

İnflamatuar barsak hastalığında otoantikolar

Autoantibodies in inflammatory bowel disease

Nuray Gürel-Polat

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi İktrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD Viroloji ve Temel İmmünoloji BD ÇAPA İSTANBUL

İletişim / Correspondence: Nuray Gürel-Polat Adres / Address: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD Viroloji ve Temel İmmünoloji BD Çapa-İstanbul e-mail: nuray.gurelpolat@gmail.com

ÖZET

İnflamatuar barsak hastalığı (İBH) Crohn's hastalığı (CH) ve ülseratif kolit (ÜK) olarak adlandırılan genel terimlerdir. Genetik faktörler İBH'nda önemli bir role sahiptir. İBH (kuvvetli) ailesel özellikler ile ilişkilidir. Son çalışmalar gastrointestinal bölgedeki endojen bakterilere karşı bozulan bir immün cevaba sahip olan İBH'lı olgular hipotezini savundular. Serolojik cevaplar *Saccharomyces cerevisiae*, mikobakteri, bakteroides ve *E. coli* karşı antikorları içeren Crohn's hastalığında görüldü.

Son yıllarda çeşitli serolojik belirteçler CH ve ÜK'in ayırımı ve teşhisi için faydalı olduğu bulundu. Bunlar p-ANCA, ASCA, anti-pankreatik antikor, OmpC, intestinal goblet hücre antikorları ve anaerobik coccoid rod antikorlarını kapsar.

Anahtar kelimeler: İnflamatuar barsak hastalığı, otoantikolar

(p-ANCA, ASCA, intestinal goblet hücre antikor, anti-pankreatik antikor)

SUMMARY

Inflammatory bowel disease (IBD) is a generic term that refers to Crohn's disease (CD) and Ulcerative Colitis (UC). The genetic factors play a significant role in IBD. IBD is associated with a (strong) familial pattern. Recent studies support the hypothesis that IBD patients have a dysregulated immune response to endogenous bacteria in the gastrointestinal tract. The serologic response seen in Crohn's disease include antibodies to *Saccharomyces cerevisiae*, mycobacteria, bacteroides and *E. coli*.

In recent years, several serologic markers have been found to be useful for the diagnosis and differentiation of CD and UC. The markers include the following antibodies p-ANCA, ASCA, anti-pancreatic antibody, Omp-C antibody, intestinal goblet cell antibody and antibody to anaerobic coccoid rods.

Key words: İnflammatory bowel disease, autoantibody

(p-ANCA, ASCA, intestinal goblet cell antibody, anti-pancreatic antibody)

GİRİŞ

Hastalık spesifik antikorlar ör.sistemik lupus eritomatosis, Wegener granüloatozis, Grave's hastalığı, Hashimoto tiroiditi, otoimmün hepatit, primer bilier siroz gibi pek çok klinik hastalıkta varlık göstermesi önem taşımaktadır (1). Bundan dolayı, otoantikolar kesin teşhisin konulabilmesi için çok önemlidir, fakat İnflamatuar Barsak Hastalığı'nda (İBH) durum farklıdır. Çeşitli serum antikorları son yıllarda Crohn's Hastalığı(CH) veya Ülseratif Kolit(ÜK)'te tarif edilmiştir. İBD çoğu kez baskın olan antikorlar anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) ve periferik anti-nötrofil

sitoplazmik antikor (p-ANCA)dur (2,3). ASCA CH için serolojik belirteç olarak kullanılırken ve CH olgularının yaklaşık 2/3üne yakınında bulunur, buna karşılık pANCA ÜK hastalarında %60-80 oranındadır (4).

Crohn's hastalığı Burill Crohn ve arkadaşları tarafından 1922'de ilk kez tanımlanmıştır ve Regional Enteritis olarak isimlendirilmiştir. Crohn's hastalığı ABD'de 100.000 de 4 hastada teşhis edilir , insidansı ve prevalansı yüksektir.

Ülseratif kolit kalın barsağın mukoza ve submukozanın inflamasyonu ile karakterize olan etyolojisi bilinmeyen kronik bir hastalıktır (4).

Anti-nötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA), lökositlerin lizozomal granüllerindeki proteinlere karşı gelişmiş olan otoantikorlardır. Bu antikorların immünfloresans yöntemine göre belirlenen farklı görüntüleri söz konusudur. Boyanma perinükleer tarzında ise p-ANCA, sitoplazmada granüler ise c-ANCA olarak isimlendirilir. Bu antikorlar daha çok pauci-immün vaskülitlerde bulunmakla beraber, başta inflamatuvar hastalıklar olmak üzere birçok hastalıkta pozitif olabilmektedir (5). Son yıllarda p-ANCA antikorunun inflamatuvar barsak hastalıklarında da pozitif olabileceğine dair yayınların sayısı giderek artmaktadır. (6,7,8,9,10)

Kronik barsak hastalığında pANCA'nın hedef antijenleri kesin olarak tanımlanmamıştır. Miyeloperoksidaz(MPO) ve proteinaz-3(PR3) veya laktoferrin, lizozim, elastaz veya katepsin-G hedef antijen olarak bulunmamıştır (4).

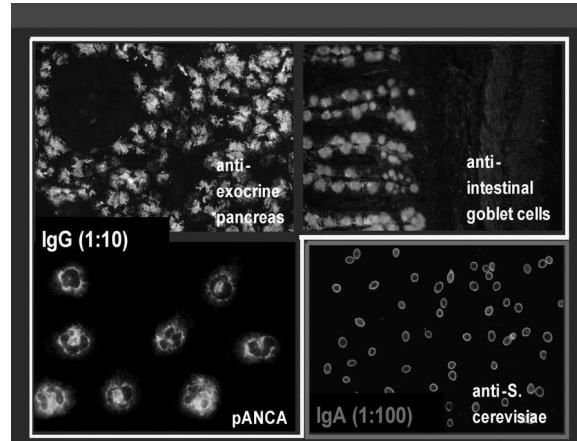
Çeşitli araştırmalar İBH ile pANCA'nın ilişkisini sıklıkla göstermiştir (8,9,10). ÜK hastalarında serum pANCA insidansı %50- %80 arasında rapor edildi. Çalışmalar p-ANCA üretimi kolon mukozasında oluştuğunu ve mukozal antijenlerin intestinal bölgede p-ANCA'nın lokal üretimine bağlı olduğunu göstermiştir. p-ANCA kolon mukozasındaki B hücreleri tarafından üretilir ve nötrofillerin 50 kDa nükleer zarf proteini ile reaksiyona girer.

p-ANCA özelliği DNaz-duyarlı olan nükleer antijenin sonucudur ve "atipik p-ANCA" olarak adlandırılır. p-ANCA boyanma özelliği substrat hücrelerin DNaz muamelesi sonrası kaybolur. ÜK'li vakaların yaklaşık %70 özellik ve antijen tanınmasının çıkarımıdır ve vakaların %30'dan fazlasında homojen sitoplazmik boyanma değişimi vardır (2).

ANCA'lar ÜK'li hastaların %60-80'ni ve CH larının %10-30'unun serumunda bulunur. ÜK'li çocuk ve adolesan hastaların serumunda %80 oranında ANCA ekspresyonu gösterilmiştir (8).

p-ANCA; CH olarak teşhis edilen hastaların %10-30'unda tanımlandı (9). CH'da, p-ANCA'nın ekspresyonu ÜK'in klinik belirtilerine sahip hastalarda "ülseratif kolit benzeri" fenotip olarak karakterize bir alt grubu tanımlanır. p-ANCA pozitif serum IgG CH hastalar ÜK de p-ANCA'nın varlığı mukozal inflamasyonun bir spesifik tip olduğu önerilir (11).

Crohn's hastalığında bir alt grup popülasyonu tanımlanan p-ANCA'nın yanı sıra, Crohn's hastalığı ile ilişkili olan farklı diğer antikorlar da mevcuttur. Bu antikorlar arasında *S. cerevisiae* antikorları (ASCA), pankreatik antikor ve OmpC (*E. coli* bakteriden izole edilen dış membran porin) antikorları, intestinal goblet hücre antikorları sayılabilmektedir. Şekil 1'de antikorların floresan görüntüsü bulunmaktadır.



Şekil 1 : Otoantikorların immünfloresan mikroskobu görüntüsü.

Anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) antikorları, CH hastalarının serumunda majör olarak ekspresse edildiği gösterilen ASCA bir serum immün belirteçidir. ASCA antikorları CH için yüksek spesifitededir. Serumdaki ASCA CH olan olgularda %70'in üzerinde ekspresse edilir. CH'da görülen *S. cerevisiae* antikorları *S. cerevisiae* üzerindeki oligomannosidik epitopları ile bağlantılıdır (2).

İnce barsak hastalığı hem IgA hem de IgG ASCA pozitif fakat p-ANCA negatif olan hemen hemen tüm CH olgularında bulunur. IgA-

ASCA ve IgG-ASCA'lı CH daha agresif seyretmektedir. ASCA testi hem immüno Floresan (İF) hem de ELİSA metodu ile çalışılır (11).

Pankreatik antikorlar, PAb 20 yıl önce tarif edilmesine karşın altta yatan immünolojik mekanizmaların ne şekilde etkilediği tam açıklığa kavuşmamıştır. Bu antikor ya ekzokrin pankreasın sitoplazmasında ya da pankreatik asinar hücrelerde boyanma olmak üzere iki şekilde gözlenmektedir. İlk olarak bu antikorlar ekzokrin pankreasın sitozolünde toplanan proteinleri tanımladığı düşünülmektedir. Bununla beraber, PAb'ın varlığı ve ekzokrin pankreasın bozulan fonksiyonu arasındaki ilişkinin güçlü olmadığı gösterilmiştir. Henüz onaylanmayan bir diğer görüşe göre bu otoimmün reaktivitenin CH ile direkt bağlantılı olduğu gözlenmiştir. Bu yüzden otoantikorları içeren otoimmün fenomen ve öze reaktif lenfositler CHda rapor edilmesine rağmen doku hasarı direkt olarak antikorlar tarafından oluşur. Desteklenen bulgular İBH'nda serum antikor yanıtının luminal (ör. bakteriyel) antijenler ile karşılıklı etkileşimi ile tetiklendiğini düşündürmektedir (12).

Pankreatik antikorlar insan pankreas dokusu ile indirekt immüno Floresan yöntemiyle tanımlanarak Crohn's hastalığı olan kişilerde %31 ile %39 oranında bulunmuştur. 212 CH bulunan bireylerin 30'unda pankreatik asini (subtip I) de "drop like" floresans ile karakterize olan pankreatik antikorlara sahiptir. 28 hastada pankreas asinar hücrelerde (subtip II) fine speckled (ince granül) boyanma özelliği gösterilmiştir (13).

Seibold ve ark(13). pankreatik antikorların CH için özgül belirteç olduğu sonucuna varmıştır. İki altgrup farklı immüno Floresans özellik göstermektedir. Pankreatik antikorun varlığı ile CH olgularında tanımlanan altgrupları ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Pankreatik antikor ile reaksiyona giren özgül bir antijen tanımlanmış değildir. Bu antikorlar Crohn's hastalığına sahip olan hastaların aile üyelerinde görülmemektedir.

Crohn's hastalığının patogenezi ile pankreatik antikorların ilişkisi açık değildir (12). Stöcker ve ark.(14) 2,5 yıldan daha az bir süre önce CH teşhisi konulan hastalarda, pankreatik antikorların prevalansını %25 olarak göstermiştir. Bununla beraber, CH tanısını aldıktan 2,5 yıldan daha uzun süre geçirmiş olan hastalarda pankreatik antikorların insidansı %46 olarak saptanmıştır.

Önceki raporlar insan O negatif pankreatik dokuyu bir substrat olarak kullanmıştır. Primat kökenli pankreatik doku substrat olarak kullanılabilir. Seibold ve ark(13). sıçan ve fareden elde edilen pankreatik dokuyu insan dokusu ile karşılaştırarak endokrin organ dokularının türe özgül olduğunu göstermiştir. Biri pankreatik antikorların tanımlanması için insan ve primat dokuları kullanılır.

Bu test pankreatik antikorların Crohn's hastalığının spesifik altgruplarını tanımlama yeteneğine sahip olduğunda yararlı olabilmektedir veya Crohn's hastalığı için laboratuvar tanısının konulma oranını artıracaktır (15).

OmpC antikorları, OmpC Escheria coli'den saflaştırılan bir dış membran porin antijendir. E coli protein biyokimyasal ve genetik olarak dış membran porin OmpC olarak tanımlanmıştır (2).

İnsan serumu ile yapılan ELİSA çalışmalarında ÜK hastaları ile sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında artmış IgG anti-OmpC varlığı tanımlanmıştır. Crohn's hastalığı olan 151 bireyde, OmpC'ye IgA yanıtı %55 bulunmuş, ASCA seropozitifde 556 olguda ise p ANCA testi %24 oranında pozitif saptanmıştır (2,4).

Anaerobik cocci için coccoid aglütinasyon testi; CH olan hastaların dışkı örneklerinden izole edilen anaerobik bakteri sayesinde serum aglütinasyon testi geliştirilmiştir. Benzer aglütinasyon testlerinin kullanımı da rapor edilmiştir. Aglütinasyon antikorları CH olgularında %58i oranında çok yüksek özgüllükte saptanmıştır (2).

Linskens ve ark. (16) yaptıkları aglütinasyon tes-

tinde çeşitli Gram-pozitif anaerobik coccoid rod çeşitli suşları kullanmıştır. Coccoid rod aglütinasyon antikorları çoğunlukla IgG izotipindedir, fakat daha az sıklıkla IgM izotipi de gösterilmiştir. Test protokolünde bir slayt üzerine iki damla hasta serumu ile bir damla bakteri süspansiyonu karıştırılarak hareketli platform üzerine yerleştirilir. Sonuçlar iki gözlemci tarafından 5 dakika sonra okunur. Titrele fizyolojik tuz ile (%0,85) ile serumun çift dilüsyonu ile tanımlanır. CH için sensitivitenin %52 ve spesifitenin %90 olduğunu bildirilmiştir.

İntestinal goblet hücrelerine karşı antikorlar, ülseratif kolit de bulunmuştur. Bu antikor hastaların % 28'inde saptanmıştır. Uygun primatlardan fetal barsak doku kullanılarak indirekt immünoresans yöntemi ile antikor pozitifliği bulunmuştur. Barsağın bütün bölümleri uygun substrattır. Kemirici dokuları substrat olarak kullanılmamaktadır. Goblet hücre antikorları daima IgA ve IgG sınıfı immünglobülinlerdir (IgA % 18, IgA ve IgG % 69, IgG % 23). Pankreas ve goblet hücre antikorları, organa özgül olmaları ve hastalıkla olan ilişkisinden dolayı anlamlıdır. Yüksek serum konsantrasyonu sıklığı kadar otoimmün hastalıklarda diğer otoantikorların benzer şiddeti de tanımlanır. Her iki antikor, ÜK'de intestinal goblet hücrelerine karşı ve CH'da pankreasın ürettiği sekresyona karşı direkt olan patojenik olarak ilişkili otoimmünite muhtemelen gösterir (14,17).

Ayrıca İBH'da serolojik belirteç olarak çeşitli antikorlarla ilgili çalışmalar yapılmıştır. Ör. PAb, p-ANCA, ASCA, intestinal goblet hücre antikorları, ekstre edilen nükleer antijenlere karşı antikorlar veya antinükleer antikorlar(18)la bu antikorlar yalnızca CH veya ÜK de onların sağlıklı birinci derece yakın akrabalarında da gösterilmiştir. Bu kişilerde İBD gelişme riski yüksek olduğu düşünülmüştür. Daha sonraki bulgular bazı antikorların ör. Goblet hücre antikorlarının anlamlı olarak pozitifliğini bildirmişlerdir.

İBH'da antikorların saptanması hastalarda tanı konulması için büyük anlam taşımaktadır. İBH'da

otoantikorların rolü çevresel antijenlerin gösterdikleri olası moleküler benzerlik mekanizmaları ve genetik yatkınlık gibi faktörlerin hastalık aktivitesi ve alt tipleri ile ilişkileri konularında yapılacak çalışmalar hakkındaki bilimizi artıracaktır.

KAYNAKLAR

1. Conrad K, Schöbler W, Hiepe F, Fritzler M. Autoantibodies in systemic autoimmune diseases. A diagnostic reference. 2002; vol.2
2. Nakamura R M, Matsutani M, Barry M. Advances in clinical laboratory tests for inflammatory bowel disease. Clinica Chimica Acta 2003; 335: 9-20
3. Török H P, Folwaczny C. Pancreatic autoantibodies in Crohn's disease: a feasible diagnostic tool? . Eur. J Gastroenterology&Hepatology 2005; 17: 37-39
4. Bossuyt X . Serologic marker in inflammatory bowel disease. Clinical Chemistry. 2006; 52:2, 171-181
5. Oksman F, Chevailler A. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): Detection methods, main antigenic targets and related diseases. GEAI info 1999;3-7
6. Rutgeerts P, Vermeire S. Serological diagnosis of inflammatory bowel disease. Lancet 2000; 356(23/30): 2117-2118
7. Quinton J-F, Sendid B, Reumaux B, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, Charrier G, Targan SR, Colombel J-F, Poulain D. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. Gut 1998; 42: 788-791
8. Hoffenberg E J, Fidanza S, Sauaia A. Serologic testing for inflammatory bowel disease. J Pediatr 1999; 134:447-452
9. Onuk MD, Kaymakoglu S, Odabaş AR, Gürel-Polat N, Yassıkaya B, Çetinkaya R. İnflamatuvar barsak hastalıklarında antinötrofil sitoplazmik antikor (p-ANCA) sıklığı ve klinik önemi. T Klin Gastroenterohepatol 2001; 12: 177-180
10. Kılıç ZMY, Tunç B, Ayaz S, Filik L, Aktaş S, Parlak E, Ülker A. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in inflammatory bowel disease. Turk J Gastroenterol 2004; 15(4):238-242
11. Barta Z, Csi po I, Szabo GG, Szegedi G. Seroreactivity against Saccharomyces cerevisiae in patients with Crohn's disease and celiac disease. World J Gastroenterol 2003; 9(10): 2308-2312
12. Müller-Ladner U, Schölmerich J. Pancreatic autoantibodies in Crohn's disease. Eur. J Clinical Investigation 1999; 29: 46-47
13. Seibold F, Mörk H, Tanza S, Müller A, Holzhüter C, Weber P, Scheurlen M. Pancreatic autoantibodies in Crohn's disease: a family study. Gut 1997; 40: 481-484
14. Stöcker W, Otte M, Ulrich S, Normann D, Finkbeiner

H, Stöcker K, Jantschek G, Scriba P C. Autoimmunity to pancreatic juice in Crohn's disease. Result of an autoantibody screening in patients with chronic inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1987; 22(suppl 139): 41-52

15. Klebl F H, Bataille F, Huy C, Hofstadter F, Schölmerich J, Rogler G. Association of antibodies to exocrine pancreas with subtypes of Crohn's disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 73-77

16. Linskens RK, Mallant-Hent RC, Groothuisink A, Bakker-Jonges LE, van de Merwe JP. Et al. Evaluation of serological markers to differentiate between ulcerative colitis and Crohn's disease: pANCA, ASCA and agglutinating antibodies to anaerobic coccoid rods. *Eur. J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 1013-1017

17. Lawrance I C, Hall A, Leong R, Pearce C, Murray K. A comparative study of goblet cell and pancreatic exocrine autoantibodies combined with ASCA and pANCA in Chinese and Caucasian patients with IBD. *Inflamm. Bowel Dis.* 2005; 11: 890-897

18. Atzeni F, Ardizzone S, Sarzi-Puttini P, Colombo E, Maconi G, De Portu S, Carrabba M, Bianchi-Por G. Autoantibody profile during short-term infliximab treatment for Crohn's Disease: A prospective cohort study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005; 22(5): 453-461.