

İnflamatuar barsak hastlığında anti-nötrofil stoplazmik antikorun önemi

The importance of anti-neutrophil cytoplasmic antibody in inflammatory bowel disease

Dr. Mansur Kayataş¹, Dr. Abdulkadir Dökmeçi¹, Dr. Gülay Kınıklı²

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları A.B. D.¹, İmmünloloji B.D.², Ankara

ÖZET: Bu çalışmada kolitis ülserozalı 46, Crohn hastalıklı 16 ve infeksiyöz kolitli 24 hasta serumundan indirekt immünflöresan (İİF) yöntemle ANCA çalışılmıştır. Kolitis ülseroza hastalarının % 47,8'inde ANCA pozitifliği (% 41,3 p-ANCA, % 6,5 c-ANCA) saptanırken, Crohn hastalarının % 12,5'unda (hepsi p-ANCA), infeksiyöz kolitlerin % 4,2'sinde (tek olgu, c-ANCA) ANCA pozitifliği saptandı. Kolitis ülserozalardaki ANCA pozitiflik oranı, CH ve İK'lilerdeki ANCA pozitiflik oranından, istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir biçimde yüksek bulundu ($p<0,001$). Kolitis ülserozada bu yöntemle ANCA saptamanın duyarlılığı ve özgüllüğü, hem CH hem de İK'den yüksek bulundu. ANCA pozitifliği durumunda, özellikle p-ANCA tipi boyanma ile tanı, KÜ lehine yaklaşmaktadır. Özellikle p-ANCA tipi boyanmaya KÜ, İK'den kesin bir şekilde ayırmaktadır. Bu nedenle İBH ve İK düşünülen hastalarda tanısal amaçla İİF yöntemle ANCA'nın araştırılmasının yararlı olacağını düşünmektediriz.

Anahtar Kelimeler: **İnflamatuar barsak hastlığı (İBH), ANCA**

GİRİŞ

İnflamatuar barsak hastlığı (İBH), kolitis ülseroza (KÜ) ve Crohn hastlığını (CH) tanımlamada kullanılan ve gastrointestinal sistemin kronik inflamasyonuyla seyreden, yüksek morbiditeli ve bazı komplikasyonlarıyla da ölümcül olabilen bir hastalık grubudur. Henüz etyopatogenezleri kesin olarak açıklanamamış hastalıklar arasında yer almaktadır. Etyopatogenezi açıklamaya yönelik olarak genetik, yapısal ve bazı çevresel faktörler araştırma konusu olmuştur. Ancak,immün sistemi ilgilendiren bulgular daha önemli bulunmuştur (1-3). Son yıllarda immün sistemle ilgili olarak çeşitli otoantikorlar gösterilmiştir (4-7). Bu çerçevede etyopatogenezde otoimmün bir olayın vurgulanması yanında, bu otoantikorların aktivasyon durumunu göstermede, tanıda ve ayırcı tanıda kullanılabilmesine

SUMMARY: In this study, ANCA has been studied by indirect immunofluorescence (IIF) method in 46 patients with colitis ulcerosa (CU), 16 patients with Crohn's disease (CD), 24 patients with infectious colitis (IC). Fourty seven point eight percent of the patients with CU have been found to be ANCA positive (41.3 %p-ANCA, 6.5%c-ANCA), 12.5%of the patients with CD have been found to be ANCA, 4.2 %of the patients with IC have been found to be ANCA positive (one patient, c-ANCA). The ratio of ANCA positivity in the patients with CU has been found to be statistically significantly higher compared to patients with CD and IC ($p<0.001$). The sensitivity and specificity of ascertaining ANCA positivity in CU patients with this method is found to be higher than that in patients with CD or IC ANCA positivity, especially p-ANCA type painting favors the diagnosis of CU. Especially, p-ANCA type painting can differentiate CU from IC definitively. For this reason, we think that, the diagnosis of the patients who are thought to be IBD or IC, it will be useful to test ANCA status by IIF method.

Key words: **Inflammatory bowel disease, ANCA**

olanak da doğmuştur. Özellikle, ayırcı tanıda iki kullanım alanı bulabilmektedir. Birincisi, İBH'nın enfeksiyöz kolitden (İK) ayırmasıdır; çünkü, İBH'nın başlangıç dönemi, % 30-62 oranlarında tipki İK gibi akut ve şiddetli başlayan diare ile seyretmektedir (8,9). Hatta, bu dönemde İBH'da negatif kültür ve mikrobiyolojik veriler, İBH tanısı için yeterli görülmemelidir. Bunun yanısıra, endoskopik morfolojik görünümler ile baryumlu kolon grafile-rinden elde edilen bulguların benzerleri (özellikle KÜ'da) İK'de de görülmüştür (10-12). Ayırcı tanıda bu otoantikorların kullanım alanı bulabileceği ikinci bir alan ise KÜ ile özellikle izole kolon tutulumu gösteren CH'nin birbirlerinden ayırmasıdır. Olguların % 10-20'sinde tüm endoskopik ve radyolojik bulgulara rağmen bu iki hastalığın ayırcı tanısı yapılamamaktadır (13-15).

Bugüne kadar bildirilen otoantikorlar arasında anti-nötrofil stoplazmik antikor (ANCA) diğer otoan-

tikorlardan daha önemli bulunmuştur. ANCA; polimorfonükleer lökositlerle monositlerin stoplazmasında bulunan spesifik granüler oluşumlara (laktوفerrin, miyeloperoksidad, elastaz, katepsin, proteinaz-3, lizozim vd.) karşı oluşan antikorlardır. ANCA'nın en sık ve güvenilir olarak bakıldığı yöntem inderkt immunflöresan yöntemidir (İİF). Bu yöntem standardize edilmişdir ve bu yöntemle p-ANCA (perinuclear) ve c-ANCA (cytoplasmic) olmak üzere iki tip ANCA tanımlanmıştır (16).

İnflamatuar barsak hastalığında bildirilmiş olan ANCA pozitiflik oranları toplumdan topluma ve çalışmadan çalışmaya farklılıklar göstermektedir. Kolitis ülseroz'a da bu oran % 30-88, CH'da ise % 4.8-40 arasında değişmektedir (17-20). Bu nedenle bu otoantikorun kendi hasta grubumuzdaki oranlarını belirlemeyi gerekli bulmaktayız.

MATERIAL VE METOD

Hasta Grubu:

Gastroenteroloji kliniğine başvurarak, klinik, endoskopik, radyolojik ve histopatolojik incelemeler sonucu kesin tanı almış 46 kolitis ülseroz'a hasta ve 16 Crohn hasta çalışmaya alındı. Değerlendirmenin daha sağlıklı yapılabilmesi için endoskopik ve histopatolojik tanıları şüpheli olanlar, gaitalarında amip görülenler veya amip antikoru pozitif olanlarla, gaita kültürlerinde infeksiyon kolit yapabilecek mikroorganizma üreyenler, beraberinde primer sklerozan kolanjit gibi kolon dışında tutulumu olanlar ve otoimmun hastalık şüphesi olanlar çalışmaya alınmadılar.

Ayrıca kontrol grubu oluşturulmak ve aralarında duyarlılık ve özgüllük oranlarını belirlemek üzere, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Bakteriyoloji Kliniği ile Gastroenteroloji kliniklerine kolit tanıları ile yatırılmış, çeşitli ajan-patojenlerin kolitden sorumlu olarak tespit edildiği 24 infeksiyon kolitli hasta çalışmaya alındı.

ANCA tayini İmmunoloji Laboratuvarında indirekt immunflöresan yöntemle çalışıldı.

ANCA Tayini

Materyal:

Dekstran solusyonu (6 gr. dekstran ve 100 ml. distile su), sodyum metrizoat solusyonu (% 75 20 ml. sodyum metrizoat, 24,7 ml. distile su ve 89,4 ml. % 6 destran), % 96'lık etanol, PBS (Phosphate buffered

saline, % 10'luk insan albumini içeren), FITC (Fluorosseine isothio cyanat)'la işaretli Anti-human IgG (Behring).

Yöntem :

Hasta grubunda ANCA tayini Birinci Uluslararası ANCA toplantısında tarif edildiği şekilde İmmuno(loji) Laboratuvarında indirekt immunofloresan yöntemle çalışıldı (21).

ANCA pozitif serum (Dep. Autoimmunology, Statens Serum Institute, DK 2300 Copenhangen s, Denmark) Dr. Allan Wiik'in İmmunoloji laboratuvarına hediyesidir.

ANCA tayininde insan periferik kanından elde edilen lökositler hücre kaynağı olarak kullanılmaktadır.

Lökosit Ayırımı:

Kan örneği alındıktan hemen sonra lökosit ayırmayı yapılmalıdır. Tüm lökositlerin varlığı (nötrofil, lenfosit, monosit, eozinofil) antikor öznlüğünün kontrolü açısından gereklidir. Eritrositlerin ayrılması şart değildir.

Lökosit preparatlarının hazırlanmasında aşağıdaki aşamalar takip edilmektedir:

Heparinli tüpe alınmış olan 10 ml. kan defibrine edilir ve % 6'lık destran ve sodyum metrizoat bulunan tüpler üzerinde tabakalandırılır. Sonra 45-60 dakika oda sıcaklığında bırakılır. Lökosit tabakaları iki kez PBS (% 10 human serum albuminli) ile yıkılır. Lökosit solusyonu ile birlikte alınarak bir miktar çekilerek lamlara dağıtılr, yayma yapılır. Hazırlanmış olan lökosit preparatları 10'ar dakika 4°C'da % 96-99 etonal ile tespit edilir ve hemen havada kurutulur.

Çalışma grubundaki hastalardan alınan 5 cc. venöz kan, serumları ayrıldıktan sonra derin dondurucuda inceleme gününe kadar saklandı.

Serumların İncelenmesi:

1- Hasta serumları 1/20 dilüsyonda lam üzerindeki hücre substratına eklendi. Rutubet kamarasında 30 dakika inkübe edildikten sonra PBS ile 10 dakika yıkandı.

2- FITC ile işaretli Anti human IgG, PBS ile 1/4 oranda seyreltilerek preparata eklendi. Rutubet kamarasında 30 dakika inkübe edildi.

3- Präparat iki kez PBS ile yıkandı.

4- Lam üzerine bir damla kapama maddesi eklenecek lamelle kapatıldı. İmmunflöresan mikroskop ile sonuçlar değerlendirildi.

Tablo 1. İnfeksiyöz kolitli hastalarda etyolojik ajanlar ve ANCA ilişkisi.

Etyolojik ajanlar	Hasta sayısı	c-ANCA	p-ANCA
Entamoeba histolitika	8	-	-
Shigella	5	-	-
E. coli	5	-	-
Entamoeba histolitika + Giardia lamblia	1	+	-
E.coli + Entemobium vermicularis	1	-	-
Antibiotiğe bağlı kolit	1	-	-
Shigella + Entamoeba histolitika	1	-	-
Viral enterokolit	1	-	-
Giardia lamblia	1	-	-
Toplam	24	-	-

Hasta sonuçlarının değerlendirilmesinde pozitif titreler, pozitif standart serum ile karşılaştırıldı. Bu yöntem laboratuvara standardize edilirken toplam 100 sağlıklı kişinin serumundan ANCA çalışıldı. Bu sağlıklı kişilerin hiç birinde ANCA pozitifliği tesbit edilmedi.

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde Khi-kare testi kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmaya 46 KÜ, 16 CH ve 24 infeksiyöz kolitli toplam 86 hastanın serumu alınarak, bunların serumunda İIF yöntemiyle ANCA çalışıldı.

Kolitis ülserozalı 46 hastanın 23'ünü erkek, 23'ünü kadın hastalar oluşturmaktaydı. Crohn Hastalığı tanısı almış 16 hastanın 8'i erkek 8'i kadın, infeksiyöz kolitli 24 hastanın 12'si erkek, 12'si kadın hastadan oluşmaktadır.

Grupların yaş ortalaması, kolitis ülserozalı hastaların $41,52 \pm 13,66$, Crohn hastalarının $29,87 \pm 7,46$, kontrol grubu olarak alınan infeksiyöz kolitli hastaların $38,66 \pm 13,03$ olarak bulundu.

Her üç grupta erkek ve kadın hasta oranları benzerdi, cinsiyet farklılığı gözlenmedi ($p>0.05$).

Crohn hastalarında yaş, diğer iki gruba göre daha düşük bulundu ($p<0.01$). Crohn hastalarında ortalamada yaş $29,87 \pm 7,46$ iken, KÜ'da bu oran $41,52 \pm 13,66$ ve kontrol grubunda ise $38,66 \pm 13,03$ bulundu. Kolitis ülserozala ile kontrol grubu arasında fark bulunmadı ($p>0.05$).

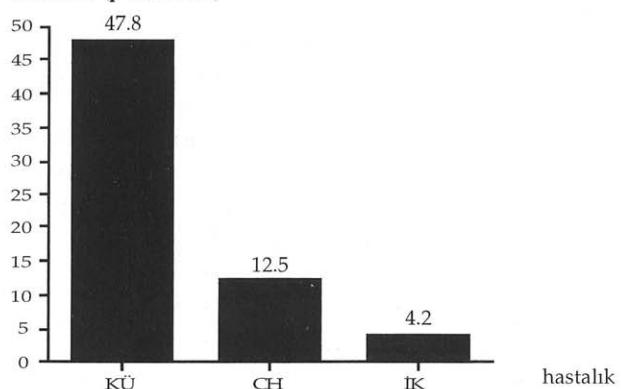
Kolitis ülserozalı 46 hastanın 22'sinde (% 47,8) ANCA pozitifliği bulundu, bunların 19'unda (% 41,3) p-ANCA, 3'tünde (% 6,5) ise c-ANCA pozitifliği saptandı.

Crohn hastalığı tanısı almış 16 hastadan sadece

2'sinde (% 12,5) ANCA pozitifliği saptandı, bu iki olgunun ikisinde de p-ANCA pozitifliği vardı.

İnfeksiyöz kolitli 24 hastanın sadece birinde (% 4,2) ANCA pozitifliği saptandı ve bu tek olgudaki ANCA tipi c-ANCA özelliğinde boyanma göstermek-

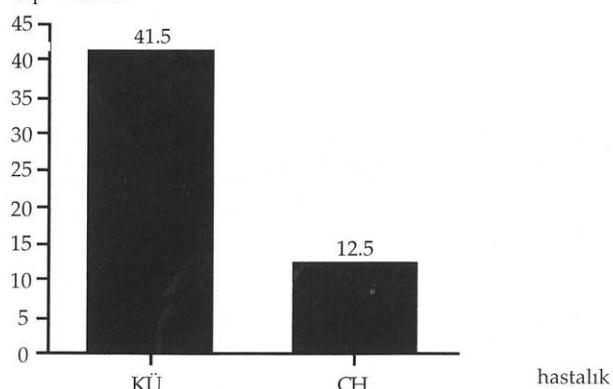
% ANCA (p+c ANCA)



* KÜ $p<0,001$

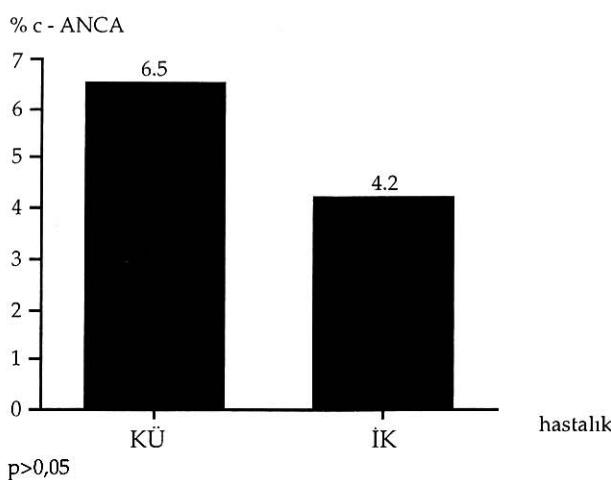
Grafik 1. Gruplarda ANCA pozitiflikleri görülmektedir.

% p - ANCA



$p<0,001$

Grafik 2. Bütün hastalardaki p-ANCA pozitiflikleri görülmekte- dir. Infeksiyöz kolitte p-ANCA pozitifliğine rastlanmadı.



Grafik 3. Bütün Hastalardaki c-ANCA pozitiflikleri görülmektedir. Crohn hastalığında c-ANCA tespit edilmemiştir.

teydi. c-ANCA pozitifliği saptadığımız tek olguda Entamoeba histolitica ile Giardia lamblianın birlikte enfestasyonu kolitden sorumluydu (Tablo 1).

Kolitis ülserozada ANCA pozitiflikleri; gerek p-ANCA ve C-ANCA birlikte ele alındığında, gerekse de p-ANCA tek başına ele alındığında, istatistiksel olarak CH ve İK'den daha yüksek oranda pozitif bulundu ($p<0,001$). c-ANCA pozitifliği her üç hastalık grubunda da birbiriyle istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p>0,05$). ANCA pozitiflikleri yönünden Crohn hastalığı ile kontrol grubu arasında fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 2. p-ANCA'nın hasta gruplarına göre dağılımı

p-ANCA	KÜ*	CH**	İK (Kontrol)
Negatif	27 (% 58,7)	14 (% 87,5)	24 % 100
Pozitif	19 (% 41,3)	2 (% 12,5)	-

* $p<0,001$ (KÜ'nin diğer iki grupta karşılaştırılması)

** $p>0,05$ (CH'nin infeksiyöz kolitte karşılaştırılması)

Tablo 3. p-ANCA ve c-ANCA beraber ele alındığında hasta gruplarına göre dağılım görülmektedir.

p-ANCA c-ANCA birlikte	KÜ*	CH**	İK (Kontrol)
Negatif	24 (% 52,2)	14 (% 87,5)	23 (% 95,8)
Pozitif	22 (% 47,8)	2 (% 12,5)	1 (4,2)

* $p<0,001$ (KÜ'nin diğer iki grupta karşılaştırılması)

** $p>0,05$ (CH'nin infeksiyöz kolitte karşılaştırılması)

Kolitis ülserozada pozitiflik oranı (% 41,3) diğer iki gruptaki pozitiflik oranlarına göre oldukça anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$).

p ve c-ANCA birlikte ele alındığında KÜ'deki pozitiflik oranı daha yüksek bulunurken (% 47,8), CH'da bu oran değişmedi, infeksiyöz kolitde ise % 4,2 oranında saptandı. Kolitis ülserozada oran diğer iki gruptaki pozitiflik oranlarına göre oldukça anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$), CH ile infeksiyöz kolit arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p<0,05$).

ANCA'nın İBH İçin Duyarlılık ve Özgüllüğü

p-ANCA alındığında kolitis ülserozanın Crohn hastalarına göre duyarlılığı % 41,3, özgüllüğü ise % 87,5 bulundu. Pozitif prediktif değer (PPD) ise % 90,5 bulundu.

Tablo 4. Kolitis ülserozanın CH'na göre p-ANCA duyarlılık ve özgüllüğü

	p-ANCA (+)	p-ANCA (-)	Hasta sayısı
KÜ*	19	27	46
CH	2	14	16

* Duyarlılık = % 41,3

* Özgüllük = % 87,5

* PPD = % 90,5

p-ANCA ve c-ANCA birlikte ele alındığında KÜ'nin Crohn hastalarına göre duyarlılığı bir miktar daha yükselmektedir (% 47,83). Bu durumda PPD % 91,2 bulundu.

Tablo 5. Her iki tip ANCA birlikte ele alındığında KÜ'nin CH'na göre duyarlılık ve özgüllüğü

	p-ANCA ve c-ANCA Pozitif	p-ANCA ve c-ANCA negatif	Hasta sayısı
KÜ*	22	24	46
CH	2	14	16

* Duyarlılık = % 47,83

* Özgüllük = % 87,5

* PPD = % 91,66

Kolitis ülserozada sadece p-ANCA pozitiflikleri yönünden karşılaştırılırsa infeksiyöz kolite göre duyarlılığı % 41,3, özgüllüğü % 100 bulunur. PPD ise % 100'dür.

Kolitis ülserozada ve infeksiyöz kolitli hastalarda p-ANCA ve c-ANCA pozitiflikleri beraber ele alındığında tek başına p-ANCA'nın ele alınmasına gere-

KÜ'daki duyarlılık artmakta ancak özgüllük azalmaktadır (Tablo 7). Bu durumda PPD % 95,65 olmaktadır.

Tablo 6. p-ANCA ele alındığında KÜ'nun infeksiyöz kolite göre duyarlılık ve özgüllüğü

	p-ANCA pozitif	p-ANCA negatif	Hasta sayısı
KÜ*	19	27	46
İK	0	24	24

* Duyarlılık = % 41,3

* Özgüllük = % 100

* PPD = % 100

Tablo 7. Her iki tip ANCA ele alındığında KÜ'nin IK'e göre duyarlılık öngörürlüğü

	p-ANCA ve c-ANCA Pozitif	p-ANCA ve c-ANCA negatif	Hasta sayısı
KÜ*	22	24	46
İK	1	23	24

* Duyarlılık = % 47,83

* Özgüllük = % 95,83

* PPD = % 95,65

TARTIŞMA

Inflamatuar barsak hastalığı bugün için nedeni kesin olarak bilinmeyen hastalıklar arasında yer alır, ancak oluşan inflamasyonda immun patogenezin rolü olduğu hakkında güçlü bulgular elde edilmiştir (1-3). Inflamatuar barsak hastalığında mukozal immun sisteme fonksiyonel bir bozukluk vardır. Normal koşullarda mukozal immun sisteme ağırlikli olarak IgA üretimine programlı bir immun defans mekanizması varken, İBH'da nedeni henüz bilinmeyen aşırı IgG üretimiyle seyreden, kontrollsüz, self-toleransın olmadığı ve antijenik uyarıya aşırı inflamatuar yanıtının olduğu bir immun defans mekanizması söz konusudur (22-24). Normalde hakim olan IgA bağımlı immun defans mekanizması, kontrollü ve sınırlı bir inflamatuar yanıt verirken, klasik kompleman yolunu aktive etmez, agresyon ve immun uzaklaştırma denilen pasif bir yolla ajan patojeni uzaklaştırır. Oysa, İBH'da IgG artışı ile seyreden, immun defans mekanizmasındaki klasik kompleman yolunun aktive olduğu ve konakçı dokusunda hasarlanmaya sebep olan aşırı bir inflamatuar yanıt vardır (25,26).

Inflamatuar barsak hastalığında immun patogenezin bir başka boyutu da otoimmünitedir. Aşırı ve kontrollsüz bir immun yanıt, self-toleransın bozul-

ması, çeşitli mukozal hücre veya hücre içi elemlara karşı otoantikorların oluşumuyla seyreder. Bugüne kadar bir çok otoantikor bildirilmiştir (4-7). Yakın zamanda bu otoantikorlar arasında ANCA ön plana çıkmış, ayırcı tanı ve immun patogenezin açıklanmasında önem kazanmıştır. ANCA, proinflamatuar sitokinler, adezyon molekülleri ve komplemanı direkt aktivé ederek, varolan inflamasyonu daha da belirgin hale getirmektedir (27-31). Özellikle ÜK'in CH ve diğer kolitlerden ayırcı tanısı yapıılırken tüm endoskopik, radyolojik, histopatolojik ve mikrobiyolojik veriler kullanılmasına rağmen bazen güçlüklerle karşılaşmaktadır (8-15). Bu hastalıkların ayırcı tanısında ANCA, kullanılabilece potansiyeli taşımaktadır. Genelde ÜK'teki ANCA pozitiflikleri CH'dan daha yüksek bulunmuştur. Ancak verilen oranlar, toplumdan topluma ve çalışmadan çalışmaya farklılıklar gösterdiğiinden kendi hasta grubumuzda bu oranların saptanmasını gerekli gördük.

Kolitis ülserozadaki ANCA pozitiflik oranları % 30 ile % 88 arasında değişmektedir (17,18). Crohn hastalığında ise bu oran % 4,8 ile % 40 arasında değişmektedir (19,20). Infeksiyöz kolitlerde bu oran % 0-5 arasında bulunmuştur (18,20,32).

Bu farklı oranların seçilmiş hasta grubuna ve kullanılmış yöntem farklılıklarına bağlı olması söz konusudur, ancak genetik heterojeniteye bağlı olduğunu da düşünmektedir. Yang ve arkadaşları, ANCA (+) ÜK'lilerde HLA DR₂, ANCA (-) KÜ'lüllerde HLA DR₄ bireliliğini tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar, KÜ'lülerin neden tümünde ANCA'nın pozitif olmadığını bir ölçüde açıklayabilirler (33).

Kolitis ülserozadaki ANCA pozitifliği CH ve İK'den anlamlı oranda yüksek bulundu ($p<0,001$). c-ANCA pozitiflikleri her üç grupta önemli bulunmadı ($p>0,05$).

Üç gruptaki ANCA pozitiflik oranları karşılaştırıldığında, KÜ'nün CH'na göre duyarlılık ve özgüllük oranları sırasıyla % 41,5 ve % 87,5 olarak saptandı. Bu değerlerden de anlaşılaçığı gibi p-ANCA pozitifliği kesin bir ayırcı tanı yapmazken (PPD: % 90,5), tanıyı büyük oranda KÜ lehine desteklemektedir.

Kolitis ülserozası, infeksiyöz kolitlerle duyarlılık ve özgüllük yönünden karşılaştırıldığında ise sadece p-ANCA ele alındığı zaman duyarlılık % 41,3, özgüllük % 100 bulunmuştur. Diğer bir deyişle p-ANCA pozitifliğinin saptanması durumunda kesin olarak infeksiyöz kolitden uzaklaşılabilir.

Crohn hastaları ile infeksiyoz kolit arasında ANCA pozitiflik oranları fark göstermedi ($p>0,05$). Bu durum p-ANCA'nın Crohn hastalığı ile İK'in ayırcı tanısında önemli bir laboratuvar bulgusu olma özelliğini taşımadığını düşündürmektedir.

Gruplar arasında yaş karşılaştırıldığında, Crohn hastalarının yaş ortalamaları diğer iki gruba göre daha düşük bulundu ($p<0,05$). Bu yaş farklılığının ANCA pozitiflikleri üzerine etkili olabileceği düşünülmemiştir. Çalışmamızın ve diğer araştırmaların sonuçları, KÜ'de ANCA pozitifliği ile hastanın yaşı arasında bir ilişki olmadığını göstermektedir.

Yurdumuzda yapılmış ANCA çalışmalarından, Tezel ve arkadaşları çalışmamıza benzer sonuçlara ulaşmışlardır. Çalışmalarında KÜ'de % 47,25, CH'da % 23,6 oranlarında p-ANCA pozitifliği saptamışlardır (34).

Duerr ve arkadaşları, kolitis ülserozla ile diğer kolit şekilleri arasında p-ANCA'nın yerini araştırmışlardır (18). Bu araştırmada iki farklı yöntem kullanılmıştır. ELISA yöntemi kullandığında KÜ'lilerin % 88'inde ANCA pozitifliği saptamışlardır. Bu metodun duyarlığını diğer kolitlere göre % 65 bulurken, özgüllüğünü daha düşük bulmuşlardır. İIF yöntem kullanıldığında ise p-ANCA tipi boyanma biçimini ile duyarlılık % 60 bulunurken, özgüllük % 94 bulunmuştur. Diğer kolitler arasında İIF yöntemiyle p-ANCA pozitiflikleri KÜ'de % 60 (24/40), izole kolon tutulumlu CH'da % 6 (1/8), kollagen vasküler hastalıkların kolitinde % 14 (5/35), infeksiyoz kolitlerde % 5 (1/19), irritabl barsak sendromunda % 0 (0/27), diyare ile seyreden çeşitli hastalıklarda % 0 (0/8) bulunmuştur. Ayrıca kolektomi sonrasında 27 KÜ'li hastada % 63 oranında p-ANCA saptamışlardır. Infeksiyöz kolit grubu olarak seçikleri 19 hastanın 10'u *Campylobacter* koliti, 4'ü Amibe bağlı kolit, 1'i *Shigella* koliti, 4'ü virüslere bağlı kolitten oluşmaktadır. Duerr ve arkadaşlarının bu çalışması bizim çalışma sonuçlarımızla karşılaştırıldığında KÜ'deki p-ANCA oranımız daha düşük (% 41,5'a % 60), CH'deki p-ANCA oranımız daha yüksek (% 12,5'a % 6) görülmektedir. Bir diğer farklılık da Duerr ve arkadaşlarının KÜ'larda hiç c-ANCA'ya rastlamamış olmalarıdır. Bu çalışma KÜ'nün diğer kolitlerden ayırcı tanısında İIF ile p-ANCA'ya bakılmasının özgüllüğünü daha da artıracığı sonucuna ulaşmaktadır.

Bir başka çalışmada İtalya'da Vecchi ve arkadaşları, toplam 290 olguda p-ANCA araştırmışlardır. Buların 102'sinde KÜ, 48'inde CH, 40'ında gluten entropatisi mevcut olup, 100'ü sağlıklı kişilerden oluşmaktadır. Kolitis ülserozalıların % 45,1'inde,

CH'ların % 4,8'inde, gluten entropatililerin % 0'ında ve sağlıklı bireylerin % 1'inde, p-ANCA pozitifliği saptamışlardır. Kolitis ülserozadaki bu oran diğer gruplara göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,0001$). Bu testin duyarlığını % 45,1, özgüllüğünü % 95,1 olarak tespit etmişlerdir. Kolitis ülserozalı hastalarda c-ANCA pozitiflikleri bildirmemişlerdir (19). Vecchi ve arkadaşlarının bu çalışmasındaki sonuçlar, bizim çalışmamıza benzemektedir. Gluten enteropatili hastalarda ANCA çalışılması, bu araştırmamızın çalışmamızdan farklı yönünü oluşturmuştur.

Yine bir Akdeniz ülkesi olan Fransa'dan Reumaux ve arkadaşları, KÜ'liların % 49'uda p-ANCA'yı pozitif bulduklarını bildirmiştir (35). Yunanistan'dan Dalekos ve arkadaşları, 80 kişilik KÜ'li hasta grubunda % 30 oranında ANCA pozitifliği (% 95,8'i p-ANCA) bulmuşlardır (36). Her iki araştırmada da kontrol grubu olarak normal bireyler alınmış ve bunların hiç birisinde ANCA pozitifliği saptamışlardır.

Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmalarda kolitis ülserozalı hastalarda ANCA pozitiflikleri gene de % 70 civarında saptanmıştır (18,37,38). Üç farklı Akdeniz ülkesinde bildirilen oranlar ve bizim çalışmamızda KÜ'deki ANCA oranları, % 50'nin altında kalmaktadır. Çin'de yapılan bir araştırmada Sung ve arkadaşları, KÜ'li hastaların % 31'inde p-ANCA, % 42'sinde c-ANCA pozitifliği saptamışlardır; bu araştırmacılar ilginç olarak diğer araştırmacıların tersine ağırlıklı olarak c-ANCA pozitifliği saptamışlardır (39). Kneko ve arkadaşları KÜ'li Japon çocukların % 35, etnik olarak farklı diğer KÜ'li çocuk grubunda % 50 oranında p-ANCA pozitifliği saptamışlardır (40). Bütün bu farklılıklar, Yang ve arkadaşlarının saptadıkları gibi ANCA (-) ve ANCA (+) ler arasındaki HLA Class II alel ilişkisinin bir sonucu olabilir (33). Bu konuda başka araştırmalara ihtiyaç vardır.

Brockroelofs ve arkadaşları, KÜ'liların % 49'unda CH'liların % 40'ında yüksek titrede p-ANCA saptamışlardır. Aktif KÜ'larda p-ANCA titreleri CH'lardan daha yüksek bulunmuştur (41). Bu araştırmamızın bulguları, diğer araştırmalardan farklıdır; çünkü KÜ ve CH'lardaki oranlar arasında önemli farklılıklar saptanamamıştır.

Çocuklardaki İBH'da ANCA'yı araştıran bir çalışmada KÜ'liların % 66'sı, CH'liların % 19'inde ANCA pozitiflikleri bildirmiştir. ANCA duyarlılığı % 66, özgüllüğü % 84 saptanmıştır (42).

Romas ve arkadaşlarının Avustralya'dan bildirdikleri bir çalışmada; İIF yöntemiyle 22 KÜ'linin %

85'inde ANCA pozitifliği bildirmişlerdir. Bunların % 68'i p-ANCA, % 17'si c-ANCA'dan oluşmaktadır. ELISA yöntemi ile KÜ'liların % 73'ünde p-ANCA pozitifliği bildirilmiştir (43).

Inflamatuar barsak hastalığında solid-faz yöntemle-riyle ANCA'nın hedef antijenini saptamaya yönelik yapılmış çalışmalarında, hedef antijenin % 32-83'i saptanamamıştır. En sık saptanmış olan hedef anti-jen, % 45 oranında laktoferrin'dir. Ancak diğer araştırmacılar bu oranı pek kabul etmemiştir. Genelde % 80'nin hedef antijeni tesbit edilememiştir. Bu hedef antijenin saptanmasıyla daha duyarlı ve öz-gül tanı yöntemlerinin ortaya çıkacağı, patogenezin

daha iyi aydınlatılabileceği sanılmaktadır (20,40). Bir çalışmada KÜ'da hedef antijenin anti-katepsin G olması ve 28 KD'luk yeni bir antikorun olması ile tedaviye direnç arasında bir ilişki saptanmıştır (44).

Sonuç olarak, ANCA, İBH'da önemli bir laboratu-var bulgusudur. ANCA'nın KÜ'daki pozitiflik orani, CH ve İK'teki orana göre daha yüksek bulunmuştur. Özellikle p-ANCA'nın solid faz yöntemleri yerine İIF ile tespit edilmesinin duyarlılığı ve öz-güllüğü daha artıracığı ortaya konmuştur. p-ANCA pozitifliği KÜ için spesifik değildir, ancak diğer kolit yapan hastalıklar arasında tanımı KÜ'ya yaklaşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Jayanthi V, Probert CSJ, et al. Current concepts of the etiopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 1991; 86: 1566 - 72.
2. Strober W, James SP. The immunologic basis of inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol* 1986; 6: 451-32.
3. Targan SR, Shanahan F. Immune-mediated tissue injury in inflammatory bowel disease. (in: Tytgat GNJ, Van Blankenstein M, eds) *Current topics in gastroenterology and hepatology*, New York: Thieme, 1990: 465-471.
4. Fiocchi C, Roche JK. High prevalence of antibodies to intestinal epithelial antigens in patients with inflammatory bowel disease and their relatives. *Ann Intern Med* 1989; 110: 786-94.
5. Chapman RW, Cottone M, Selby W et al. Serum autoantibodies, ulcerative colitis and primary cholangitis. *Gut* 1986; 27: 86-91.
6. Nielson H, Wirk A, Elmgreen J. Granulocyte specific anti-nuclear antibodies in ulcerative colitis. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1983; 91: 23-6.
7. Snook JA, Chapman RW, Fleming K, Jewell DP: Anti-neutrophil nuclear antibody in ulcerative colitis, Crohn's disease and primary sclerosing cholangitis. *Clin Exp Immunol* 1989; 76: 30-3.
8. Drake AA, Gilchrist MJR, Washington JA, Huizinga KA, Van Scoy RE. Diarrhea due to *Campylobacter fetus* sub-species *jejuni*. *Mayo Clin Proc* 1981; 56: 414-23.
9. Dronfield MW, Fletcher J, Langman MIS. Coincident *Salmonella* infections and ulcerative colitis; problems of recognition and management. *Br Med J* 1974; 1: 99-100.
10. Binder V, Both H, Hansen PK, et al. Incidence and prevalence of ulcerative colitis and Crohn's disease in the county of Copenhagen 1962 to 1978. *Gastroenterology* 1982; 83: 563-8.
11. Nordenvall B, Broström O, Berglund M, et al. The incidence of ulcerative colitis in Stockholm County 1955 - 1979. *Scand J Gastroenterol* 1985; 20: 783-90.
12. Lennard-Jones JE. Classification of inflammatory bowel disease, proceedings of the first European community workshop or inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterology* 1989; 24: 2-6.
13. Harrison's Principles of Internal Medicine. Thirteenth edition. 1994. pp 1405.
14. Schumacher G. First attack of inflammatory bowel disease and infectious colitis: a clinical, histological and microbiological study with special reference to early diagnosis. *Scand J Gastroenterol* 1993; 28: 1-24.
15. Lockhart-Mummery HE, Morson BC. Crohn's disease (regional enteritis) of the large intestine and its distinction from ulcerative colitis. *Gut* 1960; 1: 87-105.
16. Van der Woude FJ, Daha MR, Van Es LA: The current status of neutrophilic cytoplasmic antibodies. *Clin Exp Immunol* 1989; 78: 143-148.
17. Nölle B, Specks U, Lüdemann J, et al: Anti cytoplasmic autoantibodies: their immuno-diagnostic value in Wegener's granulomatosis. *Ann Intern Med* 1989; 111: 28-40.
18. Duerr RH, Targan SR, Landers CD, et al. Neutrophil cytoplasmic antibodies: A link between primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1991; 100: 1385-1391.
19. Vecchi M, Bianchi MB, Sinico RA, et al. Antibodies to neutrophil cytoplasm in Italian patients with ulcerative colitis; sensitivity, specificity and recognition of putative antigens. *Digestion* 1994; 55(1): 34-9.
20. Broekroelofs J, Mulder AH, Nelis GF, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in sera from patients with inflammatory bowel disease (IBD). Relation to disease pattern and disease activity. *Dig Dis Sci* 1994; 39(3): 545-549.
21. Wiik A: Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. *APMIS* 1989; 97 (suppl 6): 12-13.
22. Mueller CH, Knoflach P, Zielinski CC: T cell activation in Crohn's disease. Intestinal levels of soluble interleukin-2 receptor in serum and in supernatants of stimulated peripheral blood mononuclear cells. *Gastroenterology* 1990; 98: 639-646.
23. Scheiber S, MacDermott RP, Readler A, et al. Increased activation of isolated intestinal lamina propria mononu-

- clear cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1991; 101: 1020-1030.
24. Schreiber S, Hash GS, Readler A, et al: Human lamina propria mononuclear cells are activated in inflammatory bowel disease. In Tsuchiya M (ed). *Frontiers of Mucosal Immunology*. Amsterdam, Elsevier, 1991; pp 749-753.
 25. Scott MG, Nahm MH, Macke K, et al. Spontaneous secretion of IgG subclasses by intestinal mononuclear cells: Differences between ulcerative colitis, Crohn's disease and controls. *Clin Exp Immunol* 1986; 66: 209-215.
 26. Heiner DC. Significance of immunoglobulin G (IgG) subclasses. *Am J Med* 1984; 76: 1.
 27. Halstensen TS, Mollnes TE, Brandtzaeg P. Persistent complement activation in submucosal blood vessels of active inflammatory bowel disease: Immunohistochemical evidence. *Gastroenterology* 1989; 97: 10-19.
 28. Malizia G, Calabrese A, Cottone M, et al. Expression of leukocyte adhesion molecules by mucosal mononuclear phagocytes in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1991; 100: 150-159. 1988.
 29. Schreiber S, Raedler A, Stenson WF, et al. The role of the mucosal immune system in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1992; 21: 469.
 30. Davies DJ, Moran JE, Niall JF, et al. Segmental necrotizing glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology. *Br Med J* 1982; 2: 606.
 31. Hall JB, Wadham BMN, Wood CJ, et al. Vasculitis and Glomerulonephritis; a subgroup with an antineutrophil cytoplasmic antibody. *Aust NZJ Med* 1984; 2: 227-8.
 32. Izzo RS, Witkon K, Chen Al, et al: Neutrophyl-activating peptide (Interleukin-8) in colonic mucosa from patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 1993; 28: 296-300.
 33. Yang H, Rotter JI, Toyoda H, et al. Ulcerative colitis: A genetically heterogenous disorder defined by genetic (HLA Class II) and subclinical markers. *J Clin Invest* 1993; 92: 1080-84.
 34. Tezel A, Dalva K, Baysal Ç, et al. İnflamatuvlar Barsak Hastalıklarında Antinötrofilik Stoplazmik Antikor. T.Y.I.H. Gastroenteroloji Kliniği XII. Ulusal Gastroenteroloji Kongresi. Kongre Özeti Bildirisi Kitabı. S: 182, P-352.
 35. Reumaux D, Colombel JF, Duclos B, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies in sera from patients with ulcerative colitis after proctocolectomy with ileo-anal anastomosis. *Adv Exp Med Biol* 1993; 336: 523-5.
 36. Dalekos GN, Manoussakis MN, Goussia AC, et al; Soluble interleukin-1 receptors, antineutrophil cytoplasmic antibodies, and other autoantibodies in patients with ulcerative colitis. *Gut* 1993; 34(5): 658-64.
 37. Targan SR, Saxon A, Landers C et al. Serum antineutrophil cytoplasmic autoantibodies distinguish between ulcerative colitis from Crohn's disease patients. *Gastroenterology* 1989; 96: A505.
 38. Saxon A, Shanahan F, Landers C, et al. A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 202-210.
 39. Sung J, Chan FK, Lawton J, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and inflammatory bowel disease in Chinese. *Dig Dis Sci* 1994; 39 (4): 886-892.
 40. Kneko K, Suzuki Y, Shimizu T, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in Japanese children with ulcerative colitis. *J Pediatr Health* 1995; 31(4): 336-338.
 41. Broekroelofs J, Mulder AH, Nelis GF, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in sera from patients with inflammatory bowel disease (IBD). Relation to disease pattern and disease activity. *Dig Dis Sci* 1994; 39 (3): 545-549.
 42. Proujansky R, Fawcett PT, Gibrey KM, et al. Examination of antineutrophil cytoplasmic antibodies in childhood inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 17 (2): 193-197.
 43. Romas LF, Paspaliaris B, Apice AJ, Elliott PR. Autoantibodies to neutrophil cytoplasmic (ANCA) and endothelial cell surface antigens (AECA) in chronic inflammatory bowel disease. *Aust NZJ Med* 1992; 22(6): 625-9.
 44. Sobajima J, Ozaki S, Okazaki T, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in ulcerative colitis: anti-cathepsin G and a novel antibody correlate with a refractory. *Clin Exp Immunol* 1996; 105(1): 120-124.