

Anti-Nötrofil Sitoplazmik Otoantikörlerin (ANCA) Varlığının Tanısal Önemi

Özlem YILMAZ, Hüseyin TAŞLI, İ. Hakkı BAHAR, Hüseyin BASKIN, Nuran YULUĞ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

ÖZET

Anti-nötrofil sitoplazmik otoantikörler birçok vasküler hastalık için tanısal bir göstergedir. Miyeloperoksidaza karşı antikörler vaskülit, glomerulonefrit, poliarteritis nodoza, Churg-Strauss sendromu, sistemik lupus eritematozis, romatoid artrit gibi hastalık tablolarında ortaya çıkabilir. Proteinaz-3' e karşı oluşan antikörler yine sistemik bir nekrotizan vaskülit olan Wegener Granulomatoz' un tanısında yardımcı olabilir. Bu otoantikörler ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) ve IIFA (indirect immunofluorescence assay) yöntemleri veya elektron mikroskopi ile saptanabilir. Bu çalışmada çeşitli inflamatuvar hastalık ön tanısı almış 137 (88' i kadın, 49' u erkek) hastaya ait serum örnekleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak miyeloperoksidaz ve proteinaz-3 olmak üzere iki temel antijeni içeren ELISA testinin iyi bir tarama testi olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Anti-nötrofil sitoplazmik otoantikör, miyeloperoksidaz, proteinaz-3.

SUMMARY

The Importance of the Precence of the Anti-Neutrophil Cytoplasmic Autoantibodies (ANCA) in Diagnosis

The presence of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies is a diagnostic marker for many vascular diseases. Antibodies against myeloperoxidase can occur in vasculitis, glomerulonephritis, poliarteritis nodosa, Churg-Strauss syndrome, systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis. Antibodies against proteinase-3 can support the diagnosis of Wegener' s Granulomatosis. It is possible to detect these antibodies by ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) and IIFA (indirect immunofluorescence assay) methods and by electron microscope technics. In this study, serum samples (from 88 female and 49 male) of 137 patients who were prediagnosed for various inflammatory diseases, were evaluated. As a result we think that an ELISA test including two major antigens like myeloperoxidase and proteinase-3 can be a useful screening test.

Key Words: Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies, myeloperoxidase, proteinase-3.

GİRİŞ

Vaskülitli olgularda anti-nötrofil sitoplazmik antikörlerin (ANCA) varlığı ilk kez 1982' de Davies ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (1). ANCA, nötrofillerin granüllerindeki ve periferik kan monositlerinin peroksidaz - pozitif lizozomlarındaki proteinlere karşı oluşan otoantikörler grubudur. Bu otoantikörler Wegener Granulomatozu, mikroskopik polianjit, glomerulonefrit gibi vaskülitlerle veya kresentik glomerulonefrit gibi vaskülit olmadan giden tablolarla bağıntılıdır. Bu bağıntılar nedeniyle, klinik olarak vaskülit veya nefriti olan olgularda, ANCA' lar bu hastalık tablolarının tanısında yardımcı olabilir (2-7).

ANCA serolojik testleri geniş olarak kullanılmakta olsa da, evrensel olarak kabul görmüş "gold standard" bir testin olmaması bu konudaki tartışmaların gündemde tutulmasının gerekliliğini açıklamaktadır. Bu çalışmada inflamatuvar bir hastalık ön tanısı almış 88' i kadın, 49' u erkek 137 hastanın serumları, miyeloperoksidaz (MPO-ANCA) ve proteinaz-3 (PR3-ANCA) antijenlerini içeren ELISA testiyle değerlendirilmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Seroloji-İmmunoloji Laboratuvarına

gönderilen çeşitli inflamatuvar hastalık ön tanılı 88' i kadın, 49' u erkek, toplam 137 hastadan alınan serum örnekleri incelenmiştir. Serum örnekleri incelenene dek +4° C' de bekletilmiştir.

ANCA' ların varlığı, test çukurları saflaştırılmış miyeloperoksidaz (MPO-ANCA) ve proteinaz-3 (PR3-ANCA) olmak üzere iki temel antijenle kaplanmış, ELISA testiyle (ImmuLisa, IMMCO Diagnostics, Inc., USA) araştırılmıştır. Testler üretici firmanın önerdiği prosedüre uygun olarak çalışılmıştır. Kontrol ve standartlar için çift, olguların serum örnekleri için tek çukur kullanılmıştır. Serum örnekleri 1:101 sulandırımında çalışılmıştır. Kalibratör, pozitif ve negatif kontroller ve bir boş reagent her testin güvenilirlik ve doğruluğunu kanıtlamak için, her çalışmada kullanılmıştır. Her kuyucuğun absorbanı 405 nm' de okutulmuştur (Organon Teknika Fast Reader). Boş reagentin absorbanı 0.3' den küçük olmalıdır. Kalibratörün absorbanı 1.0' dan küçük çıktığında test yinelenmiştir. Negatif kontrolün absorbanı değeri 20 EU/mL' den düşük olmalıdır.

ANCA tarama testi değerlendirme kriterlerine göre 20 EU/mL' den düşük değerler negatif; 20-25 EU/mL değerler sınırda (borderline); 25 EU/mL üzerindeki değerler pozitif kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çeşitli inflamatuvar hastalık tanılı olguların değerlendirilmesinde, 88' i kadın, 49' u erkek toplam 137 hastanın değerlendirme sonuçları Tablo 1' de sunulmuştur. Bu tabloya göre olguların 10' u (% 7.3) ANCA olumlu, üçü (% 2.2) ANCA kuşkulu olumlu olarak saptanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1: Saflaştırılmış miyeloperoksidaz (MPO-ANCA) ve proteinaz-3 (PR3-ANCA) olmak üzere, iki temel antijenin yer aldığı ELISA testiyle yapılan değerlendirmelerin sonuçları.

TARTIŞMA

Antinötrofil sitoplazmik otoantikörler (ANCA), bazı primer küçük damar vaskülitleri için serolojik göstergelerdir (8). ANCA' ın hastalıkların ileri süreçlerinde tümör nekroz faktör – alfa (TNF-alfa) tarafından hazırlanan nötrofilleri aktive edip degranüle olmalarına neden olabildiği, böylece küçük damar duvarlarında hasar oluşturacak proteinazlar ve reaktif oksijen türlerinin devreye girdiği gösterilmiştir (9).

Başlangıç niteliğinde düzenlediğimiz bu çalışmamızda da, yaptığımız değerlendirmelerde MPO – ANCA ve PR3 - ANCA gibi iki temel antijene yönelik ELISA testi ile 10 olguda (% 7.3) olumlu sonuca, üç (% 2.2) olguda kuşkulu olumlu sonuca ulaşılmıştır. Olumlu olguların dokuzunun (% 90), kuşkulu olumlu olguların da tamamının (% 100) kadın olması risk grubu açısından dikkat çekicidir.

Kuşkulu sonuçlar konusundaki yorumlar içinde güçlü antibiyotik etkisi olan azurocidin ile ilgili uyarılar yer almaktadır(9). Azurocidin, insan nötrofillerinin granüllerinden izole edilen çok işlevli katyonik bir antimikrobiyal proteindir (CAP37) (10). Bazı serumlar da, inflamatuvar süreçlerde yer alan bu protein ile reaksiyon oluşturarak olumlu sonuçlara neden olabilirler (9).

Perinökleer ANCA (pANCA)' nın temel antijeni olan miyeloperoksidaz (MPO), nötrofil granüositler içinde çok güçlü mikrobisidal bir sistem oluştururlar. İnsan lökosit elastazı ve laktoferin gibi diğer antijen hedefleri de bu sisteme ek olarak, pANCA' nın floresan paternleriyle bağıntılıdır (11,12). MPO' ya karşı antikörler hidralazin, klozapin ve L- triptofan gibi ilaçlarla da uyarılabilir. Çalışma hayatında silika tozu gibi çevresel etkenlerle karşılaşmak da anti-MPO pozitif bir progresif glomerulonefriti uyurabilir (13).

Yapılan çalışmalarda ANCA' ların değerlendirilmesinde değişik çalışmalar yapılmış, değerlendirme kriterleri yönünden önerilerde bulunulmuş, ancak henüz bir görüş birliği oluşturulamamıştır (8,14,15,16,17). Ülkemizde ise ANCA konusunda elimizde ayrıntılı bir veri henüz birikmemiştir.

Sonuç olarak ANCA ELISA' nın iyi bir tarama testi olduğu, ancak olumlu ve kuşkulu olumlu sonuçlar söz konusu olduğunda, örneklerin sitoplazmik ANCA (cANCA) ve perinükleer ANCA (pANCA) yönünden, örneğin IIFA gibi farklı bir test yöntemi ile incelenmesi ve süreç boyunca laboratuvar ile klinik arasında sürekli bir iletişimin kurulması gerekliliği kanısı edinilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Davies DJ, Moran JE, Niall JF et al. : Segmental necrotising glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus etiology ? Br Med J 285: 606 (1982).
2. Ferrel L, Wright T, Roberts J, et al.: Hepatitis C viral infection in liver transplantation recipients. Hepatology 16:865 (1992).
3. Feray C, Gigou M, Samuel D, et al.: The course of hepatitis C infection after liver transplantation. Hepatology 20:1137 (1994).
4. Chazoullieres O, Kim M, Ferrel L, et al.: Quantification of hepatitis C hepatitis C virus RNA in liver transplant recipients. Gastroenterology 106:994 (1994).
5. Feray C, Samuel D, Thiers V, et al.: Reinfection of liver graft by hepatitis C virus after liver transplantation. J Clin Invest 89:1361 (1992).
6. Martin P, Munoz S, Di Bisceglie A, et al.: Recurrence of hepatitis C virus infection after orthotopic liver transplantation. Hepatology 13:719 (1991).
7. Poterucha JJ, Gross JB: Hepatitis C after liver transplantation. Gastroenterology 108:1314 (1995).
8. Lim LCL, Taylor GJ, Schmitz LJ, et al.: Diagnostic usefulness of antineutrophil cytoplasmic autoantibody serology. Comparative evaluation of commercial indirect fluorescent antibody kits and enzyme immunoassay kits. Am J Clin Pathol 111:363 (1999).
9. Janeway CA, Travers P, Walport M, Capra DJ: Immune responses in the absence of infection: autoimmunity responses to self antigens. "Janeway CA, Travers P, Walport M, Capra DJ (eds.): Immunobiology, Immune System in Health and Disease", p500-501, Fourth Edition, Garland Publishnig, New York (1999).
10. Pereira HA: CAP 37, a neutrophil-derived multifunctional inflammatory mediator. J Leukoc Biol 57:805 (1995).
11. Goldschmeding R, van der Schoot CE, ten Bokkel Huinink D, et al.: Wegener' s granulomatosis autoantibodies identify a novel di-isopropylfluorophosphate binding protein in the lysosomes of normal human neutrophils. J Clin Invest 84:1577 (1989).
12. Falk RJ, Jenette JC: Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. N Eng J Med 318:165 (1988).
13. Jaunkalns R, Shear NH, Sokoluk B et al.: Antimyeloperoxidase antibodies and adverse reactions to clozapine. Lancet 339:1611 (1992).
14. Zhao MH, Liu N, Zhang YK, Wang HY: Anti neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) and their target antigens in Chinese patients with lupus nephritis. Nephrol Dial Transplant 13:2821 (1998).
15. Guillevin L, Lnote F, Amouroux J, Gherardi R, Callard P, Cassasus P : Anti neutrophil cytoplasmic antibodies abnormal angiograms and pathological findings in ployarteritis nodosa and Churg-Strauss syndrome: Indications for the classification of vasculitis of the polyarteritis nodosa group. British J Rheum 35:958 (1996).
16. Nash MC, Dillon MJ : Anti neutrophil cytoplasm antibodies and vasculitis. Arch Dis. Child 77: 261 (1997).
17. Wong SN, Shah V, Dillon MJ: Anti neutrophil cytoplasmic antibodies in Wegener' s granulomatosis. Arch Dis Child 79:246 (1998).