



UşakEğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Gönderilen Antinükleer Antikor Testi Sonuçlarının ve İmmünoblot ANA Profil Testi ile Uyumunun Retrospektif Analiz

A Retrospective Analysis of Antinuclear Antibody Test Results Sent to the Medical Microbiology Laboratory of Uşak Training and Research Hospital and Compatibility with the Immunoblot ANA Profile Test Concordance

Betül GÜNAYDIN¹, Hüseyin Haydar KUTLU²

¹Uşak Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Uşak, Türkiye

²Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uşak, Türkiye

ÖZ

Amaç: Çalışmamızda antinükleer antikor indirekt immüno Floresan (ANA-İİF) test istemiyle çeşitli kliniklerden gönderilen numuneleri retrospektif olarak tarayarak, ANA-İİF patern dağılımı, ANA-İİF ile anti-ekstrakte edilebilir antijen (anti-ENA) immünoblot testleri arasındaki uyumu değerlendirmeyi hedefledik.

Gereç ve Yöntem: Otoimmün hastalık şüphesiyle *** Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 01.01.2023-31.12.2024 tarihleri arasında ANA-İİF test istemiyle çeşitli kliniklerden gönderilen 6,980 numune verisi retrospektif olarak değerlendirmeye alınmıştır. Bu numunelerin ANA-İİF testleri ve beraberinde çalışılırsa anti-ENA immünoblot test sonuçları değerlendirilmiştir. Anti-ENA immünoblot test panelinde yoğun ince benekli 70 (DFS70), histon, nükleozom, Sjögren sendromu antijeni-A, Sjögren sendromu antijeni-B, Mi-2, Ku, Ro-52, Scl-70, PM-Scl100, sentromer protein-B, Sm, nRNP/Sm, proliferasyon hücre nükleer antijeni, Jo-1, M2, Ribozomal P antijenlerine karşı otoantikörler araştırılmaktadır.

Bulgular: Numunelerin %34,1'inde (2380/6980) çeşitli patern ve titrelerde ANA pozitifliği saptanmıştır. En sık gözlenen paternler sırasıyla; ince benekli [anti-hücre-4 (AC-4), %22,23], DFS (AC-2, %14,12) ve nükleoler (AC-8, AC-9, AC-10; %10) paternlerdir. ANA ile ENA test sonuçları arasında en yüksek uyum sentromer (AC-3) ve topoizomerez I-benzeri (AC-29) paternlerde gözlenmiştir. İmmünoblot testinde en sık saptanan otoantikör hedefleri DFS70 ve Mi-2 antijenleridir.

Sonuç: Otoimmün hastalık şüphesiyle gönderilen örneklerde DFS70 otoantikörlerinin belirgin oranda yer aldığı görülmüştür. Bu nedenle, DFS70 ve Mi-2 antijenlerini içeren test panelleri değerli olmakla birlikte, klinik verilerin de dahil edildiği daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antinükleer antikor, anti-ENA immünoblot, DFS70, Mi-2

ABSTRACT

Aim: In our study, we retrospectively analyzed samples sent from various clinics with antinuclear antibody indirect immunofluorescence (ANA-IIF) test requests, aiming to evaluate the distribution of ANA-IIF patterns and the concordance between ANA-IIF and anti-extractable nuclear antigens (anti-ENA) immunoblot test results.

Materials and Methods: A total of 6.980 samples submitted with ANA-IIF test requests from various clinics to the Medical Microbiology Laboratory of Uşak Training and Research Hospital between January 1, 2023, and December 31, 2024, were retrospectively evaluated due to suspected autoimmune disease. The ANA-IIF test results of these samples, along with the anti-ENA immunoblot test results—if performed—were assessed. The

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Betül GÜNAYDIN, Uşak Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Uşak, Türkiye

E-posta: xxxxxxxxxx **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-9864-838X

Geliş Tarihi/Received: 04.08.2025 **Kabul Tarihi/Accepted:** 21.10.2025 **Yayınlanma Tarihi/Publication Date:** 19.12.2025

Atıf/Cite this article as: Günaydin B, Kutlu HH. A retrospective analysis of anti-nuclear antibody test results sent to the Medical Microbiology Laboratory of Uşak Training and Research Hospital and compatibility with the immunoblot ANA profile test concordance. Nam Kem Med J. 2025;13(4):427-433



©Telif Hakkı 2025 Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi / Namık Kemal Tıp Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

©Copyright 2025 by Tekirdağ Namık Kemal University / Namık Kemal Medical Journal is published by Galenos Publishing House.

Creative Commons Atıf-GayriTicari-Türetilemez 4.0 (CC BY-NC-ND) Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

anti-ENA immunoblot test panel includes the detection of autoantibodies against the following antigens: dense fine speckled 70 (DFS70), histone, nucleosome, Sjögren's syndrome antigen-A, Sjögren's syndrome antigen-B, Mi-2, Ku, Ro-52, Scl-70, PM-Scl100, centromere protein-B, Sm, nRNP/Sm, proliferating cell nuclear antigen, Jo-1, M2, and ribosomal P protein.

Results: ANA positivity was detected in 34.1% (2,380/6,980) of the samples, with various patterns and titers. The most common patterns were fine speckled (AC-4, 22.23%), DFS (AC-2, 14.12%), and nucleolar (AC-8, AC-9, AC-10; 10%). The highest concordance between ANA and ENA results was observed in centromere (AC-3) and topoisomerase I-like (AC-29) patterns. In the immunoblot test, DFS70 and Mi-2 antigens were the most frequently detected targets.

Conclusion: DFS70 autoantibodies were found to be prevalent among samples with suspected autoimmune disease. Therefore, panels including DFS70 and Mi-2 antigens are valuable; however, further studies incorporating clinical data are necessary to better clarify their diagnostic relevance and appropriate usage.

Keywords: Antinuclear antibody, anti-ENA immunoblot, DFS70, Mi-2

GİRİŞ

Otoimmün hastalıklar, "immünolojik tolerans" durumunun bozulduğu, organizmanın kendi antijenlerine karşı otoantikor geliştirdiği durumlardır. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) otoimmün hastalıkların prevalansı yaklaşık %7-8 olarak bildirilmiştir. Sanayileşmiş ülkelerde bu oran yaklaşık %5¹ olarak tahmin edilmektedir. ABD'den bir rapor, otoimmün hastalıklara yönelik ulusal harcamaların sürekli arttığını da belirtmektedir². Otoimmün hastalıklar genel olarak iki kategoriye ayrılır: sistemik ve organ-spesifik. Sistemik otoimmün hastalıklar, sistemik lupus eritematosus (SLE), romatoid artrit (RA), juvenil idiyopatik artrit, skleroderma, sistemik skleroz (SSc), Sjögren sendromu, polimiyozit (PM) ve dermatomiyozit (DM) gibi durumları içerir. Otoantikorlar, bu hastalıkların tanısı, tedavisi ve izlenmesinde kritik rol oynar. Otoimmün hastalıkların tanısında yaygın olarak değerlendirilen antinükleer antikorlar (ANA), hücre çekirdeği içindeki çeşitli antijenleri hedefleyen büyük bir otoantikor grubunu oluşturur¹. Ancak "antinükleer antikor" terimi, sitoplazmik ve mitotik yapılara yönelik otoantikorları kapsamadığından, artık "anti-hücre antikor" terimi tercih edilmektedir. Bu kapsayıcı terminolojinin kullanımını teşvik etmek ve sonuç raporlamasını standartlaştırmak amacıyla, Uluslararası Antinükleer Antikor Paternleri Konsensüsü (ICAP), anti-hücre (AC) kod sistemini tanıtmıştır³. ANA tanısında altın standart yöntem, indirekt immüno Floresan (İİF) testidir. Bu yöntemde kullanılan ideal substrat, insan laringeal karsinomdan türetilen Hep-2 hücreleridir. Bu hücreler, geniş bir nükleer, sitoplazmik ve mitotik yapı yelpazesi ifade ettiğinden, otoantikorların varlığında tespiti için tercih edilir. ANA sonucunun pozitif olduğu durumlarda, spesifik otoantikorların varlığı, ekstrakte edilebilir nükleer antijenlere (ENA) karşı antikorlar test edilerek araştırılmalıdır. Bu amaçla enzim-bağlı immüno sorbent test (ELISA) veya immüno blot tekniklerinden yararlanılabilir. Bazı klinik durumlarda ANA-İİF testi yanlış negatif sonuç verebilir. Bu gibi durumlarda, özellikle klinik şüphe yüksekse, anti-ENA testi yine de düşünülebilir. Çalışmamızda, laboratuvarımıza otoimmün hastalık şüphesiyle

ANA-İİF testi isteğiyle gönderilen hasta örnekleri retrospektif olarak analiz edilmiştir¹. Amaç, ANA paternlerinin dağılımını değerlendirmek ve ANA-İİF testi sonuçları ile eşzamanlı istenen veya refleks olarak eklenen anti-ENA immüno blot testi sonuçları arasındaki uyumu incelemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Örnek Seçimi

Bu çalışmada, Uşak Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 01.01.2023 ile 31.12.2024 tarihleri arasında otoimmün hastalık şüphesiyle ANA-İİF testi isteğiyle gönderilen 6980 örneğe ait veriler retrospektif olarak analiz edilmiştir. Çalışma Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (karar no: 321-321-20, tarih: 15.02.2024).

ANA-İİF Testi

ANA-İİF testi için örnekler, üretici talimatlarına göre 1:100 tarama dilüsyonunda HEp-20-10 hücreleri ve maymun karaciğeri substratı kullanılarak İİF test kiti (Euroimmun, Almanya) ile işlenmiştir. Değerlendirme, Eurostar III floresan mikroskobu (Euroimmun AG, Lübeck, Almanya) altında 200x ve 400x büyütmede görsel olarak yapılmıştır. Raporlama, ilgili AC kodları dahil olmak üzere ICAP standartlarına göre gerçekleştirilmiştir. Nükleer bölgede boyanma gösteren hücreler, ilgili pozitiflik titresiyle birlikte raporlanmıştır. Buna karşılık, nükleer boyanma göstermeyen ancak sitoplazmik ve/veya mitotik boyanma gösteren paternler "ANA negatif, yoruma bakınız" olarak raporlanmış ve gözlenen patern yorum bölümünde açıklanmıştır.

Anti-ENA İmmüno blot Testi

Anti-ENA tespiti, Mi-2, Ku, yoğun ince benekli 70 (DFS70) dahil EUROLINE ANA Profil test kiti (Euroimmun, Almanya) ile immüno blot yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Bu kit, aşağıdaki antijenlere karşı oluşan otoantikorları tespit eder:

DFS70, histon, nükleozom, Sjögren sendromu antijeni-A (SS-A), Sjögren sendromu antijeni-B (SS-B), DNA helikaz (Mi-2), DNA bağlayıcı nükleer protein (Ku), Sjögren sendromu antijeni (Ro-52), topoizomeras-1 (Scl-70), histidin tRNA sentetaz (PM-Scl100), sentromer protein-B (CENP-B), Smith antijeni (Sm), nükleer ribonükleoprotein/Smith antijeni (nRNP/Sm), proliferasyon hücre nükleer antijeni (PCNA), sitoplazmik histidil tRNA sentetaz (Jo-1), piruvat dehidrojenaz kompleksi-E2 (M2) ve ribozomal P. Laboratuvarımızda çift iplikli DNA otoantikörlerinin (anti-dsDNA) tespiti için hem ANA-İİF hem de ELISA testleri kullanıldığından, bu antikörlerin sonuçları çalışmaya dahil edilmemiştir.

İstatistiksel Analiz

Verileri özetlemek için tanımlayıcı istatistikler kullanılmıştır. Her ANA-İİF ve anti-ENA immüno blot sonucunun sayısı ve yüzdesi hesaplanmış ve bulgular tablolarda sunulmuştur. Oranlar için %95 güven aralıkları (GA), SPSS sürüm 27 kullanılarak hesaplanmıştır. Yeterli örneklem büyüklüğüne sahip paternler için Wilson yöntemi uygulanmış, küçük örneklem büyüklüklerine veya nadir olaylara sahip paternler için Clopper-Pearson (tam) yöntemi kullanılmıştır. ANA ve ENA test sonuçları arasındaki uyum, her iki testin pozitif ve negatif sonuçlarından oluşan 2x2 kontenjans tablosu temel alınarak Cohen kappa (κ) katsayısı kullanılarak değerlendirilmiştir. Cohen kappa aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\kappa = (P_o - P_e) / (1 - P_e),$$

burada P_o gözlenen uyumu ve P_e tesadüfi uyumu temsil eder. κ değerlerinin yorumu, yaygın kabul gören Landis ve Koch sınıflandırmasına dayalıdır: $\kappa < 0,00$ = kötü, $0,00-0,20$ = hafif, $0,21-0,40$ = orta, $0,41-0,60$ = orta derecede, $0,61-0,80$ = önemli ve $0,81-1,00$ = neredeyse mükemmel uyum. Ayrıca, ANA ve ENA pozitifliği arasındaki istatistiksel ilişkiyi değerlendirmek için ki-kare (χ^2) testi yapılmıştır. P-değeri $< 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Tüm istatistiksel analizler SPSS sürüm 27 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda, Uşak Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na ANA testi isteğiyle gönderilen 6980 örnek retrospektif olarak analiz edilmiştir. İncelenen hasta örnekleri arasında ANA-İİF pozitifliği çeşitli paternler ve titrelerde %34,1 (2380/6980) olarak tespit edilmiştir. Pozitif sonuçların patern tipine göre dağılımı şu şekildedir: tek paternler %73,70 (1754/2380), çift paternler %23,28 (554/2380) ve üçlü paternler %3,02 (72/2380). Tek paternli olanlar arasında: nükleer %55,17 (1313/2380), sitoplazmik %13,19 (314/2380) ve mitotik %5,34 (127/2380). Tek patern

pozitifliği olan örnekler arasında en sık raporlanan patern "ince benekli (AC-4)" olup, tüm pozitif örneklerin %22,23'ünü (529/2380) oluşturmuştur. Bunu "DFS (AC-2)" ve "nükleolar (AC-8, 9, 10)" paternler izlemiştir. En yaygın raporlanan sitoplazmik ve mitotik paternler sırasıyla "ANA-negatif, sitoplazmik ince benekli (AC-20)" ve "ANA-negatif, intercellular köprü (midbody)" olmuştur. Çift paternler pozitif örneklerin %23,28'inde (554/2380) ve üçlü paternler %3,02'sinde (72/2380) gözlenmiştir. Diğer raporlanan pozitif paternlerin sayısal verileri ve oranları Tablo 1'de sunulmuştur. 6980 örnek arasında, eşzamanlı veya refleks test isteği nedeniyle 4069 örnekte anti-ENA immüno blot testi yapılmıştır. Bu 4069 örneğin 1994'ü ANA-İİF pozitif olarak raporlanmışken, 2075'i ANA-İİF negatiftir. Laboratuvarımızda kullanılan anti-ENA immüno blot testinde yer alan antijenlerle ilişkili ANA paternleri ile ANA-ENA testleri arasındaki uyum ve GA Tablo 2'de sunulmuştur. ANA ve ENA arasındaki en yüksek uyumu gösteren paternler "sentromer (AC-3)" ve "topoizomeras I-benzeri (AC-29)" olup, bunu "pleomorfik PCNA (AC-13)" ve "ANA-negatif sitoplazmik retiküler (AC-21)" paternler izlemiştir. Anti-ENA immüno blot testi ile test edilen 1994 ANA-İİF-pozitif örnek arasında 1106'sı anti-ENA antikörleri açısından pozitif bulunmuş ve bu nedenle ANA-ENA uyumlu olarak kabul edilmiştir. Eşzamanlı anti-ENA immüno blot testi isteği olan negatif ANA-İİF testi içeren 2075 örnekte 1883'ü negatif bulunmuş ve ANA-ENA uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Eşzamanlı ANA-İİF ve anti-ENA immüno blot testi isteği olan hastalar için ANA-ENA uyum oranları Tablo 3'te sunulmuştur. ANA ve ENA test sonuçları arasındaki uyum için toplam 4069 serum örneği değerlendirilmiştir. ANA ve ENA pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki gözlenmiştir [χ^2 (1, N=4069)=1267,5, $p<0,001$, $\phi=0,56$]. Cohen'in kappa katsayısı 0,46 (%95 GA: 0,42-0,50) olup, iki test arasında orta düzeyde uyum olduğunu göstermektedir. Ki-kare testi istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterirken, kappa değeri ANA ve ENA sonuçları arasındaki genel uyumun orta düzeyde olduğunu ve bu iki testin tanısal değerlendirmede tamamen birbirinin yerine geçemeyeceğini ima etmektedir. Anti-ENA testi yapılan 4069 örnek arasında, ANA-İİF testi pozitif veya negatif olan tüm örneklerde gözlenen çoklu otoantikör pozitifliği olguları dahil olmak üzere toplam 1917 otoantikör tespit edilmiştir. Anti-ENA testlerinde tanımlanan tüm otoantikörler Tablo 4'te listelenmiştir. ANA negatif çıkan 4600 örnek arasında 2525'inde anti-ENA testi isteği bulunmamıştır. Kalan 2075 örnek için anti-ENA immüno blot testi, klinisyenler tarafından ANA testiyle eşzamanlı olarak istenmiştir. Bunların 1883'ü (%90,75) anti-ENA açısından da negatiftir. Ancak 192 örnekte (%9,25), ANA-İİF sonucu negatif olmasına rağmen çeşitli otoantikörler pozitif olarak tespit edilmiştir. ANA-negatif ancak anti-ENA-pozitif örneklerde tanımlanan en sık beş otoantikörün sayısal verileri ve oranları Tablo 5'te sunulmuştur.

Tablo 1. Antinükleer antikor dolaylı immüno Floresan (ANA-İİF) testinde tek patern pozitifliği gösteren örneklerin dağılımı (n=1754)

AC kodu	Patern adı	n (%)	AC kodu	Patern adı	n (%)	AC kodu	Pattern adı	n (%)
Nükleer		1313 (55,17)	Sitoplazmik		314 (13,19)	Mitotik		127 (5,34)
AC-1	Homojen	96 (4,03)	AC-15	Sitoplazmik fibrillar linear	15 (0,63)	AC-24	Sentrozom	26 (1,09)
AC-2	Yoğun ince benekli	336 (14,12)	AC-16	Sitoplazmik fibriler filamentöz	33 (1,39)	AC-25,26	İğ iplikçikleri	49 (2,06)
AC-3	Sentromer	42 (1,77)	AC-17	Sitoplazmik fibriler segmental	2 (0,08)	AC-27	Hücreler arası köprü	52 (2,19)
AC-4	İnce benekli	529 (22,23)	AC-15,16,17	Sitoplazmik fibriler	44 (1,85)	AC-28	Mitotik kromozomal	0 (0)
AC-5	Kaba benekli	22 (0,93)	AC-18	Sitoplazmik ayırık noktalar	4 (0,17)			
AC-6	Çoklu nükleer noktalar	6 (0,25)	AC-19	Sitoplazmik yoğun ince benekli	11 (0,46)			
AC-7	Az sayıda nükleer nokta	7 (0,29)	AC-20	Cytoplasmic fine speckled	126 (5,29)			
AC-8,9,10	Nükleer	238 (10)	AC-21	Sitoplazmik ince benekli	56 (2,35)			
AC-11,12	Nükleer membran	17 (0,71)	AC-22	Sitoplazmik polar benekli	14 (0,59)			
AC-13	Pleomorfik PCNA	17 (0,71)	AC-23	Sitoplazmik çubuklar ve halkalar	9 (0,38)			
AC-14	Pleomorfik CENP-F	0 (0)						
AC-29	Topoizomerez-I benzeri	3 (0,13)						

AC: Anti-hücre, s: Sayı, P: Yüzde, PCNA: Proliferasyon hücre nükleer antijeni, CENP-F: Sentromer protein-F

Tablo 2. Ekstrakte edilebilir antijen (ENA) immüno blot testindeki antijenlere karşılık gelen otoantikorlar, ilişkili antinükleer antikor dolaylı immüno Floresan (ANA-İİF) paternleri ve ANA-ENA uyum oranları

AC kodu*	Patern adı	İlişkili antijen	Anti-ENA testi yapılan (n)	ANA-ENA uyumlu (n)	ANA-ENA uyum oranı (%)	%95 GA
Pozitif tek paternler			1450	736	50,76	0,48-0,53
Nükleer			1213	711	58,62	0,56-0,61
AC-1	Homojen	Nükleozom, Histon	83	31	37,35	0,28-0,48
AC-2	Yoğun ince benekli	DFS70	311	216	69,45	0,64-0,74
AC-3	Sentromer	CENP-B	40	40	100	0,91-1,00
AC-4	İnce benekli	SS-A, SS-B, Mi-2, Ku	494	342	69,23	0,65-0,73
AC-5	Kaba benekli	nRNP/Sm, Sm	21	14	66,67	0,45-0,83
AC-8, 9, 10	Nükleoler	PM/Scl-100	225	49	21,78	0,17-0,28
AC-13	Pleomorfik PCNA	PCNA	17	16	94,12	0,73-0,99
AC-29	Topoizomerez-I benzeri	Scl-70	3	3	100	0,29-1,00
Cytoplasmic			163	25	15,3	0,11-0,22
AC-19	Sitoplazmik yoğun ince benekli	Ribosomal P	7	1	14,29	0,00-0,58
AC-20	Sitoplazmik ince benekli	Jo-1	68	3	1,47	0,01-0,12
AC-21	Sitoplazmik retiküler	M2	28	21	75	0,57-0,87
Pozitif çift paternler			476	317	66,60	0,62-0,71
Pozitif üçlü paternler			68	53	77,94	0,67-0,86
Toplam			1994	1106	55,47	0,53-0,58

*Yalnızca anti-ENA immüno blot testindeki antijene karşılık gelen ANA-İİF paternleri (1841/1994) tabloya dahil edilmiştir.

AC: Anti-hücre, ANA: Antinükleer antikor, ENA: Ekstrakte edilebilir nükleer antijen, PCNA: Proliferasyon hücre nükleer antijeni, CENP-B: Sentromer protein-B, GA: Güven aralığı, SS-A: Sjögren sendromu antijeni-A, SS-B: Sjögren sendromu antijeni-B, DFS70: Yoğun ince benekli 70

Tablo 3. Eş zamanlı antinükleer antikor dolaylı immüno Floresan (ANA-İİF) ve anti-ekstrakte edilebilir antijen (ENA) immüno blot testi istemi olan hastalarda ANA-İİF pozitifliğine göre ANA-ENA uyum oranı (n=4069)

	ENA pozitif	ENA negatif	Toplam
ANA pozitif	1106 (55,5%-85,2%)	888 (44,5%-32,0%)	1994 (100%-49,0%)
ANA negatif	192 (9,3%-14,8%)	1883 (90,7%-68,0%)	2075 (100%-51,0%)
Toplam	1298 (100%)	2771 (100%)	4069 (100%)

Her bir hücredeki değerler n (sıra %, sütun %) olarak sunulmuştur,
ANA: Antinükleer antikor, ENA: Ekstrakte edilebilir nükleer antijen, İİF: Dolaylı immüno Floresan

Tablo 4. Anti-ENA immüno blot testinde pozitif çıkan örneklerde otoantikorların antijen dağılımı (n=1917)

	DFS70	Mi-2	Ro-52	PM-Scl100	Ku	SS-A	M2	Scl-70	Jo-1	RNP	SS-B	Sentromer	Histone	PCNA	Sentromer	Nükleozom	Sm	Toplam
Numara (n)	336	238	215	174	133	126	125	91	86	83	73	68	60	43	31	23	12	1917
Yüzde (%)	17,5	12,4	11,2	9,1	6,9	6,6	6,5	4,8	4,5	4,3	3,8	3,6	3,1	2,3	1,6	1,2	0,6	100

ENA: Ekstrakte edilebilir nükleer antijen, DFS70: Yoğun ince benekli 70, SS-A: Sjögren sendromu antijeni-A, PCNA: Proliferasyon hücre nükleer antijeni

Tablo 5. ANA negatif örneklerde anti-ENA immüno blot sonuçları (n=4600)

	İstenmedi	Negatif	Ro-52	Jo-1	PM-Scl100	M2	Mi-2	Diğerleri	Toplam
Numara (n)	2525	1883	39	33	22	16	15	67	4600
Yüzde (%)	54,9	40,9	0,9	0,7	0,5	0,3	0,3	1,5	100

ANA: Antinükleer antikor, ENA: Ekstrakte edilebilir nükleer antijen

TARTIŞMA

ANA pozitifliğinin sıklığı, hasta popülasyonu ve yönlendirme kriterlerine bağlı olarak önemli ölçüde değişebilir. Sistemik otoimmün hastalık şüphesiyle yönlendirilen hastalardan elde edilen ANA test sonuçlarını değerlendiren önceki çalışmalar, pozitiflik oranlarını %15,4 ile %41,2 arasında bildirmiştir⁴⁻⁸. Örneklemimizdeki hasta sayısının ülkemizdeki literatürdeki diğer çalışmalara kıyasla daha büyük olması, sonuçların güvenilirliğini artırır. Kohortumuzda ANA pozitiflik oranı %34,1 olup, bu önceki bulgularla uyumludur. ANA-pozitif örnekler arasında %55,17'si nükleer boyanma paterni, %13,19'u sitoplazmik patern ve %5,34'ü mitotik patern göstermiştir. Bu sonuçlar önceki çalışmalarla uyumludur.

Örneğin, Stinton ve ark.⁹, 2724 ANA-İİF test edilmiş örnekten 1102'sinde (%40,5) nükleer patern ve 402'sinde (%14,8) sitoplazmik patern tanımlamıştır. Benzer şekilde, Karakeçe ve ark.⁴, nükleer, nükleolar, mitotik ve sitoplazmik paternlerin dağılımını sırasıyla %56,2, %16,2, %14 ve %13,6 olarak rapor etmiştir. ANA-pozitif sonuçlar arasında sitoplazmik boyanmanın oranı %6,4 ile %21 arasında bildirilmiştir¹⁰. Çalışmamızda izole sitoplazmik boyanma oranı %13,19 olup, bu da bu aralıkta yer almaktadır. Sistemik otoimmün hastalık şüphesiyle test edilen hastalarda en yaygın ANA-İİF paterni, benekli/granüler tip (AC-4, 5) olup, bunu homojen patern

(AC-1) izler^{11,12}. Benekli patern, SLE, SSc, karışık bağ dokusu hastalığı, miyozit ve Sjögren sendromu gibi geniş bir otoimmün bozukluk yelpazesinde görülür. Homojen patern de SLE, RA, juvenil kronik artrit ve Sjögren sendromunda sıklıkla gözlenir. Aras ve ark.¹³, çeşitli kliniklerden ANA testlerini analizlerinde yoğun ince benekli paternin (AC-2) en sık olduğunu rapor etmiştir. Benzer şekilde, 3330 ANA-İİF sonucunun retrospektif incelemesinde Arslan ve Togay¹⁴, benekli (AC-4, 5), yoğun ince benekli (AC-2) ve nükleolar (AC-8, 9, 10) paternleri sırasıyla %30,3, %21,7 ve %19 oranlarında en yaygın olarak bulmuştur. Bulgularımız buna uyumlu olup, ince benekli (AC-4), yoğun ince benekli (AC-2) ve nükleolar (AC-8, 9, 10) paternler çalışmamızda da en yaygın olanlar olup, olguların sırasıyla %22,23, %14,12 ve %10'unda gözlenmiştir. ANA pozitifliğinin sağlıklı bireylerde %20'ye kadar bulunabileceği iyi bilinen bir durumdur ve bu olguların neredeyse yarısı anti-DFS70 antikorlarıyla ilişkilidir¹⁵. Yoğun ince benekli patern, kronik enflamatuvar hastalıklar, kanser, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu, alopesi areata ve atopik dermatit gibi çeşitli otoimmün olmayan durumlarda da gözlenmiştir¹⁶. Takeichi ve ark.¹⁷, çalışmalarında DFS70 otoantikorlarının keratinositlerde proenflamatuvar sitokinleri tetiklediğini göstererek, bu antikorlar ile enflamasyon arasındaki bağlantıyı kurmuştur. Özellikle klinik ön seçim yapılmayan çalışmalarda bu patern daha sık rapor edilir. Sonuçlarımız, hastaların

%14,12'sinde (n=336) yoğun ince benekli patern gösterdiğini ve bu gözlemin literatürdeki önceki bulguları desteklediğini göstermektedir. ANA-İİF ve anti-ENA immünoblot testleri arasındaki uyumu değerlendiren iki önceki çalışmada, en yüksek uyum sentromer (AC-3) paterni ile gözlenmiştir ve uyum oranları sırasıyla %92 ve %77,77'dir^{13,14}. Benzer şekilde, çalışmamızda bu patern %100 uyum göstererek en yüksek uyumu sergilemiştir. Bu paternle ilişkili antijenler CENP-A, CENP-B, CENP-C ve daha az yaygın olarak CENP-D'yi içerir¹. Bunlardan yalnızca CENP-B, laboratuvarımızda kullanılan anti-ENA immünoblot test panelinde yer alır. Gözlenen mükemmel uyum, mevcut panelin ANA-İİF'deki sentromer paterninden sorumlu otoantikoru tespit etmek için büyük ölçüde yeterli olduğunu önerir. İlginç bir şekilde, çalışmamız topoizomerase I-benzeri boyanma paterni (AC-29) için %100 ve pleomorfik PCNA paterni (AC-13) için %94,12 uyum göstermiş olup, bu oranlar önceki raporlanan oranlardan daha yüksektir. Bu, ilişkili otoantikorların yüksek spesifitesine atfedilebilir. Kohortumuzda yoğun ince benekli (AC-2) patern için uyum oranı %69,45'tir. Önceki çalışmalar bu patern için %85 ve %37,98 uyum oranları bildirmiştir^{13,14}. Gurbuz ve ark.¹⁸, DFS-pozitif olguları inceleyen çalışmalarında ANA-İİF testindeki yoğun ince benekli (AC-2) patern için uyum oranını %81,9 olarak belirlemiştir. Bu patern gösteren 221 örneğin anti-ENA immünoblot test sonuçlarını karşılaştırdıklarında, 40 örnekte DFS70 otoantikoru tespit edemediklerini ve bunlardan 7'sinde beş farklı otoantikor tespit edildiğini belirtmişlerdir. Bu değişkenlik, AC-2 paterninin daha geniş bir otoantikor yelpazesine ilişkili olabileceğini ve yalnızca DFS70 ile sınırlı olmadığını destekler. Çalışmamızda, anti-ENA immünoblot ile test edilen örnekler arasında en sık tespit edilen otoantikor %17,5 oranında (336/1917) anti-DFS70'dir. Benzer şekilde, DFS70 içeren bir immünoblot paneli kullanan başka bir çalışmada bu otoantikor en yaygın olup, %20,65 sıklığındadır¹⁹. Kohortumuzda ikinci en sık antikor anti-Mi-2'dir. 1976'da DM hastasında ilk kez tanımlanan anti-Mi-2, başlangıçta DM için bir biyobelirteç olarak kabul edilmiştir²⁰. Ancak sonraki çalışmalar, PM için de potansiyel faydasını göstermiştir. ANA pozitifliği tek başına DM/PM için nispeten zayıf bir biyobelirteç olsa da, spesifik ENA antikorlarının varlığı daha bilgilendirici olabilir. Çalışmamızda üçüncü en sık tespit edilen antikor anti-Ro-52 olup, PM/DM'de en yaygın gözlenen ENA tipidir ve ayırıcı tanıda değerli rol oynar¹. Sonuçlarımızdaki anti-Mi-2 ve anti-Ro-52'nin görece yüksek sıklığı, sistemik otoimmün hastalıkların değerlendirilmesinde, özellikle rutin klinik uygulamada standart ENA immünoblot testleriyle birlikte hastalık-odaklı miyozit panellerinin dahil edilmesinin potansiyel tanısallık faydasını vurgular. Eşzamanlı ANA-İİF ve anti-ENA immünoblot testi yapılan 2075 örnek arasında 1883 (%90,74) her iki yöntemle negatifken, 192 (%9,25) ANA-negatif ancak ENA panelinde en az bir otoantikor pozitif çıkmıştır. ANA-negatif örneklerde en sık tespit edilen otoantikorlar anti-Ro-52, anti-PM-Scl100 ve anti-Jo-1'dir.

Dikkat çekici olarak, Gür Vural ve ark.⁷, çalışmalarında ANA-negatif örneklerde aynı ilk üç antikoru tanımlamıştır¹⁹. Ro-52 ve SS-A otoantikorları Sjögren sendromu ile ilişkilidir, Jo-1 otoantikoru ise enflamatuvar miyopatilerle bağlantılıdır. SS-A, Ro-52, Jo-1 ve ribozomal P antijenleri Hep-2 hücrelerinde yeterince ekspres edilmediğinden, ANA-İİF testlerinde yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Bu nedenle, ANA-İİF testi negatif olsa bile, özellikle klinik şüphe yüksekse anti-ENA immünoblot testi yapılması önerilir¹. Bu, ANA-negatif olgularda anti-Ro-52 ve anti-Jo-1'in tespitini açıklayabilir. Ancak, anti-PM-Scl100 antikorlarının davranışını netleştirmek için farklı ticari kitler kullanan birden fazla merkezden ve daha büyük örneklem boyutlu çalışmalar gereklidir.

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamızın kısıtlılıklarından biri, örnek popülasyonundaki belirli paternlerin yetersiz sayısı olup, bu paternler için ANA-ENA uyumunun değerlendirilmesini kısıtlamıştır. Bir diğer kısıtlılık, bazı paternlerde ileri karakterizasyon yapılamamasıdır; örneğin nükleolar (AC-8, 9, 10), nükleer membran (AC-11, 12) ve sitoplazmik fibriller paternler (AC-15, 16, 17).

SONUÇ

Sonuç olarak, anti-ENA immünoblot testi ANA-İİF ile birlikte yapıldığında belirli hasta gruplarına ayrılmalıdır, çünkü tüm hastaların rutin test edilmesi gereksiz sağlık harcamalarına yol açabilir. Çalışmamız, anti-DFS70 ve anti-Mi-2 antikorlarının yüksek sıklığını tanımlamıştır. Bu spesifisiteyi içeren ENA panellerinin yanı sıra hastalık-odaklı miyozit antikor panellerinin, otoimmün hastalıkların tanısında değerli destek sağlayabileceğine inanmaktayız. Ancak, tam tanısallık faydasını değerlendirmek için daha geniş örneklem boyutlu ve entegre klinik verili çalışmalar gereklidir.

Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışma Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (karar no: 321-321-20, tarih: 15.02.2024).

Hasta Onayı: Retrospektif çalışma.

Dipnot

Yazarlık Katkıları

Konsept: B.G., Dizayn: B.G., H.H.K., Veri Toplama veya İşleme: B.G., Analiz veya Yorumlama: B.G., H.H.K., Literatür Arama: B.G., H.H.K., Yazan: B.G., H.H.K.

Çıkar Çatışması: Yazarların beyan edecek herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek: Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (proje no: 2021/100).

KAYNAKLAR

1. Klimud. Otoantikörlerin laboratuvar tanısı rehberi. 2020.
2. National Institutes of Health. Report of the Office of Autoimmune Disease Research in the Office of Research on Women's Health. 2025.
3. von Mühlen CA, Garcia-De La Torre I, Infantino M, Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, et al. How to report the antinuclear antibodies (anti-cell antibodies) test on HEp-2 cells: guidelines from the ICAP initiative. *Immunol Res.* 2021;69:594-608.
4. Karakeçe E, Atasoy AR, Çakmak G, Tekeoğlu İ, Harman H, Çiftçi İH. Antinuclear antibody positivity in a University Hospital. *Turk J Immunol.* 2014;1:5-8.
5. Aktar GS, Ayaydin Z, Onur AR, Gür Vural D, Temiz H. Retrospective evaluation of results of autoantibodies detected by IFA in a Training and Research Hospital. *Turk J Immunol.* 2017;3:77-81.
6. Mengeloglu Z, Tas T, Kocoglu E, Aktas G, Karabörk S. Determination of anti-nuclear antibody pattern distribution and clinical relationship. *Pak J Med Sci.* 2014;30:380-3.
7. Gür Vural D, Çaycı YT, Bıyık İ, Bilgin K, Birinci A. Evaluation of immunoblotting test results in patients with positive antinuclear antibodies. *Turk Hij Den Biyol Derg.* 2021;78:443-50.
8. Azeez HJ, Bayram Y, Parlak M, Akyüz S, Güdücüoğlu H. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi anti-nükleer antikor (Ana) sonuçlarının değerlendirilmesi. *Medical Research Reports* 2020;3:24-8.
9. Stinton LM, Eystathioy T, Selak S, Chan EK, Fritzler MJ. Autoantibodies to protein transport and messenger RNA processing pathways: endosomes, lysosomes, golgi complex, proteasomes, assemblyosomes, exosomes, and GW bodies. *Clin Immunol.* 2004;110:30-44.
10. Infantino M, Palterer B, Biagiotti R, Almerigogna F, Benucci M, Damiani A, et al. Reflex testing of speckled cytoplasmic patterns observed in routine ANA HEp-2 indirect immunofluorescence with a multiplex anti-synthetase dot-blot assay: a multicentric pilot study. *Immunol Res.* 2018;66:74-8.
11. Çildağ S, Korkmazgil B, Kara Y, Kale H, Akın N, Şentürk T. Antinuclear antibodies by IIF-ANA method in systemic rheumatic diseases. *Pam Tıp Derg.* 2017;10:234-41.
12. Bilgin M, Baklacioğlu Ş, Üniversitesi S, Eğitim S, Hastanesi A, Tıbbi M, et al. Evaluation of antinuclear antibody results detected by indirect immunofluorescence method. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2023;53:143-8.
13. Aras S, Oruç H, Yiş R, Zorbozan O, Özhan B, Yaman G, et al. İndirekt immün floresan antikor testi ile anti nükleer antikor araştırılan örneklerde immunoblot ANA profil test sonuçlarının değerlendirilmesi. XLI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 2024:EP-156.
14. Arslan A, Togay A. İzmir Şehir Hastanesinde anti-nükleer antikorların tespitinde indirekt immünofloresan ve immünoblot yöntemlerinin karşılaştırması. XLI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, XLI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 2024:SS-129.
15. Zotova L, Kotova V, Kuznetsov Z. The role of anti-DFS70 in the diagnosis of systemic autoimmune rheumatic diseases. *Biologics.* 2023;3:342-54.
16. Aksoy R, Us E. Bir üniversite hastanesinde anti-DFS70 antikor pozitif olguların iki yıllık retrospektif değerlendirilmesi. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2021;51:393-99.
17. Takeichi T, Sugiura K, Muro Y, Matsumoto K, Ogawa Y, Futamura K, et al. Overexpression of LEDGF/DFS70 induces IL-6 via p38 activation in HaCaT cells, similar to that seen in the psoriatic condition. *J Invest Dermatol.* 2010;130:2760-7.
18. Gurbuz M, Yıldırım BF, Cetinkol Y. Evaluation of positive cases for dense fine speckled (DFS) immunofluorescence pattern and anti-DFS70 Antibodies. *Pak J Med Sci.* 2025;41:580-4.
19. Gür Vural D, Toy S, Tanrıverdi Çaycı Y, Bilgin K, Birinci A. ANA subgrup çalışılan hastalarda ANA IFA sonuçlarının değerlendirilmesi. XLI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 2024:EP-155.
20. Betteridge Z, McHugh N. Myositis-specific autoantibodies: an important tool to support diagnosis of myositis. *Journal of Internal Medicine.* Blackwell Publishing Ltd. 2016;8-23.