

İnflamatuvar Barsak Hastalıklarında Antinötrofil Sitoplazmik Antikor (p-ANCA) Sıklığı ve Klinik Önemi

FREQUENCY AND CLINICAL IMPORTANCE OF ANTINEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODY (p-ANCA) IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASES

Mehmet Derya ONUK*, Sabahattin KAYMAKOĞLU**, A. Rıza ODABAŞ***, Nuray GÜREL-POLAT****, Bülent YASSIKAYA*****, Ramazan ÇETİNKAYA*****

* Doç.Dr., Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD, ERZURUM
** Prof.Dr., İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenterohepatoloji BD, İSTANBUL
*** Yrd.Doç.Dr., Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, ERZURUM
**** Bio., İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Viroloji ve Temel İmmünoloji BD, İSTANBUL
***** Dr., Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD,
***** Yrd.Doç.Dr., Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, ERZURUM

Özet

Özellikle ülseratif kolit (ÜK) li hastalarda perinükleer anti nötrofilik sitoplazmik antikorların (p-ANCA) pozitifliğinin yüksek oranda bildirilmesine rağmen, bunların patolojik ve klinik önemleri bilinmemektedir.

Bu çalışmada, ÜK ve Crohn hastalığında (CH) p-ANCA prevalansını ve bunun klinik bulgularla olan ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Yaptığımız çalışmada, p-ANCA 44 ÜK, 20 CH ve 20 sağlıklı bireyde indirekt immünofloresan metodla çalışıldı. Veriler Fisher exact X2 ve Yates tarafından düzeltilmiş X2 testleri kullanılarak değerlendirildi. p-ANCA 44 ÜK'li hastanın 19'unda (%43.1), CH olan 20 hastanın 2'sinde (%10) pozitif olarak bulunurken, sağlıklı kontrol grubunda tümüyle negatif idi ($p < 0.001$, $p = 0.487$). ÜK'lilerde, p-ANCA pozitifliği CH'lilerden istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla idi ($p = 0.019$).

İnflamatuvar barsak hastalığının lokalizasyonu ve yaygınlığı ile p-ANCA pozitifliği arasında bir ilişki bulunmadı.

Anahtar Kelimeler: İnflamatuvar barsak hastalığı, Ülseratif kolit, Crohn hastalığı, p-ANCA

T Klin Gastroenterohepatol 2001, 12:177-180

Summary

Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (p-ANCA) have been found consistently in patients with ulcerative colitis. However, their pathogenetic and clinical role is still uncertain.

In this study, we tested the prevalence of p-ANCA in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease, with particular attention to the correlation with clinical features.

p-ANCA reactivity was investigated with indirect immunofluorescence in 44 patients with ulcerative colitis, 20 patients with Crohn's disease, and 20 unrelated healthy subjects.

p-ANCA were found in 19 of 44 patients with ulcerative colitis (43.1 percent), 2 of 20 patients with Crohn's disease (10 percent), and none of 20 healthy subjects; ($p < 0.001$, $p = 0.487$). p-ANCA were significantly more frequent in patients with ulcerative colitis than patients with Crohn's disease ($p < 0.019$). In conclusion, there was no correlation between p-ANCA and the localization or extent of the inflammatory bowel disease.

Key Words: Inflammatory bowel disease, Ulcerative colitis, Crohn's disease, p-ANCA

T Klin J Gastroenterohepatol 2001, 12:177-180

Anti-nötrofilik sitoplazmik antikorlar (ANCA), lökositlerin lizozomal granüllerindeki proteinlere karşı gelişmiş olan otoantikorlardır. Bu antikorların

Geliş Tarihi: 14.03.2001

Yazışma Adresi: Dr.Mehmet Derya ONUK
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Gastroenteroloji BD, ERZURUM

immünofloresans yöntemine göre ayırt edilen farklı mikroskopik görünümleri bakımından iki tipi belirlenmiştir. Söz konusu bu antikorlar perinükleer boyanma paterni gösteren (p-ANCA) ile diffüz sitoplazmik boyanma gösteren (c-ANCA) dır. Bu antikorlar daha çok pauci-immun vaskülitlerde bulunmakla birlikte, başta inflamatuvar hastalıklar olmak üzere bir çok hastalıkta pozitif olarak bulunabilmektedir. Son yıllarda p-ANCA'nın inflamatuvar

barsak hastalıklarında da pozitif olarak bulunabileceğine ilişkin yayınlara giderek artan sıklıkta rastlanmaktadır (1-12,14-19).

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBH) olarak adlandırılan ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığı (CH) 'nın etyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte immün mekanizmaların patogeneizde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (1,2). ÜK ve CH aynı grup içinde yer alan hastalıklar olmakla birlikte, çok muhtemeldir ki temel olarak farklı hastalıklardır. Kolonu tutan %10 kadar CH durumunda ayırıcı tanı zor olmaktadır. Hücre aracılıklı immün sistem bozukluklarına ilave olarak çeşitli otoantikolar da İBH'nda tanımlanmıştır (1-3). ANCA'da bunlardan birisidir.

ANCA'ların tesbitinden bu yana, başta inflamatuvar barsak hastalıkları olmak üzere vaskülit olmayan bir çok hastalıkta da varlıkları gösterilmiştir (4,5,13). Bu antikolar İBH'da karakteristik olarak perinükleer şekildedir. p-ANCA ÜK'de yüksek titrelerde bulunmuşken, CH'larının çok az bir kısmında gösterilebilmiştir (1,3,6-8). Primer sklerozan kolanjitlilerin (PSK) de büyük çoğunluğunda p-ANCA pozitif bulunmuştur (9-11). Çeşitli çalışmalarda farklı p-ANCA sıklığı bildirilmiştir. Bu farklılık uygulanan teknikten çok, farklı topluluklar ve etnik gruplardaki çeşitliliğe bağlanmıştır (6). Çalışmamızda İBH tanısı konulan hastalarda p-ANCA sıklığını, bu antikoların ÜK ile CH'daki dağılımını, ayırıcı tanıda yardımcı olup olamayacağını ve hastalığın lokalizasyonu ile ilişkisini incelemeyi amaçladık.

Materyel ve Metod

Çalışmaya tanıları daha önceden klinik, kolonoskopik ve histopatolojik olarak konulmuş, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenterohepatoloji polikliniği ile Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji polikliniğinde ayaktan izlenen, yaşları 18-65 (38.9±13.7) arasında değişen 23'ü kadın, 21'i erkek 44 ÜK, ve yaşları 20-49 (33.3±7.6) arasında değişen 11'i kadın, 9'u erkek 20 CH olmak üzere toplam 63 İBH'ı olan hasta dahil edildi. Kontrol grubu olarak yaşları 21-59 (35.7±10.3) arasında değişen 12 bayan 8 erkek toplam 20 sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi. Tüm İBH'ları 5-ASA ve steroid ile remisyondaydılar. Hastaların demografik

Tablo 1. Hastaların demografik özellikleri

| | ÜK | CH |
|----------------------------------|-------|-------------|
| Hasta sayısı | 44 | 20 |
| Hasta yaşı | | |
| Bayan/erkek | 23/21 | 11/9 |
| Hastalık süresi | | |
| <5 yıl | 17 | 7 |
| 5-10 yıl | 14 | 7 |
| >10 yıl | 13 | 6 |
| Eşlik eden hastalıklar | | |
| Artralji veya artrit | 32 | 7 |
| Eritema nodozum | 2 | 1 |
| Uveit yada iritis | 1 | 1 |
| Primer sklerozan kolanjit | 2 | 1 |
| Kolelityazis | 2 | 1 |
| Nefrolityazis | 1 | 2 |
| Hepatosteatoz | 2 | 1 |
| Cerrahi tedavi | 1 | 1 |
| Medikal tedavi | | |
| Oral 5-ASA prep. | 35 | 12 |
| Kortikosteroid | 9 | 8 |
| Barsak tutulumunun lokalizasyonu | | |
| Distal | 13 | Kolit 7 |
| Sol kolon | 17 | İleokolit 4 |
| Pankolit | 14 | İleit 9 |

analizi Tablo 1'de, gösterilmiştir. ÜK'lilerin 13'ü distal, 17'i sol kolon, 14'ü pankolit tutulumlu, CH'larının 7'si kolit, 4'ü ileokolit, 9'u ileit şeklinde idi. ERCP ile tanıları konmuş ÜK grubunda 2, CH grubunda 1 hastada primer sklerozan kolanjit (PSK) mevcuttu.

Toplam 63 İBH'sının serumlarında, altın standart olarak kabul edilen indirekt immüno floresan (İİF) metodu ile p-ANCA tayin edildi. Çalışılana kadar -20°C'de saklanan serum örnekleri PBS ile 1/10 sulandırıldı. Her çalışmada p-ANCA ve c-ANCA pozitif serum kontrol amacıyla kullanıldı. Hazır preparatların üzerine hasta serumlarından 50 mL konuldu. Karanlık ve nemli ortamda oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. Beş dakika PBS ile yıkama işlemi yapıldı. Elli mL FITC işaretli IgG konularak karanlık ve nemli ortamda inkübe edildi. Beş dakika PBS ile yıkandı. Kapatma medyumunu ile kapatılarak floresan mikroskopunda değerlendirildi.

Verilerin istatistiksel yorumu 'SPSS for windows 7.5' bilgisayar istatistik programı kullanılarak yapıldı. p-ANCA pozitifliğinin ÜK, CH ve kontrol

Tablo 2. ÜK'li hastalarda kolon tutulumu ve p-ANCA pozitifliği

| Tutulmuş kolon segmenti | Hasta sayısı | p-ANCA pozitifliği |
|-------------------------|--------------|--------------------|
| Distal kolon | 13 | 6 |
| Sol kolon | 17 | 7 |
| Pankolit | 14 | 6 |

gruplarında karşılaştırılması için Fisher exact X2 testi, ÜK'li hastalarda hastalığın lokalizasyonu ile p-ANCA pozitifliği arasındaki ilişkinin araştırılması için Yates tarafından düzeltilmiş X2 testi kullanıldı.

Bulgular

ÜK'li hastaların 19'unda (%43.1), CH olan hastaların ise 2'sinde (%10) p-ANCA (+) olarak bulundu. Kontrol grubunda bulunan hiçbir hastada p-ANCA pozitifliğine rastlanılmadı. ÜK'li hastalarla kontrol grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlı olmasına karşılık ($p < 0.001$), CH olan hastalar ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunamadı ($p = 0.487$). ÜK'li hastalarla CH'lı hastalar p-ANCA pozitifliği açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttu ($p < 0.019$). ÜK'li hastalarda, hastalığın kolondaki distal kolon, sol kolon ve pankolit şeklindeki lokalizasyonu ile p-ANCA arasında bir ilişki bulunamadı ($p = 0.465$, $p = 0.564$, $p = 0.286$) (Tablo 2).

Tartışma

ÜK, kronik gidişli inflamatuvar bir barsak hastalığı olup, hastaların yaklaşık olarak %75'inde remisyon ve alevlenmelerin birbirini izlediği bir seyir vardır. İnflamatuvar barsak hastalığı otoimmün bir hastalık olmamasına rağmen, hastalığın patogenezinde immunolojik bir çok faktörün rol aldığını gösteren bulgular mevcuttur. Hastalıkta çok sayıda otoantikör tesbit edilmiştir. Bu antikörlerden bir çoğunun patogenezdeki rolleri bilinmese de bir kısmının teşhisde önemli yerleri vardır. Nötrofil ve monositlerdeki sitoplazmik antijenlere karşı gelişmiş bulunan ANCA'ların tesbitinden bu yana, bu antikörlerin başta inflamatuvar barsak hastalıkları olmak üzere vaskülit olmayan birçok hastalıkta varlığı gösterilmiştir. İnflamatuvar barsak

hastalığında görülen ANCA daha çok p-ANCA'dır (1-8).

İnflamatuvar barsak hastalığının seyri sırasında görülen ANCA pozitifliğinin fizyopatolojisi aydınlatılamamıştır. Hastaların niçin hepsinde değil de bir kısmında ANCA pozitifliğine rastlandığı hala bir soru işaretidir. Bilindiği üzere, ÜK'li hastalarda bir çok otoimmün fenomenle karşılaşmaktadır (15). Belki de hastalardaki HLA yapısı bu hastalarda p-ANCA varlığını belirleyici bir rol oynamaktadır. ÜK'li hastaların sağlam yakınlarında p-ANCA pozitifliğinin yüksek olması bu görüşü desteklemektedir (16). Yine benzer şekilde yapılan çalışmalarda, p-ANCA pozitifliğinin farklı etnik gruplarda değişiklikler göstermesi de, bu genetik heterojeniteyi desteklemektedir (17). Bazı yazarlar ÜK seyri sırasında görülen ANCA pozitifliğinin sadece bir epifenomen olmadığı ve bunun immün regülasyondaki bir bozukluğu yansıtabileceği şeklinde bir iddiada bulunmaktadır (5).

ÜK ve CH ayırıcı tanısında, özellikle de kolonu tutan, kesin tanıya gidişte güçlük çekilen İBH'da p-ANCA tayininin faydalı olabileceği bildirilmektedir (3,8). Oudkerk ve arkadaşlarının 120 ÜK, 105 CH üzerinde yaptıkları bir çalışmada p-ANCA pozitifliğine ÜK olan hastaların %79'unda, CH olan hastaların ise %13'ünde rastlanıldığı bildirilmektedir (8). Toplam 100 İBH ile yapılan bir başka çalışmada ise p-ANCA sıklığı ÜK'de %54, CH'da %10 çıkmıştır (2). Genel olarak p-ANCA sıklığı ÜK'de %33 ile 84 arasında, CH'da %2 ile 10 arasında bildirilmiştir (1-3,5,8, 10,12). p-ANCA sıklığı ile ilgili bildirilerdeki farklı sıklık oranları teknik çeşitliliklere ve farklılıklara değil de çalışılan hasta gruplarının etnik ve grup farklılıklarına bağlanmaktadır (6). Bizim çalışmamızda İBH'larında p-ANCA sıklığı; dış kaynaklı benzer çalışmalarda bulunanlardan daha düşük, ancak benzer şekilde ÜK'lilerde CH'lılara göre belirgin derecede yüksek olarak bulundu. Ülkemizde 15 ÜK hastasında yapılmış bir çalışmada p-ANCA pozitifliği %66 olarak bildirilmiştir (14). Bu farklılığın bizim çalışmamızdaki hastaların hepsinin tedavi altında remisyonunda olmalarına bağlı olabileceğini düşünüyoruz. Çalışmamızda bulduğumuz, literatürdekilere göre nispeten düşük p-ANCA sıklıklarını toplumumuzun özelliği olarak değerlendirmekteyiz.

ÜK'li hastalarımızda hastalığın kolondaki lokalizasyonu ile p-ANCA pozitifliği arasında bir ilişki saptayamadık. Roozendaal ve arkadaşları, 60 ÜK'li hastada yaptıkları çalışmada, hastalığın kolondaki lokalizasyonu ile p-ANCA pozitifliği arasında bir ilişki olmadığını ifade etmektedirler (18). Yine ÜK'li hastalarda hastalığın aktivitesi ve kolondaki lokalizasyonu ile p-ANCA pozitifliği arasında ilişkinin olmadığını ifade eden başka yayınlara da rastlanılmaktadır (11,12,17). Sonuç olarak p-ANCA pozitifliğinin ÜK'de CH'a göre belirgin şekilde yüksek olduğu, ÜK-CH ayırıcı tanısında faydalı olabileceği, toplumumuzdaki İBH'da nispeten düşük olmasının bizim toplumumuzun bir özelliği olabileceği düşüncesi ile bu çalışmamızın başka çalışmalarla da desteklenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Rump JA, Schölmerich J, Gross V. A new type of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody (p-ANCA) in active ulcerative colitis but not in Crohn's disease. *Immunobiol* 1990; 181: 406-13.
2. Cambridge G, Rampton DS, Stevens TRJ. Anti-neutrophil antibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut* 1992; 33: 668-74.
3. Saxon A, Shanahan F, Landers C, Ganz T, Targan S. A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:202-10.
4. Gross WL, Schmitt WH, Csernok E. ANCA and associated diseases: immunodiagnostic and pathogenetic aspects. *Clin Exp Immunol* 1993; 91: 1-12.
5. Duerr RH, Targan SR, Landers CJ, Sutherland LR, Shanahan F. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis. Comparison with other colitides/diarrheal illnesses. *Gastroenterology* 1991; 100:1590-6.
6. Shanahan F. Neutrophil autoantibodies in inflammatory bowel disease: Are they important? *Gastroenterology* 1994; 107: 586-9.
7. Castellino F, Rosina F, Bansi DS. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease: do they recognize different subsets of a heterogeneous disease? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7: 859-64.
8. Oudkerk Pool M, Ellerbroek PM, Ridwan BU, Goldschmeding R, von Blomberg BM, Pena AS, et al. Serum antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease are mainly associated with ulcerative colitis. A correlation study between perinuclear antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and clinical parameters, medical, and surgical treatment. *Gut* 1993 ;34:46-50.
9. Hardarson S, Labrecque DR, Mitros FA. Antineutrophil cytoplasmic antibody in inflammatory bowel and hepatobiliary diseases. *Am J Clin Pathol* 1993; 99: 277-81.
10. Lo SK, Fleming KA, Chapman RW. Prevalence of anti-neutrophil antibody in primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis using alkaline phosphatase technique. *Gut* 1992; 33: 1370-5.
11. Snook JA, Chapman RW, Fleming K. Anti-neutrophil nuclear antibody in ulcerative colitis, Crohn's disease and primary sclerosing cholangitis. *Clin Exp Immunol* 1989; 76: 30-3.
12. Seibold F, Slametschka D, Gregor M. Neutrophil autoantibodies: A genetic marker in primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1994; 107: 532-6.
13. Hagen EC, Ballieux BEPB, van Es LA. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Blood* 1993; 81: 1996-2002.
14. Arslan S, Akcan Y, Bakkaloğlu A, Canoruç F, Kansu E, Tuncer S, ve ark. Amibik kolit ve ülseratif kolitisin tanı ve ayırıcı tanısında p-ANCA'nın önemi. *Turkish J Gastroenterol* 1996; 7 (S 1) : B22.
15. Kodaira M, Hanai H, Kajimura M, Futami H, Maruyama Y, Sato Y, Arai H, Kaneko E. Further evidence that exacerbation of ulcerative colitis causes the onset of immune thrombocytopenia: a clinical case. *Am J Gastroenterol* 1999 ;94:1408-10.
16. Shanahan F, Duerr RH, Rotter JI, Yang H, Sutherland LR, McElree C, Landers CJ, Targan SR. Neutrophil autoantibodies in ulcerative colitis: familial aggregation and genetic heterogeneity. *Gastroenterology* 1992 ;103:456-61.
17. Freeman HJ. Inflammatory bowel diseases in Indo-Canadians with and without antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Can J Gastroenterol*: 2000 ;1:21-6.
18. Roozendaal C, Pogany K, Hummel EJ, Horst G, Dijkstra G, Nelis GF, Limburg PC, Kleibeuker JH, Kallenberg CG. Titres of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease are not related to disease activity. *QJM* 1999;92:651-8.
19. Onuk MD, Güler N, Kaymakoğlu S, Demir K, Badur S, Ökten A. Ülseratif kolit ve Crohn hastalığında p-ANCA sıklığı. *Turkish J Gastroenterol* 1997; 8 (S 1) : 61.