

Bağ Dokusu Hastalıklarında Otoantikörlerin Klinikte Kullanımı

CLINICAL EVALUATION OF AUTOANTIBODIES IN CONNECTIVE TISSUE DISORDERS: MEDICAL EDUCATION

Dr. Özlem TURHAN İYİDİR,^a Dr. Şükran ERTEN^{a,b}

^aİç Hastalıkları AD, ^bKlinik İmmünoloji ve Romatoloji BD, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANKARA

Özet

Otoimmünite, immün tolerans mekanizmalarının biri veya birkaçının bozulması sonucunda gelişir. Otoimmün hastalığın mekanizmasından bağımsız olarak bu hastalıkların hepsinde dolaşan otoantikörler vardır. Hastalarda otoimmün hastalığın tanısı öykü, fizik muayene ve laboratuvarında otoantikör tespiti ile konulur. Bu otoantikörlerin tespiti ve özgünlüklerinin görülmesi, çeşitli otoimmün hastalıkların laboratuvar tanımlarının konulmasında iyi tanımlanmış araçlar olmalarını sağlamıştır. Kullanım endikasyonları, klinik semptomları olan bir bireyde otoimmün hastalığın tanısının konulması, klinik bulguları kesin olmayan bir bireyde otoimmün hastalığın ekarte edilmesi, tanısı bilinen hastaların gruplandırılması ve hastalık aktivasyonunun takibidir. Bu amaçla en çok kullanılan otoantikörler, antinükleer antikör, anti-dsDNA (anti-double stranded) DNA, anti-ENA (extractable nuclear antigen), anti-SM (smooth muscle), anti-RNP (ribonucleoprotein), anti-Ro, anti-La, anti-Ribozomal P antikoru, anti-Mi, anti-CCP, aPL antikör (antifosfolipid antikör) ve ANCA (antinötrofilik sitoplazmik antikör)'dir.

Anahtar Kelimeler: Bağ dokusu hastalıkları; otoantikörler; otoimmünite

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007, 27:236-246

Abstract

Autoimmunity develops due to dysregulation of one or some of the immune tolerance mechanisms. Independent of the mechanism of the autoimmune disease, there are circulating autoantibodies in all of these disorders. A diagnosis of autoimmune disease in patients is based upon clinical history, physical examination, and laboratory detection of autoantibodies. The detection of these autoantibodies and identification of their specificity have become well-established tools for the laboratory diagnosis of several autoimmune diseases. The indications for use are to establish a diagnosis of autoimmune disease in patients with suggestive clinical symptoms, to exclude a diagnosis of autoimmune disease in patients with few or uncertain clinical signs, to subclassify patients with a known diagnosis, and to monitor disease activity. The most frequently used autoantibodies are ANA (antinuclear antibodies), anti-dsDNA (anti-double stranded DNA), anti-ENA (extractable nuclear antigen), anti-SM (smooth muscle), anti-RNP (ribonucleoprotein), anti-Ro, anti-La, anti-Ribosomal P, anti-Mi, anti-CCP, aPL antibody (anti phospholipid antibody) and ANCA (antineutrophilic cytoplasmic antibody).

Key Words: Connective tissue diseases; autoantibodies; autoimmunity

İmmün sistem kendinden olanla olmayı ayırabilir. Otoimmünite, immün tolerans mekanizmalarının biri veya birkaçının bozulması sonucunda gelişir. Otoimmünite öz (self) antijenlerle savaşan antikörleri veya T lenfositleri ifade eder.^{1,2}

Otoimmün hastalıklar; bir tarafta organa özgül (Hashimoto tiroiditi, primer miksödem vd.) diğer

tarafta sistemik otoimmün hastalıklar [sistemik lupus eritematozus (SLE), romatoid artrit (RA) vd.] olarak geniş bir spektrum gösterir. İmmünopatolojik hasar, hastalığın yerine bağlıdır. Antijen özel bir dokuda lokalize ise Tip 2 aşırı duyarlılık reaksiyonu rol oynar (otoimmün hemolitik anemi, trombositopeni, Goodpasture sendromu, miyastenia gravis); sistemik otoimmünitede dokularda immün kompleks birikimi, kompleman aktivasyonu ve fagosit artışının da rol aldığı Tip 3 aşırı duyarlılık reaksiyonu sonucu inflamasyon ve doku hasarı gelişir.³

Antikörler, antireseptör antikör hastalıklarındaki gibi direkt patojenik olabilir, örneğin tirotoksikozda antireseptör antikörleri hormonun

Geliş Tarihi/Received: 19.07.2006 Kabul Tarihi/Accepted: 06.10.2006

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Şükran ERTEN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
İç Hastalıkları AD, Klinik İmmünoloji ve Romatoloji BD,
ANKARA
sukranerten@yahoo.com

Copyright © 2007 by Türkiye Klinikleri

etkisini taklit eder, miyastenia graviste anti-asetil kolin reseptör antikolarları, asetil kolinin transmitter görevini bloke ederek kas güçsüzlüğüne yol açar. Diğer organa özgül hastalıklara örnek ise erkekte infertilite (antisperm antikolarları), pernisiyöz anemi (intrinsik faktör antikolarları, B12 absorpsiyon bozukluğu), Goodpasture Sendromu (antiglomerüler bazal membran antikolarları ve glomerülonefrit) dir.³ Otoimmün hastalığın mekanizmasından bağımsız olarak bu hastalıkların hepsinde dolaşan otoantikolar vardır.²

Antinükleer Antikor (ANA)'lar

Sitoplazmik veya nükleoler self antijenlere karşı gelişmiş otoantikolarlardır. Antijenler bütün çekirdekli hücrelerde bulunur ve transkripsiyon ve translasyonda rol oynarlar veya yapısal protein olarak görev alırlar.⁴ ANA'lar 1940 yılında lupus eritematosus hücre testi kullanılarak bulunmuştur. ANA sistemik otoimmün hastalığın göstergesidir ve minimal veya birden çok otoimmün hastalığın kliniğine sahip hastalarda tanısal ve prognostik öneme sahiptir. ANA testi şu durumlarda faydalıdır:⁵

1. Otoimmün hastalık veya bağ dokusu hastalığını destekleyen kliniği olan hastalarda tanısal amaçlı olarak,
2. Hastalık aktivitesinin takibinde,
3. Şüpheli klinik bulguları olan hastalarda bazı hastalıkları dışlamak için,
4. Otoimmün hastalık veya bağ dokusu hastalığı olan hastaları sınıflandırmak için.

ANA'nın sınıflandırılması antijenlerin aşağıdaki özelliklerine göre yapılabilir:

1. Kimyasal yapıları (çift zincir DNA),
2. Hastalık ilişkisi (SS-A ve SS-B, Sjögren sendromu (SS)),
3. İlk tanımlayan kişiler (Ro, La, Sm),
4. Sitolojik yerleşim (nükleolar, sentromer),
5. Antijenin bulunduğu bölgeye göre (U1 RNP) göre isimlendirilirler.⁴

ANA'lar, organ spesifik otoimmün hastalıklarda (Hashimoto tiroiditi, Graves hastalığı, otoimmün hepatit, primer bilyer siroz, primer

otoimmün kolanjit, primer pulmoner hipertansiyon), sistemik otoimmün hastalıklarda [SLE, sistemik skleroz (SSc), mikst bağ dokusu hastalığı (MBDH)'nda, polimiyozit/dermatomiyozit, RA, romatoid vaskülit, SS, ilaçla ilişkili lupus, diskoid lupus, pauciartiküler juvenil kronik artrit] ve bazı enfeksiyonlarda pozitif bulunabilir. %1-5 oranında sağlıklı genç erişkinlerde bulunabilir.^{5,6}

ANA'lar değişik yöntemlerle tespit edilirler.⁷ İndirekt immünfloresans yöntemi (IIF)'nde hasta serumu tampon solüsyonlarda seyreltikten sonra insan epitelyal hücrelerinin fikse edildiği (Hep-2 hücreleri) lamlara eklenir, böylece antikolar hücrelerin içerisine girip antijenlere bağlanırlar. Bu antikolar floresan işaretli anti insan antikoları ile işaretlenip immün floresan mikroskopta incelenirler. Bu yöntem bağ dokusu hastalığı olan hastalar için iyi bir tarama yöntemidir ve sensitiftir. IIF yöntemi ile 5 boyanma şekli gözlenir:⁸

- ⇒homojen nükleer---DNA-histon kompleksi,
- ⇒periferik---dsDNA
- ⇒ince granüler---ekstraktable nükleer antijenler (Sm, Ku, U1RNP, SS-A, SS-B)
- ⇒kaba granüler---antisentromer
- ⇒nükleolar---RNA polimeraz, nükleoler RNP kompleks

Bazı spesifik görüntüler sadece spesifik substratlar ile görülebilir. Örneğin anti-Ro ve antisentromer antikolar bölünmekte olan Hep-2 hücrelerinde gözlenebilirler.⁹

ANA'nın yüksek titrede bulunması otoimmün hastalık açısından uyarıcı olmalıdır. Fakat tek başına tanı koydurucu değildir.⁷

DNA'ya Karşı Antikorlar

DNA'ya karşı gelişmiş antikolar ilk defa 1957 yılında tanımlanmıştır. Bu antikolar ANA'ların alt grubu olup tek sarmal DNA, çift sarmal DNA veya her ikisine karşı gelişmişlerdir. IgM veya IgG tipindedirler.¹⁰ Özellikle çift sarmal DNA'ya karşı antikoların SLE tanısında tanı koydurucu değeri yüksektir, ayrıca SLE'li hastalarda klinik aktivite ve glomerülonefrit riski ile ilişkilidir.¹¹

Tek sarmal DNA'ya karşı gelişmiş (anti-ssDNA) IgM tipindeki antikorlar sağlıklı bireylerde de saptanabilir ancak çift sarmal DNA'ya karşı gelişmiş (anti-dsDNA) IgG tipi antikorların sağlıklı kişilerde bulunması daha az sıklıktadır.²

Anti-dsDNA'nın özellikleri:¹⁰

1. SLE için spesifiktir, tanıda kullanılırlar. Hastaların %60-83'ünde bu antikorlar saptanır.
2. %5 oranında RA, SS, SSc, Raynaud fenomeni, MBDH, diskoid lupus, miyozit, üveit, juvenil artrit, antifosfolipid antikor sendromunda (APS)'de pozitif olabilirler.
3. Hastalık aktivitesi ile uyumlu olduğundan takipte kullanılabilirler.
4. Lupus nefritli hastalarda glomerüllerdeki immün kompleks depozitleri anti-dsDNA'dan zenginler. Özellikle IgG tipindeki anti-dsDNA antikorları aktif glomerülo nefritte yüksek düzeyde bulunurlar.¹²
5. Minosiklin, Etanercept, İnfliksımab ve Penisillamin alan hastalarda da anti-dsDNA pozitifliği bildirilmiştir. Bu hastalarda kutanöz vaskülit, artrit/artralji, serözit gelişebilir.
6. Özellikle lupuslu hastaların sağlıklı 1. derece akrabalarında pozitiflik saptanmıştır.

Ekstrakte Edilebilir Nükleer Antijenlere Karşı Antikorlar (Anti-ENA)

Sitoplazmik antijen varlığı dışında ANA pozitifliği olmaksızın anti-ENA pozitifliği nadirdir.¹³ Anti-ENA antikorlarının saptanması için sensitivite ve spesifitesi yüksek bir test yoktur. Önerilen, 2 farklı yöntemin beraber kullanılmasıdır.¹⁴

Anti-Sm ve Anti-RNP:

Anti-Sm (Smith) antikorları U1, U2, U4-6 ve U5RNP partiküllerinin merkezini oluşturan B, C, D, E, F ve G proteinlerine karşı oluşmuştur.

Anti-Sm antikorları SLE hastalarının %5-30'unda saptanırlar. Anti-Sm antikorları sıklıkla anti-RNP ile ilişkilidir ve nadiren tek başına saptanır. Anti-Sm antikorları SLE için oldukça spesifik olduğundan tanı kriterleri içerisinde yer alır. Anti-RNP, SLE hastalarının %25-47'sinde saptanır, yüksek titreler MBDH için tanı koydurucudur.¹⁵

Anti-Sm pozitifliği SLE tanısında kullanılabilir ancak takip için uygun bir test değildir.

Anti-RNP antikorları daha çok U1 ribonükleik asit (RNA) ile ilişkili proteinlere (70K, A ve C) karşı gelişmiştir. SLE tanısını doğrulamak için kullanılabilir. SLE için duyarlılığı %8-69 arasındadır.¹⁶ MBDH tanısı için özgünlüğü %84-100, duyarlılığı %71-100 arasında bulunmuştur.

Anti U1RNP, SSc'li hastalarda %2-14 sıklıkta saptanır. Anti U1RNP pozitifliği, bağ dokusu hastalıklarında Raynaud fenomeni, sikka kompleksi, pulmoner tutulum ve artrit/artralji ile ilişkilidir.¹⁷

Anti heterojen nükleer ribonükleoprotein (hnRNP)'ler ilk defa 1984 yılında MBDH olan hastalarda gösterilmiştir. Daha sonra SLE ve RA'lı hastalarda da gösterilmiştir.¹⁸ Yapılan 2 çalışmada Anti hnRNP A2/B (RA33)'nin RA'lı hastaların %35'inde pozitif olduğu ve bu antikorların hastalığın erken evresinde saptanabildikleri gösterildi. Bu antikorların SLE hastalarının %20-40'ında ve MBDH hastalarının %40'ında pozitif olduğu düşünülürse RA için spesifik veya sensitif olmadıkları söylenebilir. SLE'li hastalarda Anti hnRNP A2'nin erozif artrit ve özofagus hareket bozukluğu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.¹⁹

Anti-Ro/SSA ve Anti-La/SSB Antikorları:

Ro/La sistemi heterojen bir antijenik kompleks ve 3 farklı proteinden oluşur. 60 ve 52 kDa olmak üzere 2 adet Ro proteini mevcuttur. La antijeni ise, 48 kDa ağırlığında nükleus ve sitoplazmada olan fosforile bir proteindir. La proteini aynı zamanda RNA polimeraz için bir terminasyon faktörüdür.²⁰

Anti-Ro/SSA ve Anti-La/SSB antikorları SS'li hastalarda sık saptanan antikorlardır.

SLE, birlikte olan SS/SLE, subakut kutanöz LE, neonatal lupus ve primer bilyer sirozda anti-Ro/SSA antikorları saptanabilir. Anti-La/SSB ise SS ile daha yakın ilişkilidir. Anti-Ro/SSA antikorları C4 kompleman yapımında genetik bozukluk ve HLA DR3 genotipi ile ilişkilidir.⁸

Anti-Ro/SSA SLE'li hastaların %10-60'ında saptanır. Özellikle ışığa duyarlılık, kutanöz vaskülit, interstisyel akciğer hastalığı, neonatal lupus ve konjenital kalp bloğu, SLE'li hastalarda

görülen non-erozif artropati olan Jaccoud artropatisi ile ilişkili bulunmuştur. Bazı araştırmacılar tarafından anti-Ro antikörlerinin geç başlangıçlı SLE hastalarında daha sık olduğunu göstermişlerdir. Anti-Ro antikoru bulunan SLE'li hastaların %50'sinde anti-La/SSB saptanır. SLE'li hastaların %15'inde ise anti-La tespit edilir.¹¹

Primer SS'li hastaların %70-97'sinde (bazı kaynaklara göre %60-85) anti-Ro/SSA antikörleri bulunmuştur. Yüksek titreler purpura, vaskülit, multipl skleroz benzeri demiyelinizan sendrom gibi ekstraplandüler bulgularla ilişkilidir. Anti-La/SSB antikörleri ise primer SS'de %70-95 (bazı kaynaklara göre %40-50) oranında saptanır.²⁰

SSc'li hastaların %3-11'inde anti-Ro antikörleri saptanmıştır ve bu antikör varlığı sikka semptomları, ciddi akciğer tutulumu ve ışığa hassasiyet ile ilişkilidir. Özellikle 52 kDa anti-Ro, PM/DM hastaların %5-15'inde gösterilmiştir. RA'lı hastaların %3-15'inde anti-Ro antikörleri saptanır ve bu hastalarda lökopeni, sikka semptomları, ışık duyarlılığı ve kompleman seviyelerinde azalma gözlenmiştir.¹⁷

Neonatal lupus, anti-Ro ve anti-La antikörleri pozitif olan annelerin çocuklarında görülen, pasif olarak geçen bir otoimmün hastalıktır. Neonatal lupus, konjenital tam blok, deri döküntüsü, artmış karaciğer enzimleri ve sitopeni ile karakterizedir. Kalp bloğu kalıcı, diğer belirtiler geçicidir. Bu annelerin gebeliklerinin 16-20. haftalarında maternal IgG antikörleri plasental yolla fetal sirkülasyona geçer. Fetal kardiyak dokuda Ro ve La antijen ekspresyonuna bağlı olarak hasar 18-24. haftalarda başlar. Özellikle gebe kalan SLE hastalarında bu antikörlerin bakılması önerilmektedir.²

Anti Ribozomal P Antikörleri:

Ribozom proteinleri, ribozomun 60S subunitinde bulunan 3 çeşit fosfoproteine verilen genel addir. Bu proteinler elongasyon faktörleri ile protein sentezinde rol alırlar. Bu 3 protein SLE'li hastalarda otoantikör geliştiği saptanan hedef proteinlerdir. Anti ribozomal antikörler protein sentezini inhibe ederler. Son yıllarda SLE hastalarında ribozomun küçük subunitindeki proteinlere karşı gelişmiş otoantikörler da saptanmış özellikle anti

L14'ün spesifik ama az sıklıkta, anti L7'nin daha az spesifik ancak daha sık bulunduğu gösterilmiştir.²¹

P proteinleri aynı zamanda bazı paraziter enfeksiyonlara karşı immün yanıtta rol alırlar. *Trypanosoma cruzi* enfeksiyonunda protozoon P proteinlere karşı gelişmiş antikörler Chagas hastalığına neden olurlar.²

Uygulanan metoda bağlı olarak SLE hastalarında anti ribozomal P saptanma sıklığı %6-46 arasındadır.²¹ Özellikle aktif hastalığı olan kişilerde bu antikör daha sık saptanır. Anti ribozomal P antikörünün özellikle lupus psikoza için spesifik olduğunu düşündüren çalışmalar yanında, ilişki olmadığını gösteren çalışmalar da vardır.²²⁻²⁴

Anti P antikörlerinin SLE hastalarında karaciğer ve böbrek tutulumu ile ilişkisi de incelenmiştir. Anti P antikörleri pozitif olan bir lupus hastasında hepatit gelişim sıklığı ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Karaciğer hastalığı olan 20 lupus hastasının 7'sinde antikörler gösterilmiştir. Bu antikör kronik aktif hepatit, primer bilyer siroz veya sklerozan kolanjitli hastalarda saptanamamıştır.²⁵ Lupusla ilişkili karaciğer hastalığı, ilaç, toksin, viral ve otoimmün hepatitten ayrılmalıdır. Bu ayırım kolay değildir. Anti ribozomal P antikörleri bu nedenle kullanılabilirler ancak konu ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anti ribozomal P antikörleri lupus nefriti olan hastalarda da incelenmiştir. Bu konu ile ilgili çalışmalar az ve küçük hasta gruplarını içerirler ve sonuçlar değişkendir. Örneğin bir çalışmada anti ribozomal P antikoru saptanan 20 hastanın 14'ünde renal tutulum geliştiği gösterilmiştir. Lupus nefriti olan 69 hasta ile yapılan başka bir çalışmada anti ribozomal P titrelerinde dalgalanma olması nefrit aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur.²⁶ Ancak anti ribozomal P ve nefrit arasında ilişki olmadığına dair yayınlar da mevcuttur.²⁷

Sonuç olarak, anti ribozomal P antikörleri ile ilgili ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

Antisentromer ve Anti Scl-70

SSc'li hastalarda çok çeşitli otoantikörler gösterilmiştir. Bu antikörlerin hastalık patogenezin-

deki rolleri net değildir. Fakat hastalık prognozunda ve tanısında önemlidirler. Klasik olarak SSc'de bilinen antikorlar antisentromer ve anti Scl-70 (anti topoisomerez-1)'dir.

Anti Scl-70 1979 yılında tanımlanmıştır. Bu antikor ailesi, topoizomerez enzimine karşı gelişmiştir. Scl-70 antijeni 70 kDa ağırlığında non-histon proteindir. Anti Scl-70 antikorları sağlıklı erişkinlerde, SSc'li hastaların sağlıklı 1. derece akrabalarında, diğer bağ dokusu hastalıklarında ve primer Raynaud fenomeninde saptanmadıklarından tanıda oldukça spesifiktirler. Anti Scl-70 ve antisentromer antikorlar nadiren bir arada bulunurlar.

Anti Scl-70 antikorları difüz SSc'li hastaların %25-40'ında bulunurlar. Sınırlı SSc'de ise %10'dan daha az sıklıkta saptanırlar. Pulmoner fibrozis gelişen hastaların %50'den fazlasında anti Scl-70 antikorları mevcuttur. Bazı çalışmalarda anti Scl-70 antikorlarının pulmoner tutulumun ciddiyeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Anti Scl-70 pozitif olgularda pulmoner fonksiyonlarda bozulmanın daha hızlı olduğu ve restriktif akciğer hastalığının daha sık olduğunu gösteren çalışmalar vardır.²⁸

Anti Scl-70 ile renal kriz arasında bir ilişki gösterilememiştir. Anti Scl-70 antikor pozitifliği SSc ilişkili mortalitede artışla ilişkilidir. Bunun nedeni pulmoner fibrozise sekonder gelişen sağ kalp yetmezliğidir. Anti Scl-70 düzeyinin aralıklı olarak tekrar edilmesinin klinik pratikte yararı gösterilememiştir. Başlangıçta antikor pozitifliği saptanan hastaların zaman içinde yine pozitif oldukları saptanmıştır.²⁸

Anti Scl-70 antikorları nadiren diğer fibrozis durumlarında saptanabilir (lokalize skleroderma, graft versus host hastalığı, eozinofili miyalji sendromu gibi). Anti Scl-70 pozitifliği sıklığı etnik farklılıklar göstermez.

Antisentromer antikorları ilk defa 1980 yılında gösterilmiştir. Hep-2 hücrelerinde granüler boyanma gösterir, daha sonra SSc'li hastalarda immüblot yöntemi ile 6 sentromerik proteine (CENP A-CENP F) karşı gelişen antikor olduğu saptanmıştır.

Her ne kadar IIF altın standart yöntem olsa da birçok laboratuvarında ELISA kullanılmaktadır. ELISA yönteminde, antijen olarak CENP B kullanılır.

SSc'li hastaların etnik kökenine bağlı olarak %20-30 sıklıkta saptanır. Nadiren sağlıklı kişilerde saptanır. Raynaud fenomeni olan kişilerde saptanması SSc gelişimi açısından uyarıcı olabilir.

Antisentromer antikor özellikle kalsinozis, Raynaud fenomeni, özofagus motilite bozukluğu, sklerodaktili ve telenjektaziyle karakterize CREST sendromu ile yakından ilişkilidir. Bu hastaların %55-96'sında saptanır.

Antisentromer antikor varlığı SSc'li hastalarda daha iyi prognozu gösterir. Daha çok sınırlı SSc'de görülmesine rağmen kalsinozis ve iskemik dijital kayıpla ilişkili olabilir. Antisentromer antikor varlığı daha az radyografik pulmoner fibrozisle ilişkilidir. Bu hastalarda DLCO anormal, FVC ve akciğer grafisi normal bulunur. Pulmoner hipertansiyon antisentromer pozitif hastalarda daha sıktır.¹⁷

Tekrarlayan antisentromer antikor ölçümlerinin klinik pratikte yararı gösterilememiştir.

Anti-Ku Antikorları:

Ku proteini, 70 ve 80 Kd ağırlığında 2 polipeptitten oluşan bir otoantijendir. Çift sarmal DNA'nın serbest uçları ile ilişkilidir. IIF ile çekirdekte ince granüler boyanma görülür. İlk olarak polimiyozit ve skleroderma overlap sendromu olan hastalarda gösterilmiştir. Daha sonra SLE, SSc ve overlap sendromu olan hastalarda da gösterilmiştir.¹⁷ Anti-Ku pozitif 159 hasta incelendiğinde 1/3'ünde overlap, %28'inin SLE, %4'ünün dermatomiyozit/polimiyozit, %14'ünün SSc ve %20'sinin diğer bağ dokusu hastalığına sahip olduğu görülmüştür. Overlap sendromu olan hastaların %65'inin SSc özellikleri mevcut olduğu saptanmıştır.²⁹

Anti nükleolar Antikorlar:

1970 yılında tanımlanmışlardır. IIF ile tipik nükleolar boyanma özelliği gösteren heterojen bir otoantikor grubudur. Bu grupta anti PM-Scl, anti Th/To, anti U3RNP (anti fibrilların), anti RNA polimeraz I, anti RNA polimeraz II ve anti RNA

polimeraz III yer alır. Anti RNA polimeraz II ve anti RNA polimeraz III her zaman nükleoler patern göstermezler.

PM-Scl kompleksi ağırlıkları 20-110 Kd arasında değişen 11-16 polipeptiddir. Anti PM-Scl antikorları ilk olarak miyozit/skleroderma overlap sendromunda tanımlanmıştır. SSc'li hastaların %3'ünde, miyozitli hastaların %8'inde ve overlap sendromunda %80 sıklıkta saptanırlar. Bu antikorlar immünpresipitasyon yöntemi ile saptanırlar.¹⁷

Th/To antikorları ribonükleaz MRP ve ribonükleaz P komplekslerine karşı gelişmiş otoantikorlardır. SSc'li hastaların %2-5'inde saptanırlar. Son çalışmalarda bu antikorlar SLE, PM ve primer Raynaud fenomeninde de gösterilmiştir. Antisentromer antikorlar gibi daha çok sınırlı deri tutulumu ile ilişkilidirler. Yetmiş sınırlı SSc'li hastanın %4'ünde antikorlar gösterilmiştir. Başka bir çalışmada daha sınırlı deri tutulumu ve daha az sistemik tutulum fakat daha ciddi pulmoner hipertansiyon ile ilişkili bulunmuştur. SSc renal kriz ve pulmoner hipertansiyonu olan hastalarda anti Th/To antikorları saptanmıştır.³⁰

Anti RNA polimeraz (RNAP) I, anti RNAP II, anti RNAP III SSc'li hastaların %20'sinde saptanırlar. Anti RNAP I ve anti RNAP III daha spesifik ve daha sıktır. Anti RNAP II SLE hastalarının %9-14'ünde gösterilmiştir. Anti RNAP, difüz SSc ile daha çok ilişkilidir ve anti Scl-70 gibi SSc ilişkili mortalitede artışı gösterirler.¹⁷

Anti U3RNP, fibrilların adı verilen nükleolar sn RNP'ye karşı gelişmiştir. Anti fibrilların antikorları SSc'li hastalarda %4 oranında saptanır. Anti fibrilların antikorlar aynı zamanda SLE, andiferansiye bağ dokusu hastalığı ve primer Raynaud fenomeninde gösterilmiştir. Difüz SSc için spesifiktir. Miyozit, pulmoner hipertansiyon ve böbrek hastalığı ile ilişkisi gösterilmiştir.³¹

Anti Jo-1 Antikoru:

Aminoasit transfer RNA sentetaz (tRNA)'ya karşı antikorlar polimiyozit ve dermatomiyozitli hastaların %25-35'inde gösterilmişlerdir. Yirmi tRNA'nın 6'sına karşı gelişmiş otoantikor tanımlanmıştır. Bunlardan üzerinde en çok çalışılan anti histidil tRNA (anti Jo-1)'dir. İlk defa 1980 yılında

interstisyel fibrozisi olan bir polimiyozit hastasında gösterilmiştir. Jo-1 proteini daha çok sitoplazmada bulunur. Bu antikorların hastalık patogenezindeki yeri henüz bilinmemektedir. Bu antikorlar miyozit tanısı için oldukça spesifiktir.³² Hasarlanmış kas hücrelerinden kaynaklanan Jo-1 antijenleri T lenfositler ve immatür dendritik hücrelerdeki kemokin reseptörleri aktive ederek miyozitin devamını sağlamaktadırlar.³³

Anti Jo-1 antikorlarının sensitivitesi %19-33, spesifitesi %99-100'dür. Bu antikorlar daha çok PM'de saptanırlar.³² Biswas ve ark.nın yaptığı çalışmada anti Jo-1 pozitif 11 PM hastasının 9'unda interstisyel akciğer hastalığı saptanmıştır.³⁴

Anti Jo-1 antikorları miyozit hastalığının tanısında ve bu antikorun titreleri hastalık aktivitesinin takibinde kullanılır. Anti Jo-1 pozitif hastalar daha genç olma eğilimindedirler ve bu hastalarda miyozit akut başlangıçlıdır.³²

Anti Mi-2 Antikoru:

Mi-2 otoantikorları, ilk defa 1976 yılında dermatomiyozitli bir hastada tanımlanmıştır. IIF çalışmalarında Mi-2 proteininin nükleusta olduğu görülmüştür. Hep-2 hücrelerinde ince granüler nükleer boyanma paterni gösterirler. Mi-2 proteini kromozomal seviyede transkripsiyon regülasyonunda rol alan protein kompleksinin subünitidir. Anti Mi-2 ile HLA DR7 arasında korelasyon gösterilmiştir. Anti Mi-2 antikorları IgG sınıfındadır.³⁵

Farklı çalışmalarda farklı metotlarla tespit edilmesine rağmen idiyopatik inflamatuvar miyozit için sensitivitesi %4-18 spesifitesi %98-100'dür. Anti Mi-2 antikorları idiyopatik inflamatuvar miyopati tanısında, sınıflandırılmasında ve prognozun belirlenmesinde kullanılabilir. Antikor seviyesi ve hastalık aktivitesi arasında korelasyon gösterilmemiştir. Anti Mi-2 DM'le daha yakın ilişkilidir. Anti Mi-2 pozitif hastaların çoğunda tipik DM tablosu mevcuttur, steroid tedavisine yanıt verirler ve daha iyi prognoza sahiptirler. Diğer miyozit spesifik antikorlar gibi anti Mi-2 antikorları paraneoplastik miyozitin ekarte edilmesinde kullanılabilirler.³⁵

Citrullinated Proteinlere Karşı Gelişen Antikorlar

1964 yılında RLF Nienhuis ve ark. RA'lı olan hastaların 1/3'ünde ağız mukozası epitelinde IIF ile perinükleer granüller oluşturan otoantikorlar saptadılar. Bu antikorlara antiperinükleer faktör (APF) adı verildi. On beş yıl sonra Young ve ark. RA'lı hastaların yarısının serumunda IIF yöntemi ile fare özofagus epitelinin stratum korneumunda floresans veren antikorlar saptadılar ve stratum korneumda en çok bulunan proteinin keratin olması nedeni ile bu antikorlara antikeratin antikorlar (AKA) adını verdiler.

Daha sonra yapılan çalışmalarda bu antikorların RA için oldukça spesifik oldukları ve hastalığın erken evrelerinde de saptanabildikleri gösterildi.

Anti keratin ve anti perinükleer antikorların hedef aldıkları antijenler 1993 ve 1995 yıllarında tanımlandı. Bu antijenlerin skuamöz epitel diferensiasyonun geç evrelerinde eksprese olan fillagrin ve profillagrin proteinleri oldukları gösterildi. Bu nedenle bu antikorlara anti fillagrin antikorlar (AFA) adı verildi. Bu proteinlerin arginyl rezidüleri posttranslasyonel modifikasyon sırasında peptidil arginin deiminaz enzimi ile sitriline olurlar. PAD2 ve PAD4 izoenzimleri inflamatuvar RA sinoviyumunda artmıştır. Burada fibrin gibi lokal proteinlerin sitrülasyonunda rol alırlar. AFA'ların epitoplari bu sitriline olmuş rezidülerdir. AFA, RA'lı hastalarda saptanmasına rağmen fillagrin proteini sinoviyumda gösterilememiştir. Bu nedenle AFA'nın hedefi RA sinoviyumunda bulunan sitriline ekstrasellüler fibrin olabilir.

Romatoid sinoviyal dokuda fibrin depoları mevcuttur ve sinoviyal interstisyumda bulunan plazma hücreleri tarafından salgılanırlar. Yapılan bir çalışmada özellikle APF ve AKA'ların fibrinin alfa ve beta zincirlerine karşı geliştiği ve daha büyük bir grup olan anti insan fibrilların antikorlarının alt grubu oldukları gösterilmiştir.

Sa antijenine karşı gelişen antikorlar RA'lı hastaların %50'sinde gösterilmişlerdir. Bu antikorlar insan dalağı ya da plasentadan elde edilirler. İlginç olarak son zamanlarda, Sa antijeninin aslın-

da sitriline olmuş yapısal bir protein olan vimentin olduğu gösterilmiştir.^{36,37}

Sonuç olarak anti insan fibrinojen antikorları (AhFibA), AFA, APF, AKA ve antiSa antikorları sitriline olmuş proteinlere karşı gelmiş RA için spesifik antikorlardır ve bu anti sitriline protein antikorları (ACPA) merkezinde sitrülil yapısı bulunan peptid epitoplari hedeflerler.³⁶

RA tedavisinde strateji, hastalığın erken evresinde saldırgan tedavidir. Bu nedenle erken tanı önemlidir. Çoğu RA hastasında erken evrede semptomlar siliktir ve tanı kriterlerini karşılamaz. Bu nedenle hastalığa spesifik antikorları saptamak önemlidir.

Anti CCP antikorlarının erken tanıdaki yeri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır.³⁸⁻⁴¹ Bir çalışmada semptom başlangıcından sonraki 3-6 ay içinde %50-60 hastada anti CCP'nin saptanabildiği gösterilmiştir.³⁸

Değişik inflamatuvar hastalığı olan 249 hastanın serumlarında anti CCP bakılmış ve anti CCP pozitif bulunan 82 hastanın 68'inde RA olduğu görülmüştür (duyarlılık %66, özgünlük %90). Bu hastaların %85'inde aynı zamanda RF'nin de pozitif olduğu bulunmuştur.³⁹

Yapılan başka bir çalışmada 196 RA hastası ve 239 kontrol grubu, IgG RF, IgA RF ve anti CCP açısından karşılaştırılmış ve en duyarlı testin IgM RF olduğu, ancak aradaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu, anti CCP'nin ise daha spesifik olduğu saptanmıştır.⁴⁰

Diğer bir çalışmada ise 98 RA ve 232 değişik hastalıkları olan ve sağlıklı kontrolleri içeren serumlar anti CCP açısından karşılaştırılmış ve duyarlılık %41, özgünlük %97.8 olarak bulunmuştur.⁴¹

Bu çalışmalarda kullanılan ELISA'nın tanı koydurucu indeksleri çok farklı olduğu için çalışmaların karşılaştırılması zordur. Bu çalışmalarda anti CCP'nin yerleşmiş RA'da duyarlılığı %41-87 arasındadır. Yeni başlangıçlı RA'da ise %41-48 arasındadır.³⁶

Anti CCP pozitif RA hastalarında daha hasarlı hastalık geliştiği gözlenmiştir. Anti CCP radyolojik

hasarın ve ilerlemenin bağımsız bir göstergesidir. Bu nedenle IgM RF'ye üstündür. 242 erken RA hastasında yapılan ileriye dönük bir çalışmada (6 hafta-12 ay) hastalar 3 yıl takip edilmişler. Başlangıçta ve 3 yıl sonunda anti CCP'nin duyarlılığı %64 ve %59 bulunmuş. Anti CCP pozitif olan hastalara başlangıçta daha sık DMARD grubu ilaç başlanmış. İzlem süresinde 6, 12, 24. aylarda değerlendirilen ESR, CRP, hastalık aktivite skoru ve şiş eklem sayısı anti CCP pozitif hastalarda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur.⁴²

Bu konularda yapılan çalışmalar arttıkça RA erken tanısında anti CCP antikorlarının yeri belirginleşecektir.

aPL Antikorlar

Dört çeşit aPL antikor tanımlanmıştır:

1. Yanlış pozitif VDRL'ye neden olan antikorlar, bu antikorlar APS tanısında kullanılamazlar.
2. Lupus antikoagülanı (LA),
3. Antikardiyolipin (aCL) antikorlar,
4. Anti β 2 glikoprotein I antikorlar

APS tanı kriterlerinden biri laboratuvar kriteridir:

APS 2006 Sınıflandırma Kriterleri (Lab):⁴³

1- LA

2- aCL antikorlar için standart ELISA yöntemi ile en az 12 hafta ara ile (<5 yıl) en az 2 ölçümde saptanmış IgG ve/veya IgM orta veya yüksek titrede pozitiflik (>40 GPL/MPL veya 99.persentil),

3-Anti-Beta 2 glikoprotein-1 antikor Ig G/IgM için standart ELISA yöntemi ile en az 12 hafta ara ile (<5 yıl) en az 2 ölçümde saptanmış IgG ve/veya IgM orta veya yüksek titrede pozitiflik (99.persentil) aPL antikorlar ilk olarak 1906 yılında sifilizli hastalarda sığır kalbi ile reaksiyon veren, komplemanı fikse eden antikorlar olarak tanımlandı. Daha sonra antijenin kardiyolipin olduğu saptandı ve sifilizli hastalarda tarama testi olan VDRL geliştirildi. 2. Dünya Savaşı'ndan sonra yapılan geniş sifiliz taramalarında serolojik veya klinik olarak sifiliz olmayan kişilerde kronik veya geçici VDRL yanlış pozitiflikleri saptandı. Geçici

pozitiflikler daha çok non-sifilitik enfeksiyonlarla ilgilidir ancak ısrarlı pozitif olan hastalarda sistemik otoimmün hastalık en sık da SLE tanımlandı.

1952 yılında Conley ve Hartman SLE hastalarında özel bir in vitro koagülasyon inhibitörü saptadı ki, 1972 yılından beri LA olarak bilinmektedir.

LA aktivitesi, fosfolipidlere bağlanarak in vitro olarak protrombin aktivitesini inhibe eden, in vivo olarak da aşırı pıhtılaşmaya neden olan antikorların varlığıyla ilişkilidir. Daha sonra anlaşıldı ki diğer pıhtılaşma inhibitörlerinin aksine LA kanama ile değil trombozla ilişkilidir.

1980'li yıllarda aCL ELISA testi klinik uygulamaya konuldu. aCL antikorlar, tromboz ve tekrarlayan düşükler arasında ilişki gösterildi ve aPL antikor sendromunun arteriyel ve/veya venöz tromboz, tekrarlayan fetal kayıp, hafif-orta şiddette trombositopeni ile karakterize sistemik otoimmün bir hastalık olduğu tanımlandı. Daha sonra yapılan çalışmalarda LA ve aCL ELISA arasında her zaman bir uyum olmadığı ve aPL saptanması için 2 testin de kullanılması gerektiği ortaya konuldu.

1990'lı yıllarda ELISA ile saptanan otoimmün aCL'lerin fosfolipidlere değil beta 2 glikoprotein I adı verilen fosfolipid bağlayan proteinlere karşı geliştiği bildirildi. Aslında aPL antikor sendromu ile ilişkili antikorlar fosfolipidlere değil plazma proteinlerine karşı gelişmişlerdir.⁴⁴

aCL antikorların ELISA ile tespit edilen 3 izotipi (IgG, IgM, IgA) vardır. Bu antikorlar negatif yüklü fosfotidilserin ve fosfotidilgliserin ile kros reaksiyon verirler. Sifiliz, Q ateşi, AIDS gibi enfeksiyöz hastalıklarda ve sağlıklı kişilerde saptanabilirler. Yapılan bir çalışmada aCL antikorlar RA'da %10, SSc'de %13.3 oranında saptanmışlardır. APS tanı kriterlerine bakıldığında bu antikorlar tromboz veya fetal kayıpla ilişkili ise klinik olarak anlamlıdır. Bu durumda sendrom için spesivitesi %80-90'dır. aCL antikorlarının 3 isotipinin klinik önemi farklıdır. Sadece IgG ve IgM yüksekliği APS tanısında kriterdir. İzole IgM ve daha nadiren IgA yüksekliğinin APS klinik belirtilerle ilgili olduğuna dair yayınlar vardır. Ayrıca IgM RF, IgM aCL yanlış pozitifliğine neden olabilir. SLE ve

diğer kollajen vasküler hastalıklarda IgA aCL seviyeleri ve trombositopeni ilişkili olabilir.⁴⁵

Beta 2 glikoprotein I 52 kDa ağırlığında fosfolipid gibi negatif yüklü moleküllere bağlanan glikozile bir proteindir. 1990 yılından beri patolojik aCL antikorlarının anti beta 2 glikoprotein antikorları oldukları bilinmektedir. Bu antikor grubu heterojen bir gruptur. Bu protein üzerinde farklı antijenik epitoplara tanımlanmıştır. Beta 2 glikoprotein, negatif yüklü fosfolipidlere afinitesi düşük bir proteindir ancak anti beta 2 glikoprotein antikorları varlığında bu afinite 100 kat kadar artar ve anyonik fosfolipid yüzeylerle kompleks yapar. Majör antitrombotik yolak protein C yolağıdır. Protein C trombin tarafından aktive edilir, Va ve VIIIa inaktive edilir. Bu kaskad fosfolipid yüzeyde gerçekleşir.

aPL antikorları sağlıklı kişilerde %1-5, SLE hastalarında %12-34 ve tekrarlayan fetal kaybı olan kadınlarda %10-20 oranında saptanırlar. İleriyeye dönük çalışmalarda bu antikorlar ile ilk venöz tromboz epizodu, ilk miyokard infarktüsü ve tekrarlayan inme-stroke arasında ilişki gösterilmiştir ancak aPL pozitif olan sağlıklı kişilerin ne kadarının trombotik olay geçireceğini söylemek zordur. Fakat pratikte asemptomatik aPL pozitif kişilerin APS açısından risklerinin arttığı bilinmektedir. Semptomsuz kişilerde kronik profilaksi önerilmektedir. Fakat hareketsizlik halinde (özellikle cerrahi ve doğum sonrası dönemde) trombofilaksi önerilmektedir.⁴⁴

ANCA

ANCA, nötrofil ve monosit sitoplazmasında yer alan granüllerdeki antijenlere bağlanırlar. İlk defa 1982 yılında nekrotizan glomerülonefrit ve sistemik vaskülit olan birkaç hastada tanımlanmışlardır. Bu hastalarda miyeloperoksidaz ve proteinaz 3 ana hedef antijenlerdir.⁴⁶

Genellikle IgG tipi antikorlardır. IgM ve IgA tipi antikorlar Henoch Schönlein ve pulmono-renal sendromlarda gösterilmişlerdir.

Ethanol ile fikse edilmiş nötrofillerde IIF ile iki boyanma paterni görülür. Sitoplazmik (c-ANCA) ve perinükleer (p-ANCA). c-ANCA

Wegener granülomatozu ile ilişkilidir. p-ANCA ise mikroskopik polianjitis, idiyopatik kresentrik glomerülonefrit ve Churg Strauss ile ilişkilidir.

Perinükleer boyanma, fiksasyon sırasında katyonik proteinlerin ve miyeloperoksidazın sitoplazmik granüllerden salınması ve çekirdek etrafı gibi negatif yüklü alanlara göç etmesinden kaynaklanır. p-ANCA, MPO ve bazı enzimler, c-ANCA ise PR3 ile ilişkilidir. Atipik ANCA paternleri nadirdir ve hem perinükleer hem sitoplazmik mikst boyanma paterni propisil, diğer ilaçlarla ve RA'da görülebilir. Mikst patern multiple hedef antijen varlığını gösterir.

ANCA, ELISA ve IIF yöntemi ile saptanır. İdiyopatik küçük damar vaskülitinin tanısında her 2 testin kombine kullanılması daha yararlıdır. Bu kombinasyonun spesifitesi %98'dir.⁴⁷

ANCA testi için en sık nedenler Wegener granülomatozu, mikroskopik PAN, nekrotizan kresentrik glomerülonefrit, Churg Strauss tanısını koymak ya da ekarte etmek, bu hastalıkların aktivitesini takip etmektir. ANCA testinin endikasyonları için kılavuz geliştirilmiştir.⁴⁶ Bu kılavuza göre;

1. Hızlı ilerleyici glomerülonefrit
2. Pulmoner hemoraji özellikle pulmoner renal sendrom
3. Sistemik belirtilerin eşlik ettiği kutanöz vaskülit
4. Multiple akciğer nodülleri
5. Üst hava yollarının kronik destrüktif hastalığı
6. Uzun süredir olan sinüzit veya otit
7. Subglottik trakeal stenoz
8. Mononöritis multipleks veya periferik nöropati
9. Retro orbital kitle varlığında test istenmelidir.

ANCA, ülseratif koliti olan hastaların %50-70'inde, Crohn hastalığı olan hastaların %10-30'unda, Felty sendromu ve otoimmün hepatit Tip 1'i olan hastaların %90'nında pozitif saptanır. Bu hastalarda genelde p-ANCA pozitifliği saptanır. RA'da %30, SLE de %10-20 oranında bulunabilirler.

ANCA titrelerinin vaskülit aktivasyonu takibinde kullanılması hala tartışmalıdır. Wegener hastalarında, anti PR3 antikorlarının remisyon indük-

siyonundan sonra ısrarla yüksek kalması relaps için risk faktörüdür.

ANCA'nın vaskülit patogenezindeki rolü net değildir; ancak bu antikörler nötrofilin stimülatör ve inhibitör fonksiyonlarını aktive edebilir. Böylece monosit/makrofaj sistemi aktive olur, oksidatif kaskad aktive olur ve direkt doku hasarı başlar.

Sonuç olarak, otoantikörler otoimmün hastalıkların erken göstergesidirler. Bazıları, hastalık patogenezinde direkt rol oynayabilir. Her otoantikörün kendine özgü romatolojik hastalıklarla ilişkisi vardır, ancak bu antikörlerin tespitinde kullanılan klinik çalışmaların duyarlılığı arttıkça bu ilişkilerin özgünlüğü azalmıştır. Otoantikörler hastaların klinik değerlendirilmesinde büyük ölçüde yardımcıdır, ancak tanı koydurucu değildir. Hedef antijenlerine bağlanarak ve immün hasarı tetikleyerek veya dolaylı olarak immün kompleks oluşturarak hastalıkları başlatabilirler. Konvansiyonel B-hücre yanıtıyla uyumlu olarak, otoimmün hastalıklarla ilişkili antikörlerin çoğu antijenlerce seçilir ve T-hücresi yardımı gereklidir. Bu antikör yanıtlarının nasıl başladığı ve düzenlendiği halen araştırma konusudur.^{48,49}

Teşekkür

Bu yazının hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocamız Sayın Prof.Dr. Ümit ÖLMEZ'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Craft JE. Diagnostic tests in rheumatic diseases. In: Goldman L, Ausiello D, eds. Cecil Textbook of Medicine. 22nd ed. Saunders Company; 2003. p.1627-30.
- Davidson, A, Diamond, B. Autoimmune diseases. N Engl J Med 2001; 345:340.
- Roitt I, Brostoff J, Male D. Autoimmunity and autoimmune disease. In: Roitt I, ed. Immunology. 5th ed. St Louis: Mosby; 2000. p.367-77.
- Wiik AS. Anti-nuclear autoantibodies: clinical utility for diagnosis, prognosis, monitoring, and planning of treatment strategy in systemic immunoinflammatory diseases. Scand J Rheumatol 2005;34:260-8.
- Shoenfeld Y. Introduction to autoantibodies-the smoke and the fire. Autoimmunity 2005;38:1-2.
- Solomon, DH, Kavanaugh, AJ, Schur, PH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. Arthritis Rheum 2002;47:434-44
- Shmerling RH. Diagnostic tests for rheumatic disease: clinical utility revisited. South Med J 2005;98:704-11.
- Sheldon J. Laboratory testing in autoimmune rheumatic diseases. Best Pract Res Clin Rheumatol 2004;18:249-69.
- Ismail AA, Snowden N. Autoantibodies and specific serum proteins in the diagnosis of rheumatological disorders. Ann Clin Biochem 1999;36(Pt 5):565-78.
- Hahn BH. Antibodies to DNA. N Engl J Med 1998;338:1359-68.
- Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus 2004;13:290-7.
- Waldman M, Madaio MP. Pathogenic autoantibodies in lupus nephritis. Lupus 2005;14:19-24.
- Phan TG, Wong RC, Adelstein S. Autoantibodies to extractable nuclear antigens: making detection and interpretation more meaningful. Clin Diagn Lab Immunol 2002;9:1-7.
- Lock RJ, Unsworth DJ. Antibodies to extractable nuclear antigens. Has technological drift affected clinical interpretation? J Clin Pathol 2001;54:187-90.
- Migliorini P, Baldini C, Rocchi V, Bombardieri S. Anti-Sm and anti-RNP antibodies. Autoimmunity 2005;38:47-54.
- Egner W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. J Clin Pathol 2000;53:424-32.
- Ho KT, Reveille JD. The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. Arthritis Res Ther 2003;5: 80-93.
- Caporali R, Bugatti S, Bruschi E, Cavagna L, Montecucco C. Autoantibodies to heterogeneous nuclear ribonucleoproteins. Autoimmunity 2005;38:25-32.
- Steiner G, Stolen J. Autoantibodies in rheumatoid arthritis and their significance. Arthritis Res Ther 2002;4 (suppl 2):1-5.
- Franceschini F, Cavazzana I. Anti-Ro/SSA and La/SSB antibodies. Autoimmunity 2005;38:55-63.
- Gerli R, Caponi L. Anti-ribosomal P protein antibodies. Autoimmunity 2005;38:85-92.
- Bonfa E, Golombek SJ, Kaufman LD, et al. Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies. N Engl J Med 1987;317:265-71.
- Schneebaum AB, Singleton JD, West SG, et al. Association of psychiatric manifestations with antibodies to ribosomal P proteins in systemic lupus erythematosus. Am J Med 1991;90:54-62.
- Eber T, Chapman J, Shoenfeld Y. Anti-ribosomal P-protein and its role in psychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus: myth or reality? Lupus. 2005;14:571-5.
- Hulsey M, Goldstein R, Scully L, Surbeck W, Reichlin M. Anti-ribosomal P antibodies in systemic lupus erythematosus: a case-control study correlating hepatic and renal disease. Clin Immunol Immunopathol 1995;74:252-6.
- Reichlin M, Wolfson-Reichlin M. Correlations of anti-dsDNA and anti-ribosomal P autoantibodies with lupus nephritis. Clin Immunol 2003;108:69-72.

27. Habash-Bseiso DE, Yale SH, Glurich I, Goldberg JW. Serologic testing in connective tissue diseases. *Clin Med Res* 2005;3:190-3.
28. Basu D, Reveille JD. Anti-scl-70. *Autoimmunity* 2005;38:65-72.
29. Franceschini F, Cavazzana I, Generali D, Anti-Ku antibodies in connective tissue diseases: clinical and serological evaluation of 14 patients. *J Rheumatol* 2002;29:1393-7.
30. Kuwana M, Kimura K, Hirakata M, Kawakami Y, Ikeda Y. Differences in autoantibody response to Th/To between systemic sclerosis and other autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis* 2002;61:842-6.
31. Tormey VJ, Bunn CC, Denton CP, Black CM. Anti-fibrillarin antibodies in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2001;40:1157-62.
32. Zampieri S, Ghirardello A, Iaccarino L, Tarricone E, Gambari PF, Doria A. Anti-Jo-1 antibodies. *Autoimmunity* 2005;38:73-8.
33. Hengstman GJ, van Engelen BG, van Venrooij WJ. Myositis specific autoantibodies: changing insights in pathophysiology and clinical associations. *Curr Opin Rheumatol* 2004;16:692-9.
34. Biswas T, Miller FW, Takagaki Y, Plotz PH. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection and quantitation of anti-Jo-1 antibody in human serum. *J Immunol Methods* 1987;98:243-8.
35. Ghirardello A, Zampieri S, Iaccarino L, et al. Anti-Mi-2 antibodies. *Autoimmunity* 2005;38:79-83.
36. Vincent C, Nogueira L, Clavel C, Sebbag M, Serre G. Autoantibodies to citrullinated proteins: ACPA. *Autoimmunity* 2005;38:17-24.
37. Khosla P, Duggal L. Anti CCP antibodies in rheumatoid arthritis. *J Indian Rheumatol Assoc* 2004;12:143-6.
38. Mimori T. Clinical significance of anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis. *Intern Med* 2005;44:1122-6.
39. Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2003;62:870-4.
40. Bas S, Genevay S, Meyer O, Gabay C. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42:677-80.
41. Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 2001;47:1089-93.
42. Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis* 2004;63:1085-9.
43. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006;4:295-306.
44. de Groot PG, Derksen RH. Pathophysiology of antiphospholipid antibodies. *Neth J Med* 2004;62:267-72.
45. Marai I, Tincani A, Balestrieri G, Shoenfeld Y. Anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I antibodies. *Autoimmunity* 2005;38:33-8.
46. Radice A, Sinico RA. Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Autoimmunity* 2005;38:93-103.
47. Saleh A, Stone JH. Classification and diagnostic criteria in systemic vasculitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005;19:209-21.
48. Peng SL, Craft J. Antinuclear antibodies. In: Harris ED, Budd RC, Genovesa MC, Firestein GS, Sargent JS, Sledge CB, eds. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. 6th ed. Philadelphia, Pennsylvania WB: Saunders Company; 2001. p.161-83.
49. Reeves WH, Satoh M. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus. In: Koopman WJ, ed. *Arthritis and Allied Conditions*. 14th ed. Philadelphia, PA Lippincott Williams and Wilkins; 2001. p.1480-502.