

Romatolojik Bozukluklarda Serolojik Testlerin Akılcı Kullanımı

Doç Dr. Betül Sözeri

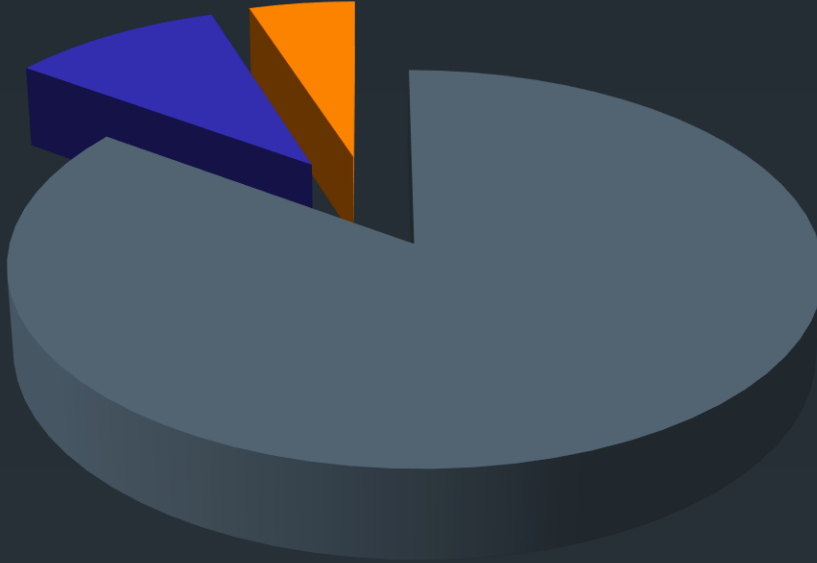
Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul

Ümraniye E.A. Hastanesi

Çocuk Romatoloji



Romatizmal Hastalıklarda Tanı



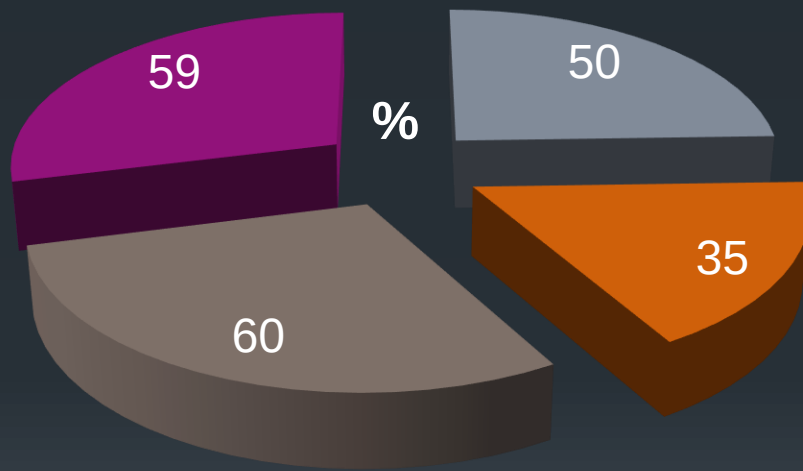
- Detaylı Öykü
- Detaylı fizik bakı
- Laboratuvar testler



**Enfeksiyonlar, endokrin, metabolik, infiltratif hastalıklar
DIŞLANMALIDIR**

Use of Rheumatology Laboratory Studies Among Primary Pediatricians

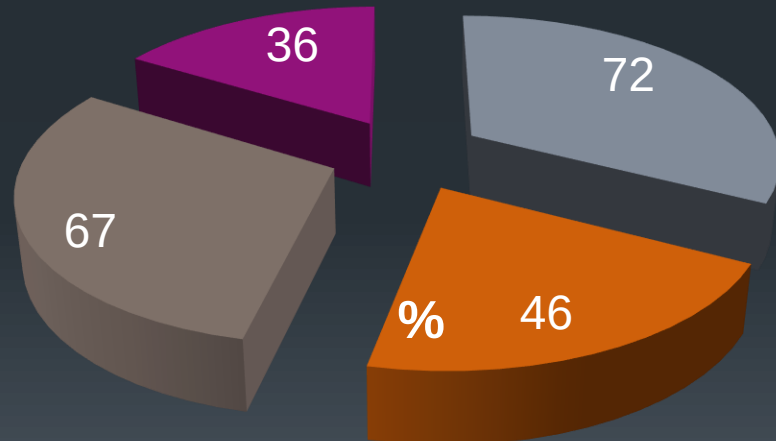
Kas iskelet sistem ağrısı



■ ANA
■ Anti dsDNA
■ RF-CCP
■ HLA-B27*

451 tane pediatriist

Anormal eklem muayenesi



GP'de En sık tetkik isteme nedeni

- Kas iskelet sistem ağrıları
 - Sıklıkla nonspesifik
 - Yangısal / Yangısal olmayan nedenler
 - Sıklık %2-50 (12-18 yaş)
- Yorgunluk , (%30)

**Pozitif
Prediktif Değer**
Yüksek olmalı

Kas -İskelet Sistem Ağrıları

Yangısal olmayan	%97
------------------	-----

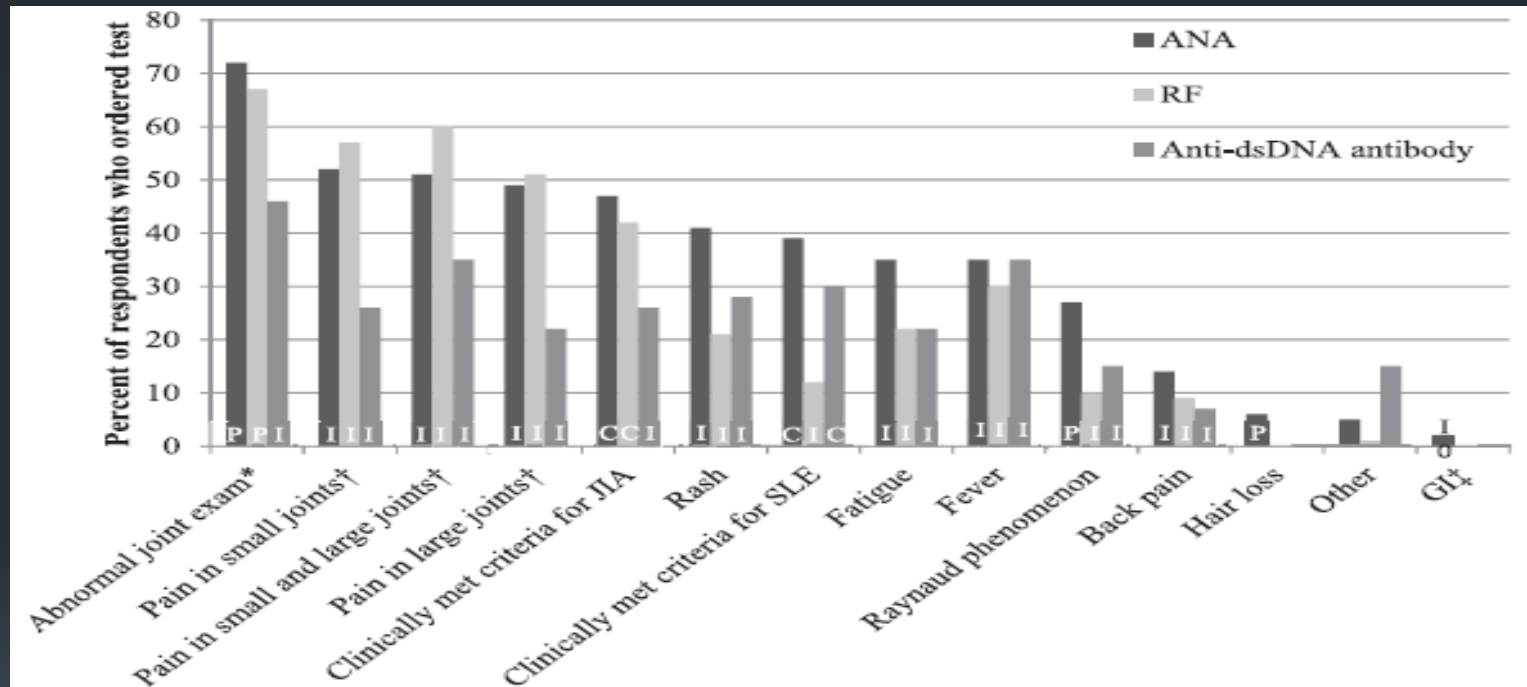
Travma	%44
Yanlış kullanım	%24
Osteokondroz	%10
Hipermobilite	%3
Büyüme ağrısı	%3
Viral enfeksiyon	%4.5

Yangısal	%3
----------	----

Toksik sinovit	%2.5
Yangısal artritler	%0.8

Use of Rheumatology Laboratory Studies Among Primary Pediatricians

Correll CK, Clin Pediatr (Phila). 2016



Doğru gerekçe: ANA testi %86, ds DNA %34, RF %80, CCP %60

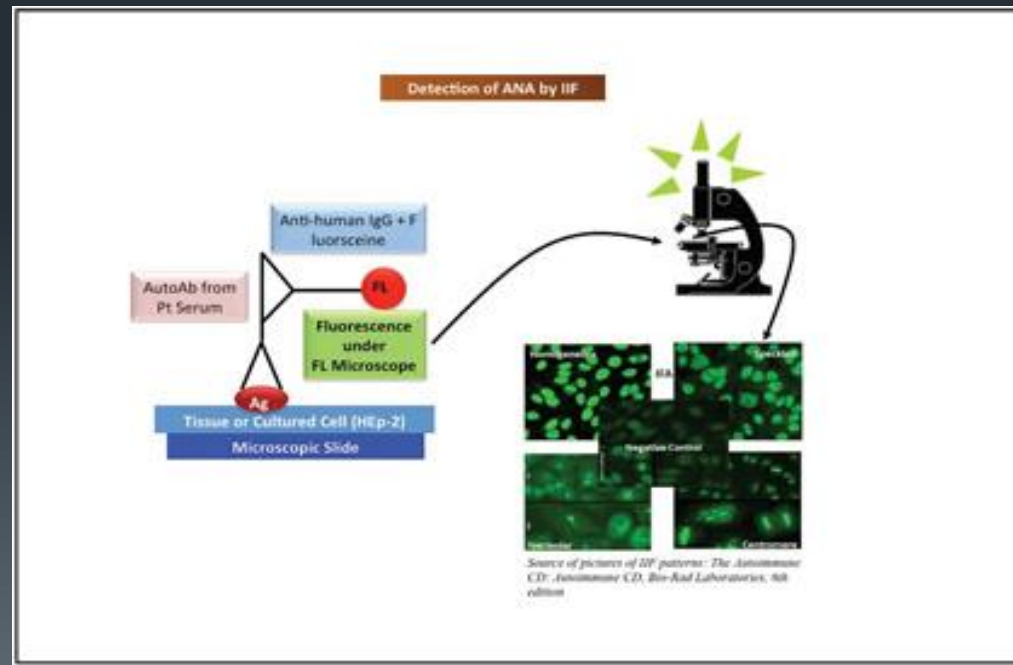
ANA testinin doğru gerekçelerle istenmesi ile doktorun deneyimi ilişkili ($P=.0012$)

Serolojik Tanı Yöntemleri

- Serolojik incelemelerin temeli, antijen ve antikorun karşılıklı etkileşim ve ilişkilerine dayanmaktadır.
- Bilinen antijenler kullanılarak, bunlara karşı oluşmuş antikorlar aranır
- Kolay ve pratik yöntemlerdir

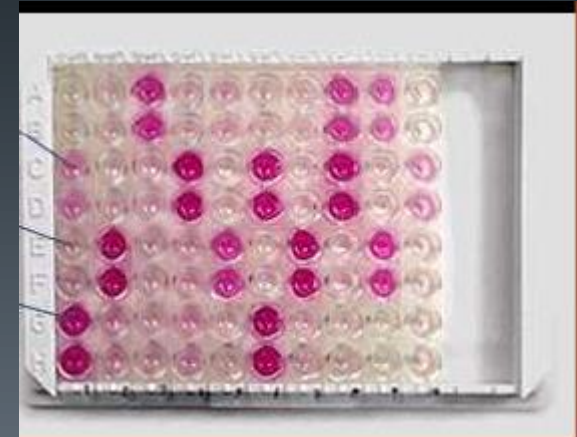
İndirekt Floresan Antikor (IFA)

- Antijen-antikor birleşmesi olayının, floresans veren bazı boyalarla immunfloresan mikroskopta görünür hale gelmesidir.
- ANA tanısında, antikor bağlanması için kullanılan substrat Hep-2 hücreleridir



ELISA (Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay)

- ENZİMLİ SEROLOJİK DENEY
- Bilinen bir antijen kullanılarak, hasta materyalinde antikor arandığı zaman, antijen-antikor birleşmesine bir enzim bağlanarak, bu enzimin aktivitesi ölçülmekte ve etkenin durumu hakkında karar verilmektedir. Ya da, tersi olarak, bilinen bir antikora karşı, antijen aranabilmekte, bunda da aynı mekanizma uygulanmaktadır.
- Günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır.
- Güvenilirlik yüksektir.



Akut faz yanıtları (AFY)

- Akut faz yanıtlarında inflamasyon döneminde %25 'ten fazla değişiklik gösterir
- Karaciğerden sentezlenirler
- Romatizmal hastalığı spesifik değildir
- **Pozitif AFY**
 - Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP), fibrinojen, Laktat Dehidrogenaz (LDH), Ferritin, Proinflammatör sitokinler (IL-1, IL-6..)
- **Negatif AFY**
 - Transtretin, albümin

Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH)

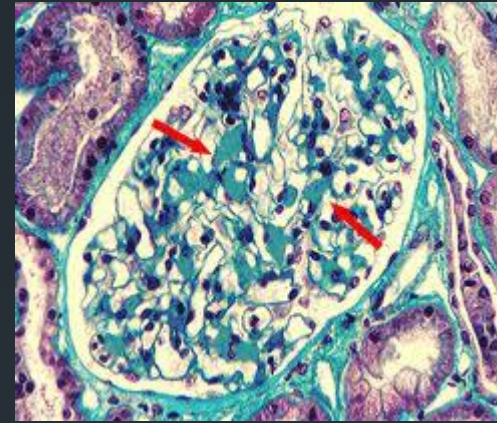
- İndirekt akut faz yanıtıdır
- Artmış fibrinojen ve plazma proteinleri
- Anemi ve hiperglobulinemi
- JIA de hastalık aktivitesi ölçümü (JADAS)
- Makrofaj aktivasyon sendromunda azalır

C-reaktif protein (CRP)

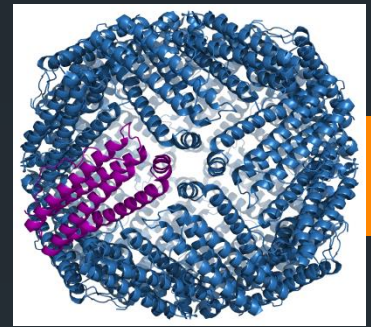
- ✓ Nötrofil, monosit ve trombosit aktivasyonu
- ✓ Adezyon moleküllerinin arttırılması
- ✓ Apoptoza uğramış hücrenin temizlenmesi
- 1.kromozomda (q23-24) yer alır, SLE ile ilişkili
- İnflamasyonda ESH ye göre hızlı yanıt
 - 4 saatte yükselir max 24-72. saat, Yarılanma ömrü 19 saat
 - Eritrosit sayısı ve Ig'lerden etkilenmez
- JIA hastalık şiddeti ve amiloidosis ile korele
- SLE de enfeksiyon, serozit ve artrit durumunda yükselir

Serum Amiloid A

- Apolipoprotein ailesinden
- Amiloid A proteinin ön maddesi
- KC den sitokin aktivasyonu ile üretim
- Sağlıklı kişilerde median 3mg/L
- JIA de % 9 Amiloidoz
- FMF (M694V) → amiloidoz monitorizasyonu



Ferritin



- Ana fonksiyonu→demir depoları
- Sentezi→İntrasellüler demir, sitokinler, oksidatif stres ürünleri, büyüme hormonu, ile regule
- SLE hastalık aktivitesi ve SLEDAI skorları ile korelasyon
- Yüksek Ferritin (>1000 ng/mL)
 - SoJIA hastalık aktivitesi
 - Makrofaj Aktivasyon sendromu/ Hemofagositik lenfositosis (HLH)
 - >684 ng/mL→ tanı kriteri*
 - >10.000mcg/L→ sensitivite %90, spesifite %96
 - Kawasaki hastalığı ile ayırıcı tanı**
 - > 370 ng/mL→ sensitivite % 94.3, spesifite % 82.7

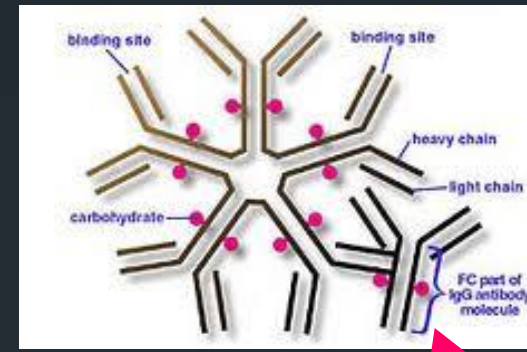
Prokalsitonin



- Tiroid bezi hücrelerinden üretilir
- Şiddetli bakteriyel enf → aşırı yükselme (X200)
- Viral enfeksiyon, otoimmün hast → düşük
- Otoimmün hastalıklar (SLE)
 - Hastalık aktivitesi ? Bakteriyel enf ? ayırımında
- Osteomyelit erken tanı
- Kawasaki hast → koroner anevrizma

Romatoid Faktör (RF)

- İlk kez 1940 yılında tanımlanmıştır
- IgG molekülünün Fc parçasına karşı gelişen antikor
 - Düşük affiniteli RF-IgM antikorları:
 - Kompleman fiksasyonu ve B hücre uptake 'ni arttırarak immun kompleks klirensi ni sağlar
 - Yüksek affiniteli RF-IgM patojeniktir
 - RA %85'inde, JIA (Poli) %5-10
 - IgM RF (+) ve IgA RF → Agresif hastalık
 - SLE (%10-30), Skleroderma (%25-45), kryoglobulinemi (%40-100), sub akut bak. endokardit , hepatit B ve hepatit C
- Sağlıklı grupta %3

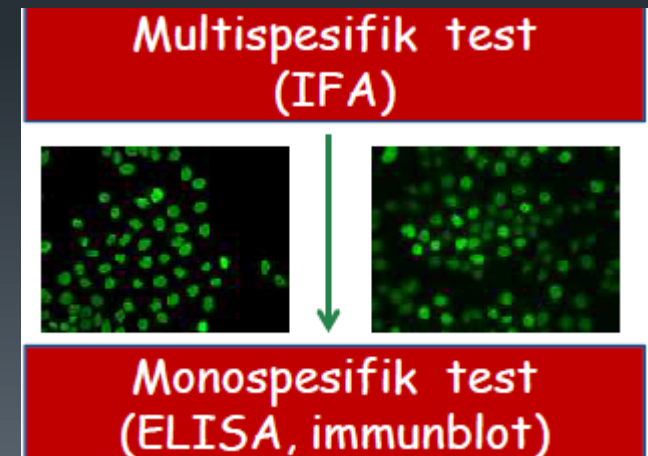


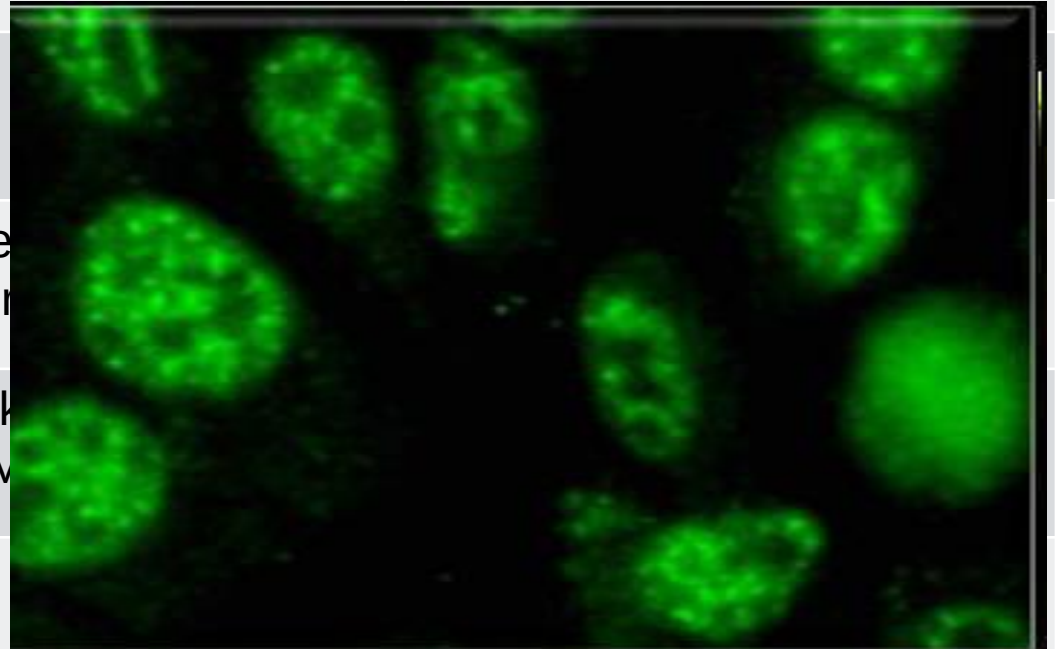
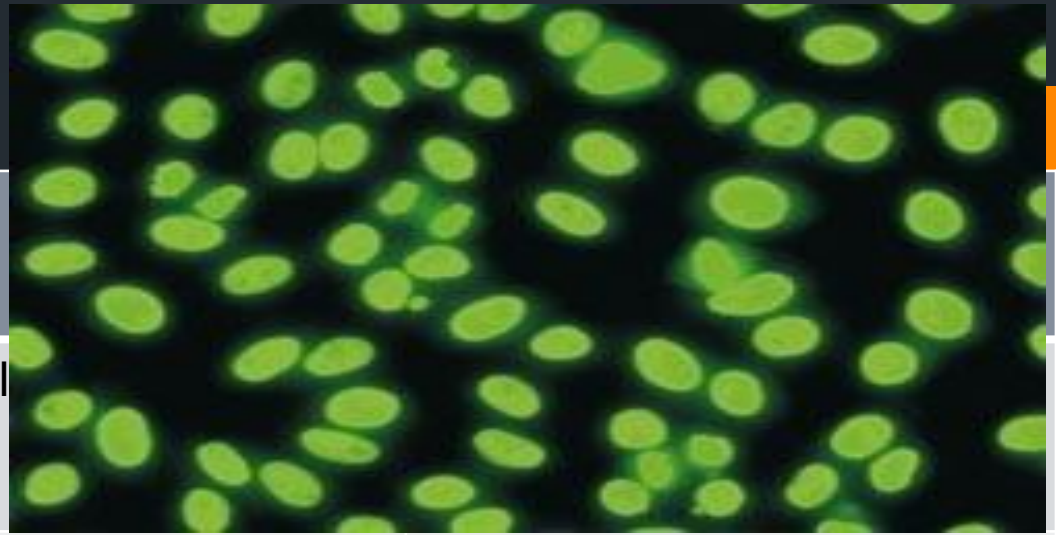
Sirküler peptid içeren sitrulline antikorlar (anti-CCP) (ACPA)

- Romatoid artritte ilk kez 1964 yılında tanımlanmıştır
 - İnflamasyonlu sinoviyada arginin sitrulline dönüşür
 - Sitrullinize fibrin otoantijen ve hedef 'tir
- RA'da sensitivite %50-85 ve %90-95
 - Tanı ve prognoz izleminde önemlidir
- RF (+) ve RF (-) Poli JIA hastalarının %20'sinde (+)
 - Eroziv hastalık ile ilişkilidir
- Sağlıklı grupta %0-0,6

Antinukleer antikor (ANA)

- Nükleer, nükleolar ve perinükleer antijen antikor
- Otoimmün hastalıklar
 - SLE, MBDH, Sjogren sendromu
 - Otoimmün hepatit, tiroidit, ilaç ilişkili
- İndirekt immunfloresan inceleme (insan epitelyal Hep -2 hücreler)
 - Hücre nükleusunda ANA varlığı , altın standart yöntem
 - Boyanma Paterni
 - Homojen, benekli en sık
 - **Tarama amaçlı kullanılır**
- ELISA
 - ANA profil
 - Spesifik antijen için
 - **Doğrulama /Tanımlama amaçlı kullanılır**





Patern	Hastalık	
Benekli	SLE, Sistemik sklerozis, MCTD, Sub akut Neonatal Lupus	
Homojen /diffüz	SLE, DIL, SSc, otoimmün hepatit (AH)	dsDNA , chromatin, Histone
Periferik (çerçeve)	SLE, APS, AH	
Sentromer	Raynaud' fenomeni, kutanöz skleroderma	
Nukleolar	yaygın kutanöz sklerozis (dcSSc), SLE, PM	
Sitoplazmik	PM, DM, SLE, SjS, PBC, SSc	

ANA (+)

- Lupus ve MBDH
 - Pozitif prediktif değer 0.06*
 - <13 yaş daha düşük
 - Negatif prediktif değer 0.96
- MBDH ve SLE ANA (-) → nadir

- ANA (+)
 - SLE %96 , İlaç ilişkili lupus %100,
 - Skleroderma %97, Sjogren sendromu %90
 - Polimiyozit /dermatomyozit % 78
 - Oligo JIA %60 -üveit ilişkili (+)

Tanı koymak için özaiüllüğü

SLE tanısını dışlamak için duyarlılığı yüksek-uygundur

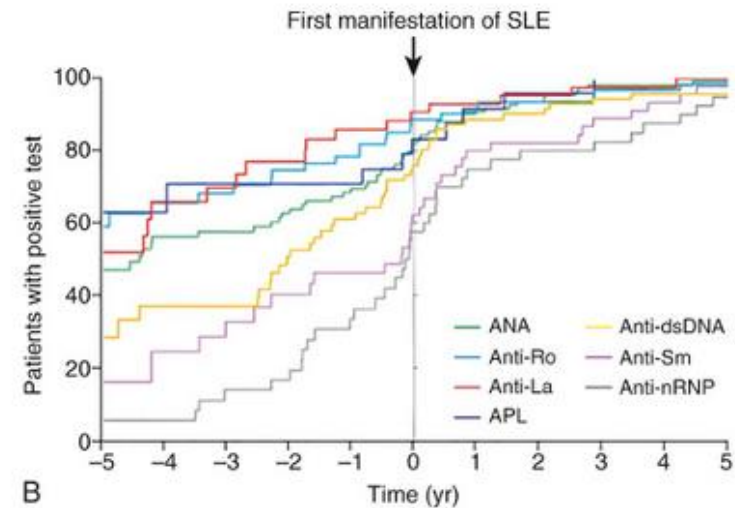
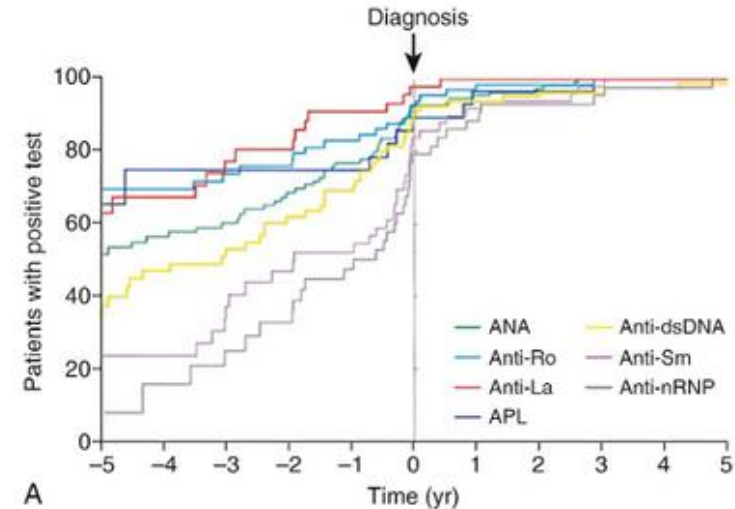
McGhee JL, BMC Pediatr. 2004

Von Mühlen CA, Semin Arthritis Rheum 1995

ANA (+)

Arbuckle MR, 2003

- SLE hastalarının %88'inde,
- Ort. 3 yılda hastalık öncesi otoantikor pozitifliği (+)
 - ANA,
 - Anti-Ro
 - Antifosfolipid antikorlar



ANA (+) (Sağlıklı Grup)

- Erişkin
 - 1/40 ANA (+) → %30, 1/160 ANA (+) → 5%
- Çocuklarda 1/80-1/320 ANA pozitif (+) → %5-18
 - Genellikle spesifik antijen yoktur
 - Enfeksiyonlara bağlı ortaya çıkabilir
 - Zamanla azalır, kaybolur
- Deane PM, Pediatrics 2005
 - 500 kas iskelet sistem yakınması çocuk , 113 'ünde (%23) ANA (+)
 - %64 'ünde otoimmün hastalık, % 27 'inde otoimmün hastalık yok
 - 37 aylık izlem
 - Ortalama ANA 1/160
 - İzlemde → %81'inde tüm bulgulara gerileme

ANA (+) (Sağlıklı Grup)

- Sperotto F, J Rheumatol. 2014
 - 8-13 yaş arası olan sağlıklı çocuk
 - krn. kas iskelet sistemi ağrısı (MSP) ve ANA pozitifliği
 - N=261 çocuk → %29.5 (n=77) MSP, %12.3 (n=32) ANA (+)
 - 1/80 → % 8.4 , $\geq 1/160 \rightarrow \% 3.8$, $\geq 1/320 \rightarrow \% 0.8$
 - 3 yıl sonra yeniden değerlendirme (n=67)
 - MSP'li çocuklarda ANA titresi artmış ($p < 0.001$)
 - ANA pozitif hastaların hiç birinde romatizmal hastalık gelişimi yok
 - ANA prevalansı ve titresinde puberte döneminde artış (+)
 - Özellikle kızlarda

Spesifik otoantikörler (ANA profil)

Anti-Sm	SLE için çok spesifik , JSLE 'de %30 (+) (düşük sensitivite) SLE nefriti ılımlı formu, SSS hastalığı ve serozit Anti U1RNP antikorla birlikte ortaya çıkar
Anti-Ro (SSA)	Sjogren ve subakut kutanöz lupus 'da sık Neonatal lupus patogeneğinde 2 subtipi vardır (Ro52→sistemik skleroz, myozit) IFAT ile saptanmayabilir (NEGATİF ANA !!)
Anti-La (SSB)	SLE ve sjogren sendromunda Daha az sıklıkla görülür
Anti-U1RNP	Mikst bağ dokusu hastalığı (MCTD) için spesifik
Anti-Jo1	Polimiyosit (interstisyel pnömoni-mekanik el), DM ,SLE ve MCTD Kötü prognozla ilişkili
Anti-Scl 70	Sistemik skleroz-pulmoner fibrosis için spesifik
Anti-PMScl	Polimiyozit-skleroderma overlap sendromu

Öykü, FB, Lab

BDH Tanısı ?

ANA test

Pozitif

Spesifik antikor
taraması (ANA Profil)

Negatif

Klinik şüphe var

SS-B/La
+

SjS

SS-A/Ro60
+

SjS
SLE

dsDNA
+

SLE

Sm
+

SLE

RNP
+

SLE
MCTD

nucleosome
+

SLE
DIL

Rib-P
+

SLE

RF
<50IU

CCP
+

RA

cANCA
+

PR3
+

WG

Spesifik otoantikolar (ANA profil)

Anti DNA antikorlar

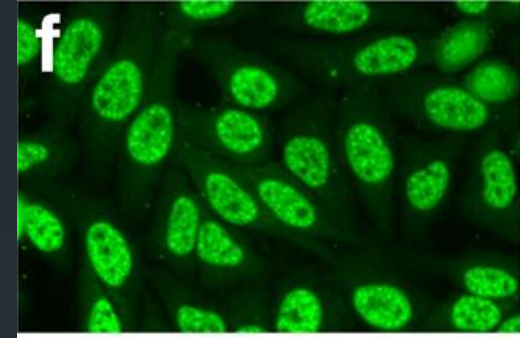
- Ds DNA /ss DNA, IgG/IgM , avidite' ye göre farklılık gösterir
- Yüksek aviditesi olan IgG anti -dsDNA
 - JSLE de spesifite %97.1
 - Erişkin SLE de Nefrit gelişiminde prediktif , çocuklarda ?
 - Hastalık aktivasyonu ile yüksek ds DNA düzeyi ilişkili (+)
- Düşük aviditesi olan anti ds-DNA
 - Sjogren sendromu, RA, otoimmun hepatit
- Anti -ssDNA
 - Tanısal spesifitesi düşüktür

✓ ANA (+) ve klinik şüphe (+) → Anti-dsDNA bakılması önerilir
✓ ANA (-) hastalarda önerilmez

Spesifik otoantikorlar (ANA profil)

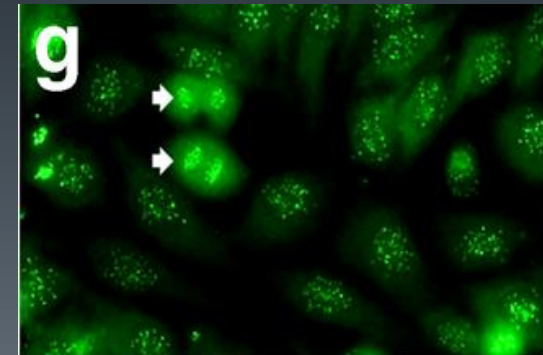
Anti Ro antikor

- Ro antijenleri UV ışığa maruz kalmış keratinositlerde (+)
- SLE → fotosensitivite ve cilt bulguları
- SLE/Sjogren sendromlu anti SSA/Ro ve La antikorlu taşıyan anne bebeklerinde:
 - Neonatal lupus ve kardiyak iletim defekti ile korelasyon (+)
 - Anti Ro-IgG antikorlar plasentadan geçer
 - Neonatal döküntü, fotosensitivite, konjenital kalp bloğu (Ro52)



Anti sentromer antikorlar

- CREST sendromu : kalsinosis, Raynaud fenomeni, özefagial dismotilite, sklerodaktili ve telenjektazi



ANA testi için öneriler

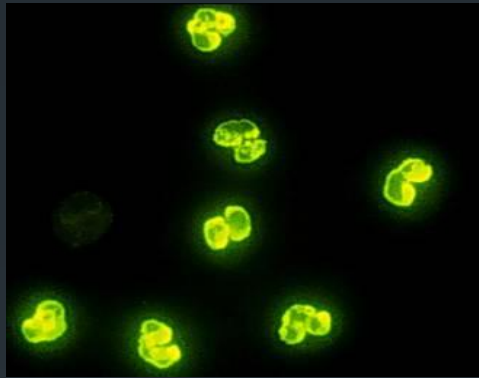
- İzole kas iskelet sistem ağrıları olan çocuklarda bağ dokusu hastalığı için öykü ya da klinik bulgu yoksa **ANA testi istenmemelidir**
- Romatolojik hastalık bulgusu olan hastalar için tarama amaçlı **İFA antikor taraması istenmelidir**
- SLE ve JIA tanısı kesinleşmiş bir hastada izlemde **ANA testi tekrar edilmemelidir.**

Antinötrofilik sitoplazmik antikor-ANCA

- Nötrofil, Monosit ve genç makrofajların granüllerindeki lizozomal enzimlere karşı gelişen antikorlar

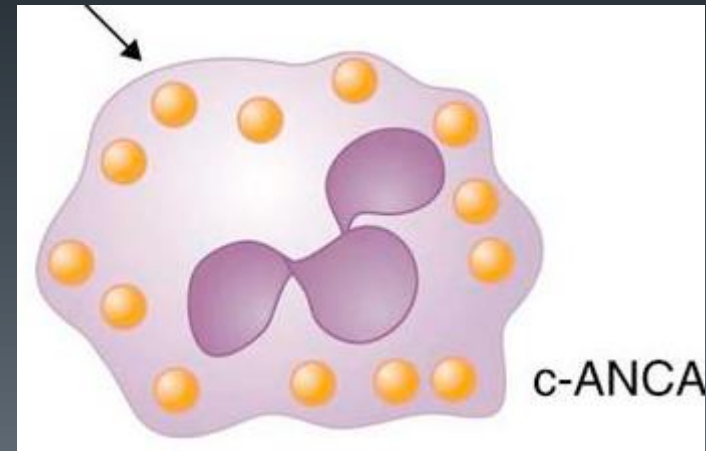
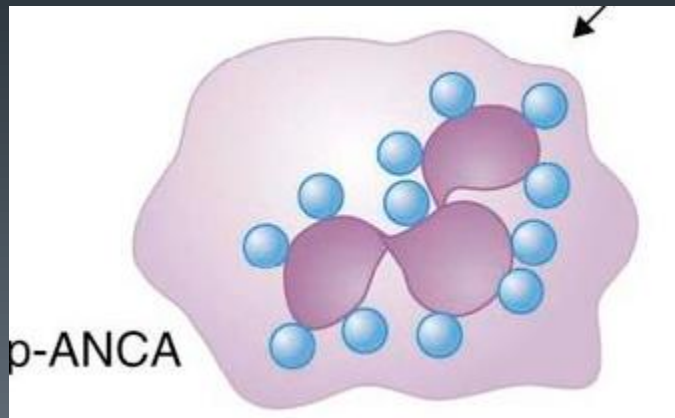
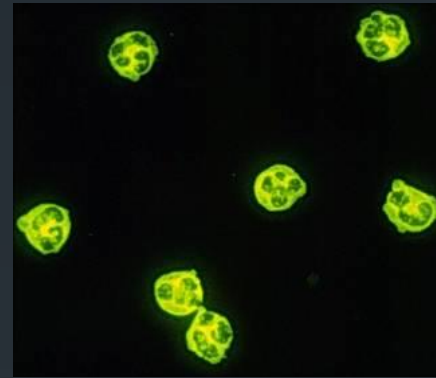
Myeloperoksidaz
(MPO) ANCA

Perinükleer



Proteinaz -3
(PR3) ANCA

Diffüz
sitoplazmik



ANCA

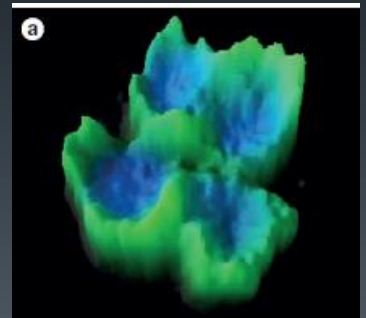
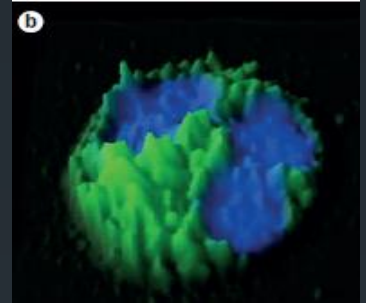
	P ANCA (MPO)	C ANCA (PR3)
GPA		%30-90
MPA	%25-75	%70
E GPA		%25-50

❖ C-ANCA / Proteinaz- 3 (PR3) ANCA

- Granulomatöz polianjiit için spesifiktir

❖ P- ANCA

- Myeloperoksidaz (MPO)
 - Kresentik glomerulonefrit, mikroskopik PAN, ülseratif kolit, Crohn hastalığı
 - Anti MPO Ab (+) anne → Transplasental geçiş
 - Yenidoğan → Glomerulonefrit, pulmoner hemoraji
- Laktoferrin, B-glukronidaz, elastaz, katepsin G
- Hastalık aktivasyonu ANCA düzeyi ile ilişkili
- Duyarlılık %79, Özgünlük %68



ANCA testi kimlerden istenmeli ?

- Glomerulonefrit, özellikle hızlı ilerleyen glomerulonefrit
- Üst hava yollarında kronik destrüktif hastalık
- Multipl akciğer nodülü
- Pulmoner hemoraji, özellikle pulmoner renal sendrom
- Uzun süren sinüzit veya otit
- Retroorbital kitle
- Sistemik bulgularla birlikte olan kutanöz vaskülit
- Mononöritis multipleks ya da diğer periferik nöropati
- Subglottik, trakeal stenoz

Antifosfolipid antikor sendromu (APS)

Tekrarlayan arteriyel ve/veya venöz trombozlar, başka nedenlerle açıklanamayan fetal kayıplar (tekrarlayan abortus ve/veya ölü doğum), trombositopeni, livedo retikularis, kardiyak, nörolojik semptomlar ve **serumda antifosfolipid antikor (AFA)** varlığı ile karakterize bir sendromdur. (1 klinik +1 lab bulgu=Tanı)

- Lupus antikoagulan (LA)
- Antikardiyolipin antikorlar (aCLs)
 - Anti-kardiyolipin Ab (aCL) ve Anti β 2-glycoprotein 1 (β 2GPI)
 - IgG ve / veya IgM izotipinde
 - Orta veya yüksek titre (en az 12 hafta arayla $\geq$ 2kez pozitif)



Anti fosfolipid antikorlar (AFA)

- Hücre membran fosfolipidine bağlanan plasma proteinlerine karşı gelişirler
 - Sağlıklı çocuklarda düşük titrede %25 (+)
 - Enfeksiyon ya da aşılama ile ilişkili, geçici
 - Anti kardiyolipin → %3-28
 - Anti β 2-glycoprotein 1 → %3-7
 - APS tanılı hastalarda (n= 121)
 - Anti kardiyolipin → %81
 - Anti β 2-glycoprotein 1 → %67
 - Lupus anti koagulan → %72
 - ❖ En spesifik

Antifosfolipid antikor sendromu (APS)



- Pediatrik APS' hastalarının
 - çoğu bağ doku hastalığına sekonder
 - SLE, lupus like hastalık...
 - %10'nu primer enfeksiyonlar ve malignite sonrasında
 - Parvovirus B19, varicella zoster virus, HIV, streptococcal and staphylococcal, Gram negatif , mikoplazma pn

Kimlerden AFA testi istenmeli ?

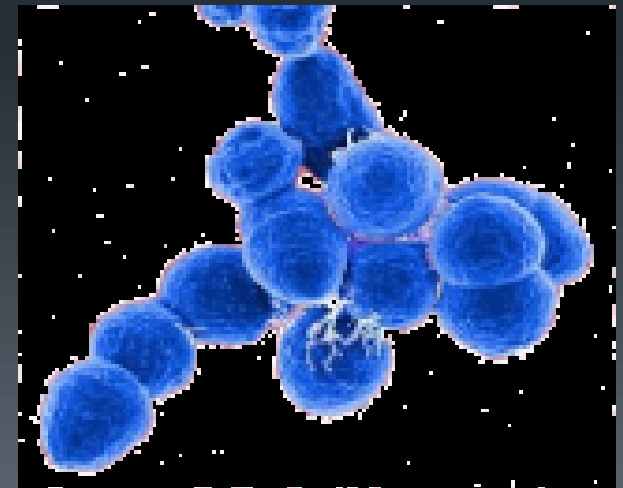
- ✓ Trombozlu her hastadan
- ✓ AFAS'la ilişkili klinik bulgu varsa
 - ✓ Hematolojik: Açıklanamayan trombositopeni, hemolitik anemi
 - ✓ Cilt Bulguları: Livedo retikularis, raynaud fenomeni, dijital nekroz, cilt ülseri
 - ✓ Nörolojik: Kore, dirençli epilepsi, migren, transvers myelit, psikoz
 - ✓ Kardiyak: Libman-Sacks endokarditi
 - ✓ Renal: Trombotik mikroangiopatiye bağlı Hematüri ve Hipertansiyon
- ✓ Enfeksiyonlar sonrası ortaya çıkan ağır kanama diyatezi
- ✓ SLE hastalarında ilk tanı anında ve en az yılda bir kez
- ✓ Açıklanamayan uzamış aktive parsiyel tromboplastin zamanı (APTZ) olan hastalarda

HLA B 27

- İnsan Lökosit Antijen B27 , sınıf I yüzey antijenidir
- Geni 6. kromozomun kısa kolunda yerleşik
- Ankilozan spondilit hastalarının %95'i
- Seronegatif spondiloartropati %50-80
 - Reaktif artrit, psoriatik artrit, IBH ilişkili artrit
- JIA-entezit ilişkili artrit sınıflamasında
- Sağlıklı grupta %5-8

ASO

- Grup A streptokok enfeksiyonun kanıtıdır
 - 1. haftada yükselir, 3-6 haftada maksimum titre
 - Reenf yoksa → 6-12 ayda normale döner
- Kore yakınmasında → Akut eklem romatizması tanısını **destekler**
- %20 AER hastasında negatif
- Test sensitivitesi % 80-85
 - Anti-DNase B % 90



Diğer testler



Kompleman Proteinleri

- Ag-Ab kompleksi ile aktive olur
- İnflamatuvar olaylarda sıklıkla artmış
- **Düşük C3,C4**
 - SLE, MPGN, APSGN, KC hastalığı veya konjenital eksiklik
 - Aktivasyonla düşer
 - Uygun tedavi den aylar sonra yükselir
 - Israrlı C3 düşüklüğü→ lupus nefriti
- SLE hastalarının %50'sinde→ normal C3,C4

Diğer testler

- Yüksek ALT, AST

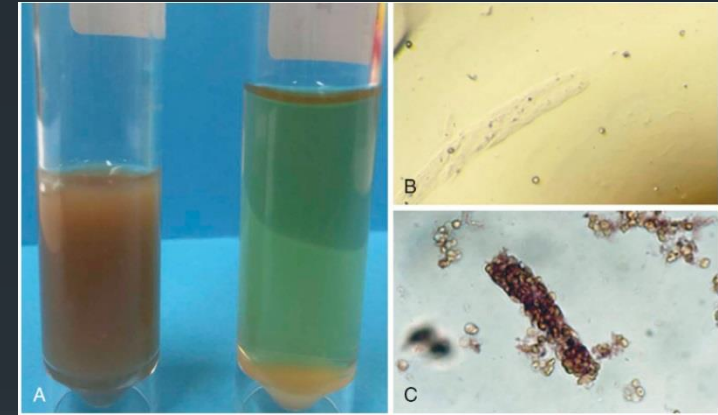
- İlaç toksikasyonu (mtx,SSZ, siklosporin, NSAİİ)
- Otoimmün hepatit
- Sistemik vaskülit
- SLE

- Proteinuri/hematüri

- Lupus nefriti
- İlaç toksisitesi (Siklosporin)

- Hiperkalsemi ve ACE (Anjiotensin-dönüştürücü enzim) yüksekliği

- Sarkoidoz



Diğer testler

■ Kas enzimleri (LDH,CK,AST, Aldolaz)

- Juvenil Dermatomyosit (%90 hastada en az 1'i)
- Kas iskelet sistemi yakınması, LDH yüksekliği, hematolojik anormallik → lenfoproliferatif hast
- LDH artışı → ALL, Non hodgkin lenfoma

■ Serum Immunglobulin yüksekliği

- Otoimmün hastalık
- Spesifik değil, hastalık akt. ile ilişki Ø

■ Kriyoglobulin Tip II ve III

- Kompleman akt. → vaskülit
- Romatizmal hast, hepatit C
- Çocuklarda nadir



Diğer testler

Sinovyal sıvı analizi

- *Normalde*
 - Açık renkli, akışkan olmayan kıvamdadır
 - <100 hücre/mm³ (çoğunluk lenfosit)
- *Septik artrit:*
 - >100.000 hücre/mm³ (nötrofil)
 - Protein yüksek, glukoz düşük (1/4 serum glukoz)
- *Inflamatuvar artrit*
 - >1500 hücre /mm³, PNL



Biyobelirteç adayları

- Üriner proteinler →lupus nefriti ile ilişkili

Smith EM, Pediatr Nephrol. 2016

- Vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1),
- Monosit kemoatraktan protein- 1 (MCP-1),
- lipocalin-like prostaglandin D synthase (LPGDS),
- transferrin (TF),
- seruloplasmin,
- alpha-1-acid glycoprotein (AGP)
- neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)

- Üriner mikroRNA'lar→ Lupus nefriti

Abulaban KM, Ped. Rheum. 2016

- miR-125a, miR-150, ve miR-155

- MRP-8/MRP-14 (S100A8/S100A9 heterodimer) ve S100A12

- JIA ve üveitte hastalık aktivitesi ve relaps riski

McCurdy DK. Adv Pediatr. 2016



Teşekkürler....