

*Kısa rapor:*

## Otoimmün hastalıklarda anti sentromer antikorların araştırılması

Mehmet Özdemir<sup>1</sup>, N.Seval Gündem<sup>1</sup>, Muhammed Güzel Kurtoğlu<sup>2</sup>, Bülent Baysal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya

<sup>2</sup>Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya

**Amaç:** Serumda otoantikor aranması son yıllarda otoimmün hastalıkların tanısında ve tedavi takibinde önem kazanmıştır. Anti sentromer antikorlar (ACA) ise başta sistemik skleroz olmak üzere otoimmün hastalıkların pek çoğunda pozitif olarak saptanmaktadır. Çalışmamızın amacı ACA'ların otoimmün hastalıklarla ilişkisini incelemektir. **Yöntem:** Bu çalışmada; 2009 yılında Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarına otoimmün hastalık düşünülerek gönderilen 4450 hastanın serum örneklerinde ACA indirek immünofloresans yöntemi ile belirlenmiş ve kalitatif olarak değerlendirilmiştir. **Bulgular:** Toplam 4450 hastanın 38'inde (% 0.8) ACA pozitif olarak bulunmuştur. 38 hastanın 9'u romatoid artrit, 5'i artrit, 5'i otoimmünite ile ilişkisiz hastalık, 3'ü sistemik skleroz, 3'ü Sjögren's sendromu, 3'ü bağ dokusu hastalığı, 3'ü çeşitli viral infeksiyonlar, 2'si Raynaud hastalığı, 2'si diabetes mellitus, 1'i iridosiklit, 1'i vaskülit, 1'i çölyak hastalığı tanısı almıştır. **Sonuç:** ACA pozitifliğinin otoimmün hastalıklarda tanı açısından önemli yeri vardır. ACA tayini pek çok otoimmün hastalığın tanı ve izleminde istenmesi gereken önemli bir antikordur.

Anahtar kelimeler: Anti sentromer antikor, otoantikor, otoimmün hastalık

### Investigation of anti centromer antibody in autoimmune disease

**Objective:** Autoantibody assays in sera have become more important in the diagnosis and follow up of autoimmune disease in recent years. Anti-centromere antibodies (ACA) in many autoimmune diseases including especially systemic sclerosis have been determined to be positive. The purpose of the study was to investigate the relation of antibody positivity in respect to autoimmune diseases. **Methods:** In this study, ACA in 4450 patients' serum samples which were suspected autoimmune disease sent to Selçuk University Meram Medical Faculty Clinical Microbiology Laboratory in 2009 were determined by the indirect immunofluorescence method and were evaluated qualitatively. **Results:** 38 (0.8%) of total 4450 patient's ACA are determined to be positive. 9 of patients with rheumatoid arthritis, 5 had arthritis, 5 had diseases not associated with autoimmunity, 3 had systemic sclerosis. 3 of 38 patients had Sjögren's syndrome, 3 had various viral infections, 3 had connective tissue disease, 2 had Raynaud disease, 2 had diabetes mellitus, 1 had iridocyclitis, 1 had vasculitis, 1 had celiac disease. **Conclusion:** The positivity of ACA has an important place in the diagnosis of autoimmune diseases. ACA is an important laboratory test for diagnosis and follow-up in many autoimmune diseases.

Key words: Anti-centromere antibody, autoantibody, autoimmune disease

### Genel Tıp Derg 2010;20(4):161-164

Yazışma adresi: Yrd.Doç.Dr.Mehmet Özdemir, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 42080, Akyokuş, Konya

e-posta: mehmetozdem@yahoo.com

Sistemik otoimmün hastalıklar geniş bir spektrum gösterir ve bu hastalıklarda oluşan otoantikorlar tanı amaçlı kullanılır. Toplumda otoimmün hastalıkların % 1-2 oranında olduğu tahmin edilmektedir. Otoimmün hastalıkların hepsinde, hastalığın nedeninden bağımsız olarak saptanabilen

otoantikörler bulunur ve bu antikörlerin saptanması, laboratuvar tanıda oldukça önemlidir (1). Klinik uygulamalarda otoantikörler, tanı kriteri olarak kullanılmakta klinik fenotipi belirlemeye ve hastalığın aktivitesini değerlendirmeye yardımcı olmaktadır (2). Otoantikörler, özellikle klinik bulguları belirgin olmayan hastaların ayırıcı tanısında daha büyük önem kazanmaktadır. Son yıllarda giderek daha fazla sayıda otoantikör tipi tanımlanmakta, tayinlerinde daha duyarlı yöntemler kullanılmakta ve klinik önemleri ile ilgili bilgiler artmaktadır (3).

Anti sentromer antikörler (ACA) ise başta sistemik skleroz olmak üzere otoimmün hastalıkların pek çoğunda pozitif olarak saptanan antikörlerdir. ACA, sklerodermanın bir varyantı olan, kalsinosis olarak adlandırılan sınırlı deri tutulumu, Raynaud fenomeni, özefagus dismotilitesi, sklerodaktili, telenjektazi ile karakterize ve % 55 prevalansı olduğu bildirilen CREST sendromlu hastaların serumunda sıklıkla bulunmaktadır. ACA, nadiren primer biliyer siroz, Sjögren's sendromu, sistemik lupus eritematosus (SLE) veya Raynaud fenomeninde de tanımlanmıştır (4).

ACA, metafazdaki kromatine, özellikle kinetoşora karşı gelişmekte ve CREST sendromunda % 90 oranında pozitif bulunmaktadır. Primer Raynaud fenomeninde ve primer biliyer sirozda da düşük oranda pozitif olabilir (3). Sistemik skleroz, en sık gastrointestinal sistem, akciğerler, kalp ve böbrekler olmak üzere iç organların ve derinin fibrozisi ile karakterize nadir görülen bir bağ dokusu hastalığıdır. Değişiklikler etkilenen organın tutulumuna göre kozmetik sorunlardan hayatı tehdit eden durumlara kadar değişen ciddiyette farklılık göstermektedir. CREST sendromu ise sıklıkla kadınlarda görülmektedir ve 10-15 yıllık Raynaud fenomeni öyküleri, eller, parmaklar, ayak ve ön kola sınırlı cilt tutulumu, tırnak katında kapiller dilatasyon, yüz ve parmaklardaki telenjektazilerin erken başlangıcı söz konusudur. ACA, sistemik sklerozun bir alt tipi olan CREST sendromuna spesifik olduğu bilinmektedir (5).

Konnektif doku hastalıklarında, hücre zarı, hücre reseptörleri, plazma proteinleri, sitoplazmik ve nükleer yapılarla karşı otoantikörler gelişebilmektedir (6). Bir konnektif doku hastalığı olan Primer Sjögren sendromu, aynı zamanda ekzokrin bezlerin kronik

otoimmün hastalığıdır. Tanısı büyük ölçüde anti-SS-A ve/veya SS-B antikörlerinin varlığında keratokonjunktivitis sicca ve kserostomiye dayanmaktadır. ACA bazen primer Sjögren sendromlu hastalarda da bildirilmektedir (7).

Otoantikörlerin tayiniyle hastalıkların alt gruplarının belirlenmesi, hastalık şiddetinin ve tedaviye yanıtların izlenmesi mümkün olmaktadır. ACA da diğer otoantikörlerle birlikte otoimmün hastalıklarda kesin tanının belirlenmesine katkıda bulunmaktadır.

## Yöntem

Bu çalışmada 2009 yılında Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na otoimmün hastalık şüphesi ile çeşitli kliniklerden gönderilen 4450 hastanın serum örneklerinde ACA indirek immunfloresans yöntemiyle belirlenmiş ve pozitif bulunanlar kalitatif olarak değerlendirilmiştir. Alınan kan örnekleri çalışılana kadar en az 3 gün +4 °C'de saklanmış, çalışma başlamadan yarım saat önce buzdolabından çıkarılıp, serum ayırma işleminden sonra indirek immünfloresans yöntemiyle üretici firmanın (Euroimmün, Lubeck, Germany) talimatlarına göre şu şekilde çalışılmıştır:

1. Çalışma başlamadan yarım saat önce kitler çıkartıldı. Fosfat tampon solüsyonu, tween solüsyonu ve konjugat gibi gerekli solüsyonlar hazırlandı.
2. 990 mikron fosfat tampon solüsyonu ve tween solüsyonuna 10 mikron hasta serumu olacak şekilde tüplere dağıtıldı ve 1/100'lük dilüsyon yapıldı.
3. Her birinde 10 adet hasta için kuyucuk bulunan lam alanının (titerplane) her birine 25 mikron dilüe edilmiş serum pipetlenip, üzerine lamel kapatıldı.
4. Hazırlanan lam inkübasyon için 30 dk oda sıcaklığında ve karanlık alanda bekletildi.
5. Fosfat tampon ve tween solüsyonu slide'ın üzerine döküldü ve sonra fosfat tampon ve tween solüsyonu içeren şalede 5 dk bekletildi (yıkama).
6. Yıkanan titerplane'in arkası kurulanıp, hazırlanan konjugattan titerplane'e 20 mikron pipetlendi ve üzerine slide kapatıldı. Daha sonra 4. ve 5. adımlar tekrar edildi.
7. Titerplane'in üzerine lamel konuldu. Üzerine bir damla gliserol fosfat damlatıldı. Yıkanan lamaların

arkası yumuşak kağıtla kurulandı. Lamel üzerine tam oturmasına dikkat edilerek slide kapatıldı.

8. Floresan mikroskopla X 40'lık büyütmeyle karanlıkta değerlendirildi.

## Bulgular

Toplam 4450 hastanın 38'inde (% 0,8) ACA pozitif olarak bulunmuştur (Tablo 1). 38 hastanın 9'u (%23,6) romatoid artrit, 5'i (%13,1) artrit, 5'i (%13,1) otoimmünite ile ilişkisiz hastalık, tanısı almıştır (Tablo 2).

Tablo 1. ACA pozitif hasta sayısı

Toplam	ACA pozitif olgu sayısı	%
4450	38	0,8

Tablo 2. ACA pozitifliklerinin klinik tanıya göre dağılımı

Tanı	ACA pozitif olgu sayısı	(%)
Romatoid Artrit	9	23,6
Artrit	5	13,1
Otoimmünite ile ilişkisiz hastalık	5	13,1
Sistemik Skleroz	3	7,8
Sjögren Sendromu (sicca)	3	7,8
Bağ Dokusu Hastalığı	3	7,8
Çeşitli Viral İnfeksiyonlar	3	7,8
Raynaud Hastalığı	2	5,2
Diabetes Mellitus	2	5,2
İridosiklit	1	2,6
Vaskülit	1	2,6
Çölyak Hastalığı	1	2,6

## Tartışma ve sonuç

Otoimmün hastalıklar, seksenin üzerinde hastalığın heterojen bir grubudur ve bireyin kendi dokusuna yönelmiş patolojik bağışık yanıtlarla karakterizedir. Bu hastalıklar, kadınlarda erkeklere oranla daha yaygın olarak görülmektedir (8). ACA ise başta sistemik skleroz olmak üzere otoimmün hastalıkların pek çoğunda pozitif olarak saptanan antikorlardır (4).

Herrick ve ark'nın yaptıkları çalışmada bir yıldan uzun süredir sistemik skleroz tanısıyla izlenen 60 hastada antikardiyolipin, anti sentromer ve anti-Scl-70 antikor düzeyleri araştırılmış ve ağır periferik iskemi ile ACA ilişkisi bildirilmiştir. Ağır iskemisi olan 31 hastanın 17'sinde, iskemisi olmayan 37

hastanın 9'unda ACA pozitif olarak saptanmıştır (9). Çalışmamızda ACA pozitifliği saptanan 38 hastanın 3'ü sistemik skleroz tanısıyla izlenmektedir. Çalışmamızda kesin tanı konan hastaların oranı Herrick ve ark'nın yaptıkları çalışmada bulunan orandan düşük çıkmış olup bu durumun hasta sayısının az olması ve otoimmün hastalıklarda kesin tanı konabilmesi için ek tetkikler istenmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Romatoid artrit gibi kronik inflamasyon ile karakterize bir otoimmün hastalıkta da otoantikör pozitifliği saptanabilmektedir. Çalışmamızda ACA pozitif bulunan 38 hastanın 9'u romatoid artrit tanısıyla izlenmektedir. Romatoid artrit; kronik ve sistemik bir inflamatuvar hastalık olup, kıkırdak erozyonu, kemikte hasar ve eklemlerin fibröz ankilozuna neden olabilen kronik bir sinovit ile karakterizedir. Bilinmeyen bir antijenik uyarı sonrasında gelişerek eklemden harabiyet meydana getiren romatoid artrit ile postinfeksiyöz olarak gelişen reaktif artrit arasındaki ana patogenetik farklılık bugün tam olarak bilinmemektedir(10).

Sjögren's sendromu, öncelikle ekzokrin bezlerin fonksiyonel bozukluğuna yol açan kronik bir otoimmün hastalıktır ve dokudaki spesifik ve non-spesifik antijenlere karşı gelişen çeşitli antikorların varlığıyla karakterizedir. ANA, primer Sjögren's sendromlu hastaların % 90'ında bulunmaktadır ve daha yaygın olarak Ro veya SS-A ve La veya SS-B olarak bilinen iki ribonükleoprotein antijenine karşı antikor gelişmektedir. Hastalık tek başına görülebileceği gibi veya romatoid artrit gibi diğer otoimmün hastalıklarla birlikte de görülebilir (7). Bundan dolayı çalışmamızda ACA pozitifliği saptanan ve Sjögren's sendromu tanısıyla izlenen hastalarda buna ek olarak başka bir otoimmün hastalığın da var olabileceği düşünülmektedir.

Kitamura ve ark. ACA pozitifliği ve Raynaud fenomeni öyküsü gibi CREST sendromunun tipik özelliklerini taşıyan bunların yanı sıra kolonda fibrozis ve kalsifiye mezenterik ven gibi histopatolojik bulguları olan bir olgu bildirmişlerdir. Bu olguda anti-tiroglobulin, anti-mikrozomal, anti-SS-A, anti-SS-B, anti-Sm ve Perinükleer Antinötrofil Sitoplazmik Antikor (P-ANCA) gibi otoantikörler saptanmazken ANA ve ACA pozitifliği dikkat çekmektedir (5). Çalışmamızda ACA pozitifliği saptanan hastaların 2'sinde (% 5,2) CREST

sendromunun bir komponenti olan Raynaud fenomenine rastlanırken, bağ dokusu hastalığı olan 3 (% 7,8), iridosikliti olan 1 (% 2,6), vaskülitli olan 1 (% 2,6) ve diabetes mellitus'a bağlı vaskülitli olan 1 (% 2,6) hastada ACA pozitifliği belirlenmiştir. Bu durum çalışmamızda ACA pozitiflik oranı düşük çıksa da otoimmünite ile ilişkili birçok patolojide diğer otoantikörler gibi ACA'nın da var olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda ACA pozitif olarak bulunan 38 hastanın 1'i Çölyak hastalığı tanısı almıştır. Çölyak hastalığı ülkemiz gibi tahıl tüketiminin çok olduğu bölgelerde sık görülmesine karşı çalışmamızda oranın düşük çıkmasının nedeni, şüpheli hastalarda ek testlerin yapılması ve tanının intestinal biyopsi ile doğrulanması gerektiği olabileceği düşünülmektedir.

Otoimmün hastalıkların tanısı, klinik, histopatolojik, laboratuvar ve immünolojik parametrelerden oluşan kriterlere dayanmaktadır. Otoantikörler, özellikle klinik bulguları belirgin olmayan hastaların ayırıcı tanısında giderek daha çok önem kazanmaktadır. ACA da otoimmün hastalıkların pek çoğunun tanısında diğer otoantikörlerle birlikte bakılması gereken bir belirteçtir.

## Kaynaklar

1. Baskın Y, Afacan G, Erkunt SS, Yiğitbaşı T. Sistemik Otoimmün Hastalıkların Tanısında Yeni Bir Yöntem: Multipleks Test Sistemi ve Yöntem Performansları. Turk J Biochem 2008;33:19-24.
2. Hanly JG, Thompson K, McCurdy G, Fougere L, Theriault C, Wilton K. Measurement of autoantibodies using multiplex methodology in patients with systemic lupus erythematosus. J Immunol Meth 2010;147-52.
3. Şener S, Şenol M. Dermatoloji'de Otoantikörler. Tıp Araştırmaları Dergisi (TAD) 2008;6:105-15.
4. Respaldiza N, Wichmann I, Ocana C, Garcia-Hernandez FJ, Castillo MJ, Magarino MI et al. Anti-centromere antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Scand J Rheumatol 2006;35:290-4.
5. Kitamura T, Kubo M, Nakanishi T, Fushimi H, Yoshikawa K. Phlebosclerosis of the Colon with Positive Anti-Centromere Antibody. Internal Med 1999;38: 416-21.
6. Yılmaz Ö, Karaman M, Ergon C, Bahar İH, Yuluğ N. Konnektif Doku Hastalıklarının Tanısında Antinükleer (ANA) ve Anti-Double Stranded DNA (Anti-dsDNA) Antikörlerinin Önemi. T Parazitoloj Derg 2005;29:287-90.
7. Gulati D, Kushner I, File E, Magrey M. Primary Sjogren's syndrome with anticentromere antibodies-a clinically distinct subset. Clin Rheumatol 2010;29:789-91.
8. Göksu AY. Otoimmün tiroid hastalıkları ve fetüse ait mikrokimerizm. Harran Tıp Fak Der 2004;1:41-7.
9. Herrick AL, Heaney M, Hollis S, Jayson MIV. Anticardiolipin, anticentromere and anti-Scl-70 antibodies in patients with systemic sclerosis and severe digital ischaemia. Ann Rheum Dis 1994;53:540-2.
10. Özorun K, Tülek N, Düzgün N. Romatoid Artrit ve Sitokinler: İnterlökin-1, İnterlökin-6, Tümör Nekrozis Faktör Alfa ve İnterferon Gama. Ankara Tıp Mecmuası 1994;47:495-504.