

Araştırma:

Otoimmün hastalıklarda antinötrofil sitoplazmik antikorların araştırılması

Mehmet Özdemir, Bahadır Feyzioğlu, Nadire Seval Gündem, Mahmut Baykan, Bülent Baysal
Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya

Amaç: Antinötrofil sitoplazmik antikorlar, monositlerin lizozomları ve nötrofillerin sitoplazmik granüllerinde bulunan antijenlere karşı oluşan otoantikorlardır. Özellikle Wegener granülomatozis olmak üzere pek çok sistemik vaskülitte tanı değeri olan değerli bir prognostik belirteçtir. Çalışmada 2009 yılında otoimmün hastalık ön tanısı alan hastaların ANCA test sonuçlarının retrospektif olarak irdelenmesi amaçlanmıştır. **Yöntem:** Bu çalışmada hastanemizde 2009 yılında otoimmün hastalık ön tanısıyla Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen 1040 hastanın serum örneklerinde antinötrofil sitoplazmik antikorlar indirekt immunfloresans yöntemi ile incelenmiş, hedef antijenleri ve nötrofillerde oluşturdukları paternlere göre sitoplazmik (cANCA) veya perinükleer (pANCA) varlığı kalitatif olarak belirlenmiştir. **Bulgular:** Toplam 1040 hastanın 44'ünde (% 4,2) antinötrofil sitoplazmik antikorlar pozitif olarak bulunmuştur. Bunlar içinde 34'ü (% 3,2) pANCA, 10'u (% 1,0) cANCA'dır. Bu 44 hastanın 10'u (% 22,7) kronik akciğer hastalığı, 5'i (% 11,3) bağ dokusu hastalığı, 5'i (% 11,3) artrit, 5'i (% 11,3) sistemik hastalıklar, 4'ü (% 9,09) romatoid artrit, 4'ü (% 9,09) vaskülit, 4'ü (% 9,09) iridosiklit, 2'si (% 4,5) sistemik lupus eritematosus (SLE), 2'si (% 4,5) mikroskopik polianjitis, 2'si (% 4,5) ülseratif kolit, 1'i (% 2,2) lokalize skleroderma tanısı almıştır. **Sonuç:** ANCA pozitifliğinin özellikle vaskülitler başta olmak üzere otoimmün hastalıklarda tanı açısından önemli bir yeri vardır. ANCA tayini klinik tanıya yardımcı olarak araştırılması gereken önemli bir otoantikordur. Elde ettiğimiz veriler, hastanemizde ANCA testlerinin maliyet etkin kullanım politikalarının gözden geçirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Antinötrofil sitoplazmik antikor, otoimmün hastalık, Wegener granülomatozis

The investigation of anti neutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune disease

Objective: Anti neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) are autoantibodies directed against lisosomes of monocytes and antigens present in the cytoplasmic granules of neutrophils. ANCA is a prognostic marker which is typically found in many forms of systemic vasculitis especially Wegener's granulomatosis. This study was aimed to evaluate retrospective analysis of test results for ANCA in patients presumptive diagnosed with autoimmune disease during the year of 2009. **Methods:** In this study, 1040 blood sera were collected from patients presumptive diagnosed as autoimmune disease. Sera were tested for anti neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) with indirect immunofluorescence assay method. ANCA was determined according to their target antigens and indirect immunofluorescence (IIF) patterns that produce on normal neutrophils and assessed qualitatively. **Results:** 44 (4.2%) of 1040 patients were ANCA positive. Out of 44 patients, 34 (3.2%) of ANCA patients were pANCA positive and 10 (1.0%) were cANCA positive. 10 (22.7%) patients have chronic lung disease, 5 (11.3%) have connective tissue disease, 5 (11.3%) have arthritis, 5 (11,3%) have systemic diseases, 4 (9.09%) have vasculitis, 4 (9.09%) have rheumatoid arthritis, 4 (9.09%) have iridocyclitis. 2 (4.5%) patients were diagnosed systemic lupus erythematosus (SLE), 2 (4.5%) have microscopic polyangiitis, 2 (4.5%) have ulcerative colitis and 1 (2.2%) patient has localized scleroderma. **Conclusion:** As the results indicate, the positivity of ANCA in autoimmune disease has important clinical significance. ANCA assays are important in the diagnosis and prognosis of many autoimmune disease especially vasculitis. Our results suggest that cost-effective use of ANCA tests should be reviewed in our hospital.

Keywords: Antineutrophil cytoplasmic antibodies, autoimmune disease, Wegener granulomatosis

Genel Tıp Derg 2012;22(1): 1-5

Gönderim tarihi: 08.06.2011

Kabul tarihi: 28.02.2012

E-posta: mehmetozdem@yahoo.com

Yazışma adresi: Dr.Mehmet Özdemir, Necmettin Erbakan
Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
42080, Meram/Konya

Antinötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA) ağırlıklı olarak IgG tabiatında olup monositlerin ve özellikle nötrofillerin sitoplazmik granüllerine karşı gelişen otoantikorlardır. Antijenik hedef olarak miyeloperoksidaz (MPO) ve proteinaz-3 (PR3) seçilmiştir ve her ikisi de Wegener granulomatozu (WG), mikroskopik polianjiitis (MP), Churg-Strauss sendromu (CSS) gibi vaskülitler ile güçlü ilişkiye sahiptir (1). İlk kez Davies ve arkadaşları tarafından 1982'de segmental nekrotizan glomerulonefritli 8 hastada sitoplazmik antikorlar olarak tanımlanan (2) ve Ross River Virus'ün neden olduğu Epidemik poliartröz ile ilişkili olabileceği vurgulanan bu antikorlar, 1984 yılında Hall ve ark. (3) tarafından sistemik vaskülitli 4 hastada gösterilmiştir. WG'lu hastalar ile 1985 yılında Hollanda'da yapılan bir çalışmayla bu antikorların nötrofil ve monosit komponentlerine karşı oluştuğu ve WG'u için diagnostik olduğu belirtilmiştir (4). Antikorların sistemik vaskülit, idiyopatik nekrotit ve kresentik glomerulonefritli hastalarda, perinükleer farklı bir patern olarak tanımlanmasıyla ivme kazanan gelişmeler sonucunda (5), 1988 ve 1989 yıllarında sırasıyla perinükleer ve sitoplazmik paternler tanımlanmış, MPO ve PR3 antijenleri gösterilmiştir (6). Nihayetinde bu antikorlar 1989 yılında Hollanda'da düzenlenen ANCA çalışmayı ile ANCA olarak adlandırılmaya başlanmıştır (7).

İndirekt İmmünfloresan Yöntem (IFA) ve ELISA gibi yöntemler ile tespit edilebilen ANCA'ya dair zaman içerisinde yapılan çalışmalar daha geniş perspektif kazanmış ve bağ doku hastalıkları, enfeksiyonlar, neoplazmalar ve ilaçlar ile bu antikorlar arasında ilişki olduğuyla ilgili sonuçlar elde edilmiştir. Yakın zamanda ise patogenezi mekanizmalarını irdeleyen hayvan modeli çalışmalar ivme kazanmıştır. Bugün ANCA patogenezi ve hastalıklarla ilişkisinin belirlenmesi, tedaviyle önlenebilir hastalıklar açısından oldukça önemlidir (1).

Günümüzde serumda ANCA tespiti için IFA ve ELISA yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu testler ile tespit edilen ANCA sonuçları WG ve MP için yüksek spesifiteye sahipken, negatif ANCA sonucu pauci-immun nekrotizan glomerulonefrit ve kresentik glomerulonefritlerde yüksek negatif prediktif özelliğe sahiptir (8). MPO ve PR3 antijenlerini hedef alan ANCA'lar immunfluoresan görünüm olarak

sitoplazmik ve perinükleer paternler olarak izlenirken, bu paternler ve hedef aldıkları antijenler arasında bir ilişki söz konusudur. cANCA'da MPO ve PR3'e karşı antikor oluşurken, pANCA'da sadece MPO'a karşı gelişmiş antikorların varlığı söz konusudur (1). IFA ile ANCA tespiti, başta otoimmün hastalıklar olmak üzere yukarıda bahsi geçen daha birçok durumda yorumlanmakta ve rapor edilmektedir. Bununla birlikte ANCA varlığının hastalıklar ile ilişkisi ve IFA paternlerinin tanısal değerleri ile ilgili farklı literatür bilgileri de mevcuttur (9). ANCA pozitifliğinin otoimmün hastalıklarda tanı açısından önemli bir yeri vardır. Bu çalışma ile 2009 yılında vaskülit ön tanısı alan hastaların ANCA test sonuçlarının retrospektif olarak irdelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem

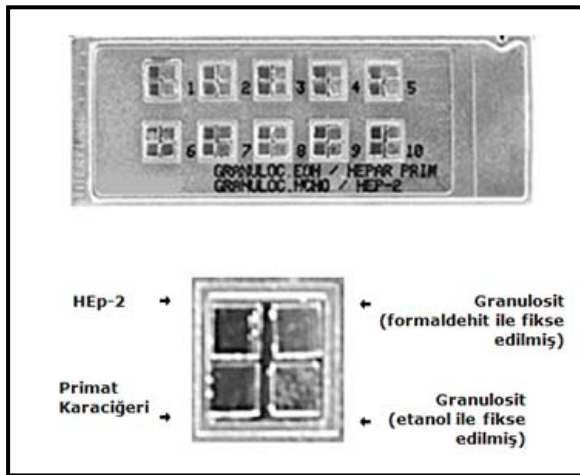
Bu çalışmada; 1 Ocak-31Aralık 2009 tarihleri arasında Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarına çalışılmak üzere gönderilen serum örneklerinden elde edilen sonuçlar retrospektif olarak irdelendi. Etiyolojisinde otoimmünite olabileceği düşünülen hastalara ait 1040 hasta serum örneği ANCA varlığı yönünden değerlendirildi. ANCA'nın tespiti için ticari IFA (Euroimmun, Lübeck, Almanya) kiti kullanıldı. Örnekler çalışmadan önce oda ısısına getirildi ve üretici firmanın uygulama prosedürlerine uygun şekilde çalışıldı.

Çalışmada, üzerinde 5 numunenin çalışılıp değerlendirildiği slaytlar kullanıldı. Bu slaytlarda her bir numune için; primat karaciğer hücreleri, Hep-2 hücreleri, etanol ile fiske edilmiş insan granulositleri ve formalin ile fiske edilmiş insan granulositlerinden oluşan katı faz sayesinde 4 farklı alan ile değerlendirme yapıldı. Bu alanlar ANCA'un yanı sıra Antinükleer Antikor (ANA) pozitifliğinin irdelenmesine de olanak tanıdı. Bu şekilde tüm alanlar iki antikoru birbirinden ayırımı ve paternlerin belirlenmesi açısından değerlendirildi. Hep-2 hücrelerinde floresan tutulumunun olmaması ile ANA varlığı dışlandı, hepatositlerdeki ANA pozitifliği ile sinüzoidlerde bulunan nötrofillerdeki ANCA pozitifliği bu antikorların ayırımı için kullanıldı. Etanol ile fiske edilmiş insan granulositleri kullanılarak cANCA veya pANCA ayırımı sağlandı.

Formaldehit ile fiks edilmiş nötrofiller ile pANCA formaldehit direnç durumu değerlendirildi. Çalışmada kullanılan ticari kitler üzerindeki test parametreleri için yerleşim Şekil’de gösterilmiştir.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen örneklerin alındığı hasta popülasyonunun yaş ortalaması 42,7 dir. Hastaların % 54,7’si kadın % 45,3’ü erkektir. Toplam 1040 hastanın 44’ünde (% 4,2) ANCA pozitif olarak bulunmuştur. Bunlar içinde 34’ü (% 3,2) pANCA, 10’u (% 1,0) cANCA’dır. Pozitif bulunan 44 hastanın 10’u (% 22,7) kronik akciğer hastalığı, 5’i (% 11,4) bağ dokusu hastalığı, 5’i (% 11,4) artrit, 5’i (% 11,4) sistemik hastalıklar, 4’ü (% 9,1) RA, 4’ü (% 9,1) vaskülit, 4’ü (% 9,1) iridosiklit, 2’si (% 4,5) SLE, 2’si (% 4,5) MP, 2’si (% 4,5) ÜK, 1’i (% 2,2) lokalize skleroderma tanısı almıştır (Tablo).



Şekil. Test parametrelerinin yerleşim düzeni

Tablo. Hastalık tanılarına göre ANCA dağılımı

	pANCA	cANCA	Toplam
Kronik akciğer hastalığı	10	-	10
Bağ dokusu hastalığı	5	-	5
Tanımlanamayan artrit	3	2	5
Sistemik hastalıklar	3	2	5
Romatoid artrit	4	-	4
Vaskülit	-	4	4
İridosiklit	4	-	4
Sistemik lupus eritematosus	2	-	2
Mikroskopik polianjitis	-	2	2
Ülseratif kolit	2	-	2
Lokalize skleroderma	1	-	1
Toplam	34	10	44

Tartışma ve sonuç

ANCA, lökositlerin sitoplazmik granüllerindeki proteinleri hedef alan otoantikorlardır. Özellikle WP ve MP tanısında oldukça duyarlı ve özgün göstergelerdir. Başlıca hedef antijenin proteinaz-3 olduğu cANCA özellikle WP için tipik iken, hedef antijenin myeloperoksidaz olduğu pANCA MP ve CSS’nda ön plana çıkar (10). Roozendaal ve ark yaptıkları çalışmada, IFA yöntemi ile otoimmün hepatitli hastaların % 74’ünde, primer biliyer sirozlu hastaların % 26’sında, primer sklerozan kolanjitli hastaların % 60’ında ANCA tespit edilmiştir. IFA yöntemi ile saptanan ANCA, otoimmün hepatitlerde oluşan relapslarla, primer biliyer siroz ve primer sklerozan kolanjitte karaciğerin azalmış sentez fonksiyonlarıyla ve primer sklerozan kolanjitte artmış kolestazla ilişkilidir (11).

ANCA, inflamatuvar barsak hastalarında da önemli bir yere sahiptir. Kılıç ve ark.’nın yaptıkları çalışmada (12) pANCA, ÜK’li olguların % 65’inde, sağlıklı bireylerin % 2,5’inde pozitif bulunmuştur. ANCA’ların test edilmesinin, hem bağ doku hastalığının hem de vaskülitin ayırıcı tanısında hastaların başlangıçtaki tanısal değerlendirmesinde büyük önemi vardır. Vaskülit tanısında ANCA testlerinin spesifikliğin belirlenmesi önemlidir çünkü biyopsi yapılması ve potansiyel olarak toksik immünsüpresif tedavi başlanması kararı bu testlerin sonuçlarına göre verilmektedir. Merkel ve ark. yaptıkları çalışmada 5 yıl boyunca takip edilen çeşitli bağ doku hastalığı olan hastalarda ANCA prevalansını değerlendirmişlerdir. cANCA, bu hastaların hiçbirinde saptanmamışken, pANCA SLE’li hastaların % 31’inde pozitif bulunmuştur (13). Çalışmamızda ise ANCA pozitif olarak bulunan 44 hastanın 2’si SLE tanısıyla izlenmektedir.

Kronik ve sistemik bir inflamatuvar hastalık olan RA, kırıkda erozyonu, kemikte hasar ve eklemlerin fibröz ankilozuna neden olabilen kronik bir sinovit ile karakterizedir (14). RA’lı hastalarda ANCA, nötrofillerin sitoplazmik antijenlerine, özellikle laktoferin (LF) ve henüz tam olarak tanımlanmamış polipeptidlere karşı gelişmiştir. Antikorlar hastalık için spesifik bir gösterge olmamakla birlikte, büyük olasılıkla kronik inflamasyonun bir sonucu olduğu düşünülmektedir (15). Bandt ve ark yaptıkları çalışmada (16) RA’lı hastaların % 32’sinde IFA yöntemiyle pANCA veya atipik ANCA pozitif olarak

bulmuşlardır. Bu çalışmada, Romatoid vaskülitli hastaların % 29'u, uzun zamandır devam eden RA'lı hastaların % 48'i ve yeni başlayan RA'lı hastaların % 20'sinde ANCA pozitif olarak belirtilmiştir. Çalışmamızda, ANCA pozitif olarak bulunan 44 olgunun 4'ü RA tanısıyla izlenmektedir.

ANCA'nın vaskülit patogenezinde önemli bir rolü olduğuna dair bilgiler mevcuttur (17). Vaskülit kan damarlarında immunolojik veya inflamatuvar mekanizmalara bağlı gelişen hasar sonucunda ortaya çıkan bir hastalık grubudur. Klinik tablo, tutulan damarın çapı, damarın lokalizasyonu ve inflamasyonun genişliğine bağlı olarak farklılıklar gösterir. ANA ve Romatoid faktör (RF) olguların bir kısmında pozitifdir ancak özgünlükleri düşüktür. ANCA pozitifliği genellikle orta ve büyük damarların vaskülitlerinde saptanır ve tanısal değeri oldukça yüksek olarak bildirilmiştir (18).

ANCA ile ilişkili vaskülitler, nötrofil granüllerine karşı oldukça spesifik patojenik immün yanıt ve inflamatuvar olay arasındaki etkileşim sonucu oluşan ve doku hasarında immün sistemin aracılık ettiği kompleks hastalıklardır. Klinik uygulamalarda, ANCA pozitifliği, ANCA ile ilişkili vaskülitlerin bir formunun var olma olasılığını artırmaktadır. Psöriasisteki vaskülitlerin çok az bir kısmı literatürde bildirilmiştir; çoğu olgu püstüler psöriasis ile ilişkilidir ve en yaygın etiyoloji ilaçlardır (19). Pozitif p-ANCA, nadir vaskülit belirtisi olan psöriasisli hastaların % 8'inde belirlenmiştir (20). Çalışmamızda, vaskülit tanısıyla izlenen 4 hastada ANCA pozitif bulunmuş, psöriatik vaskülitli olan hastaya rastlanmamıştır.

Polat ve ark. (17) Behçet hastalarında daha önce bazı vakalarda pozitifliği bildirilen ANCA'nın varlığını araştırmışlardır. Bu çalışma grubundaki tüm hastalarda serum cANCA ve pANCA negatif bulunmuştur. Behçet hastalarında daha önce yapılan bir çalışmada da (17) ANCA'nın negatif bulunması, ANCA pozitif Behçet hastalarında tesadüfi birlikteliği veya başka bir vaskülitik durumun varlığını düşündürmektedir. Behçet hastalığının patogenezi kesin olarak bilinmemekle birlikte çeşitli immünolojik anormallikler ve otoimmüniteye eğilim artışından söz edilebilir. Günümüzde Behçet otoinflamatuvar hastalıklar grubuna dahil edilmektedir. Bu nedenle Behçet hastalarında gelişen vaskülitin temelinde suçlanan nötrofil göçünün

artması ile ANCA pozitifleşmesi beklenebilir. İlhan ve ark. (21) yaptıkları çalışmada Behçetli hastalarda otoimmüniteye eğilim lehinde düz kas antikor ASMA pozitifliği dışında herhangi bir otoantikor saptamamışlardır. Çalışmamızda ise ANCA pozitif olarak saptanan 44 hastanın hiçbirisi Behçet tanısı almamıştır. ANCA, sistemik vaskülitlerden başka çeşitli hastalıklarda da tanımlanmıştır. Örneğin ÜK'de sıklıkla pANCA pozitifliğine rastlanmaktadır (22). Çalışmamızda, ÜK'li 2 hastada pANCA pozitifdir. Kronik akciğer hastalığı gibi diğer non-spesifik hastalık tablolarında da pozitif sonuç elde edilmiştir.

ANCA, başta vaskülitler olmak üzere pek çok hastalıkta aranması gereken prognostik bir belirleyicilerdir. Çok sayıda farklı hastalık grubunda tespit ettiğimiz ANCA'nın otoimmün hastalıkların pek çoğunun hem tanısında hem de izleminde rutin olarak izlenmesi gereken bir gösterge olduğu kanısına varılmıştır. Öte yandan, elde ettiğimiz veriler, vaskülit ön tanısı almış hastalardan destekleyici laboratuvar tetkiki olarak istenen ANCA testleri sonucunda % 0,4 oranında vaskülit tanısını desteklemektedir. Bu durum hastanemiz açısından ANCA testlerinin maliyet etkin kullanım politikalarının gözden geçirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Kaynaklar

1. Bosch X, Guilabert A, Font J. Antineutrophil cytoplasmic antibodies. Lancet 2006;368:404-18.
2. Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB. Segmental necrotizing glomerulonephritis with anti neutrophil antibody: possible arbovirus aetiology. Br Med J 1982;285:606.
3. Hall JB, Wadham BM, Wood CJ, Ashton V, Adam WR. Vasculitis and glomerulonephritis: A subgroup with an antineutrophil cytoplasmic antibody. Aust N Z J Med 1984;14:277-8.
4. Van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, van Es LA et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. Lancet. 1985;1:425-9.
5. Falk RJ, Jennette JC. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. N Engl J Med 1988;318:1651-57.
6. Niles JL, McCluskey RT, Ahmad MF, Arnaout MA. Wegener's granulomatosis autoantigen is a novel neutrophil serine proteinase. Blood 1989;74:1888-93

7. Jennette JC, Hoidal JR, Falk RJ. Specificity of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies for proteinase 3. *Blood* 1990;75:2263-4.
8. Jennette JC, Wilkman AS, Falk RJ. Diagnostic predictive value of ANCA serology. *Kidney Int* 1998;53:796-8.
9. Kallenberg CG. Pathogenesis of PR3-ANCA associated vasculitis. *J Autoimmun* 2008;30:29-36.
10. Güllülü M, Dalkılıç E, Ersoy A, Aslanhan İ, Yavuz M, Güçer P, et al. Renal vaskülitli olgularımızın değerlendirilmesi. *Türk Neph Dial Transp* 2001;10:158-61.
11. Roozendaal C, Jong MA, Van den Berg AP, Van Wijk RT, Limburg PC. Clinical significance of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in autoimmune liver diseases. *J Hepatol* 2000;32:734-41.
12. Kılıç ZMY, Tunç B, Ayaz S, Filik S, Aktaş S. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in inflammatory bowel diseases. *Türk J Gastroenterol* 2004;15: 238-42.
13. Merkel PA, Polisson RP, Chang Y, Skates SJ, Niles JL. Prevalence of antineutrophil cytoplasmic antibodies in a large inception cohort of patients with connective tissue disease. *Ann Intern Med* 1997;126:866-73.
14. Özoran K, Tulek N, Düzgün N. Romatoid artrit (ra) ve sitokinler: İnterlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6), tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve interferon gama (IFN- γ). *Ankara Tıp Mecmuası* 1994;47:495-504.
15. Mulder AHL, Horst G, Van Leeuwen MA, Limburg PC, Kallenberg CGM. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in rheumatoid arthritis characterization and clinical correlations. *Arthritis Rheum* 1993;36:1054-60.
16. De Bandt M, Meyer O, Haim T, Kahn MF. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in rheumatoid arthritis patients. *Br J Rheumatol* 1996;35:38-43.
17. Polat MU, Vahaboğlu G, Ekşioğlu M, Önde U. Behçet hastalarında serum anti-nötrofil sitoplazmik antikor varlığının araştırılması. *Düzce Tıp Fakültesi Derg* 2005;1:15-8.
18. Ersoy R, Gül K, Dirikoç A, Topaloğlu O, Aydın C, Kuru M, et al. Tirotoksikoz ve perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikorla (p-ANCA) ilişkili vaskülit: Olgu sunumu. *Türk Tıp Derg* 2007;1: 159-162.
19. Chewoolkar V, Bichile LS, Jain N, Raj P. Psoriatic arthritis with ANCA-positive vasculitis: A rare association. *Int J Rheum Dis* 2008;11:192-4.
20. Quarenghi MI, Del Vecchio L, Casartelli D, Manunta P, Rossi R. MPO antibody-positive vasculitis in a patient with psoriatic arthritis and gold induced membranous. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:2104-6.
21. İlhan F, Coşkun BK. Behçet hastalarında otoantikörlerin araştırılması. *Fırat Tıp Derg* 2006;11: 30-2.
22. Röther E, Metzger D, Lang B, Melchers H, Peter H. Anti-neutrophil cytoplasm antibodies (ANCA) in rheumatoid arthritis: relationship to HLA-DR phenotypes, rheumatoid factor, anti-nuclear antibodies and disease severity. *Rheumatol Int* 1994;14:155-61.