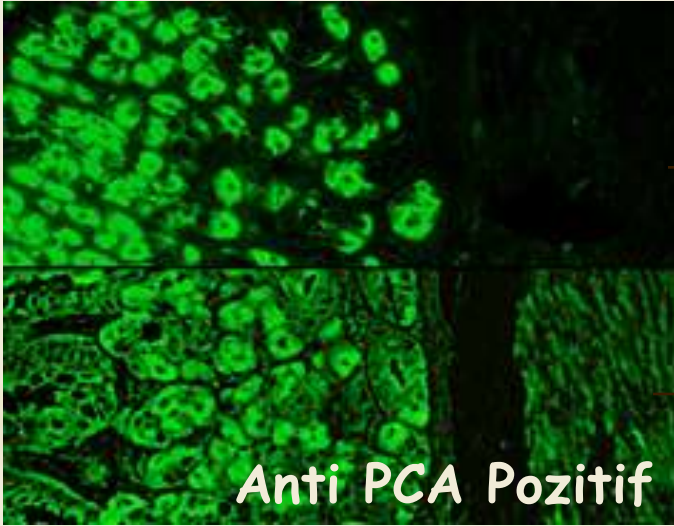
Mide hastalıkları: Otoimmün gastrit, pernisiyöz anemi tanısında önemlidir.

Basedow, Addison gibi endokrinopatilerde de görülebilir.

Standart substrat: Primat midesi

Üre glisin buffer; PCA -AMA ayırımı

Anti -PCA ve AMA ayrımı



→ Üre ile muamele edilmiş alan

→ Üre ile muamele edilmemiş alan



→ Üre ile muamele edilmiş alan

→ Üre ile muamele edilmemiş alan

Gluten Sensitif Enteropati (GSE)

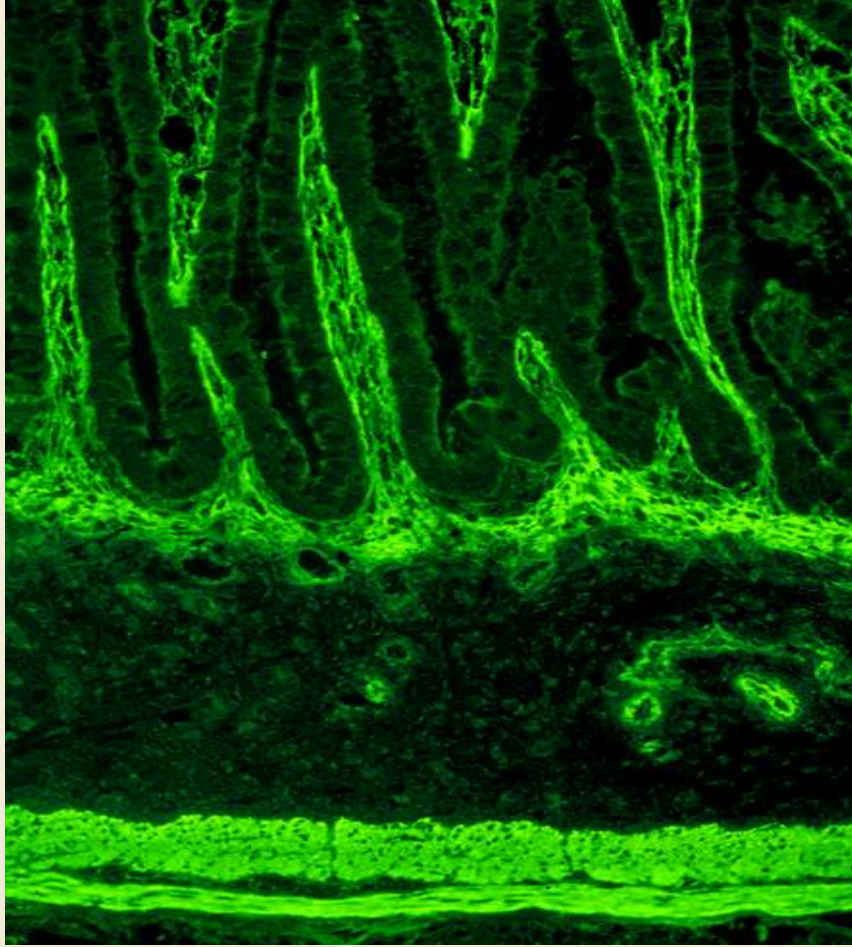
- Çölyak hastalığı
- Glutene karşı toleranssızlık ile seyreden GIS tutulumlu otoimmün hastalık.
- Bu hastalarda yalnız gliadine karşı antikorlar değil aynı zamanda endomisyuma ve ttg enzimine karşı da otoantikor oluşur.
- Anti-gliadin antikorları ilk tanımlanmış zamanla önemini yitirmiş iken yeni kullanılmaya başlanan peptit yapısındaki antijenlerle tekrar gliadin antikorları önem kazanmıştır.
- Anti- endomisyum antikorları(IFA)
- Endomisyum antikorlarının hedef antijeni transglutaminaz enzimidir.
- Anti-doku transglutaminaz (ELISA)



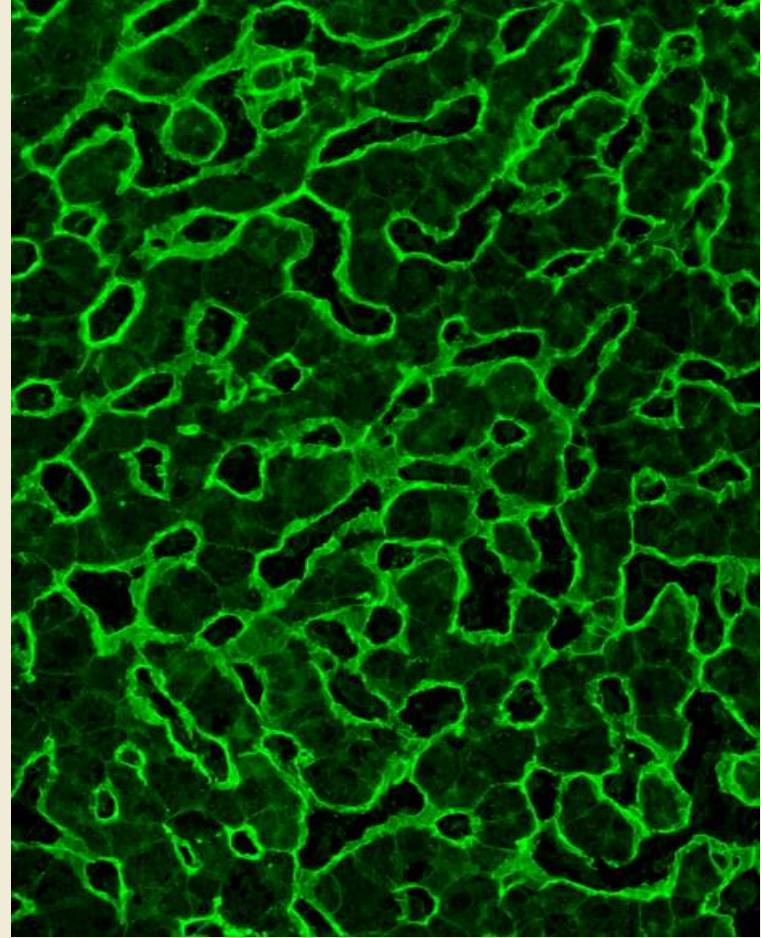
Anti Endomysium Antikor (EMA)IgA,IgG

- Sağlıklı bireylerde pozitif olabilir.
- Endomysium IgA; yüksek spesifite
- Tedavi edilmemiş gluten enteropatisi→%100
- gliadin; progres tayini
- Substrat:Primat ösofagusu, barsağı ve karaciğeri

Endomisyuma karşı antikorlar

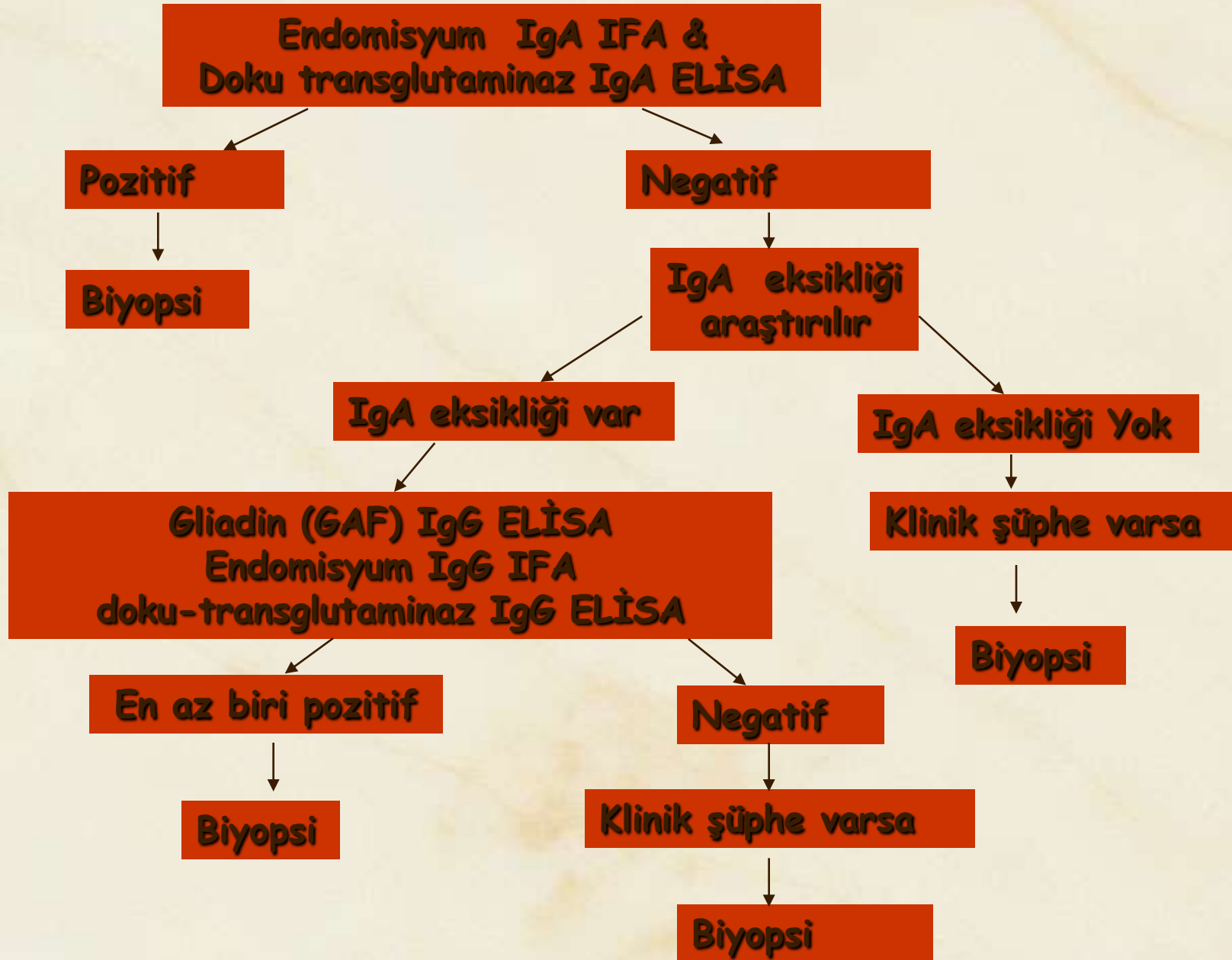


Primate i barsak testine



Primat karaciğer

ÇOLYAK HASTALIĞINDA İLK TANIDA OTOANTİKOR ALGORİTMASI





ÇOLYAK HASTALIĞINDA, TAKİPTE OTOANTİKOR ALGORİTMASI

GELENEKSEL YAKLAŞIM:

Doku transglutaminaz IgA (ELİSA)

Doku transglutaminaz IgG (ELİSA)

Gliadin (GAF) IgA (ELİSA)

Gliadin (GAF) IgG (ELİSA)

ÖNERİLEN:

Doku transglutaminaz IgA (ELİSA)

Gliadin (GAF) IgG (ELİSA)

DİĞER OTOİMMÜN HASTALIKLARLA İLİŞKİLİ OTOANTİKORLAR

OTOANTİKOR	PREVALANS
TİROİD HASTALIKLARI Anti tiroid peroksidaz(IFA,EIA,BLOT) Antitiroglobulin(IFA,EIA,BLOT) Antitirotropin reseptör (EIA)	Graves'te % 57-74 Hashimoto T: %99-100 Hashimoto T: %76-100 Hipertiroidizm:% 33 Graves'te %90
DİABETES MELLİTUS İslet cell antikoru (IFA,EIA,BLOT)	İnsülin dirençli DM 'de %80
ADDİSON Adrenal otoantikorlar (IFA)	Addisonda 2/3 oranında
PEMFİGUS/PEMFİGOİD Desmoglein ve plakoglobuline karşı otoantikorlar(Desmoglein 1 ve 3) BP 230 ve BP 180'ne karşı antikorlar Envoplakin	Pemfigus'ta %80-90 Büllöz pemfigus'ta %90
MYASTENİA GRAVİS Anti-asetil kolin reseptör	Myastenia'da %88 (özelliliği yüksek)



TEŞEKKÜRLER