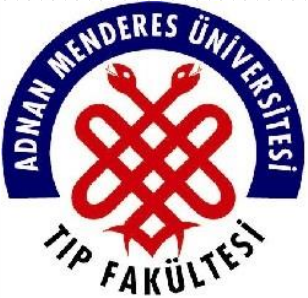


Otoantikolar ve Potansiyel Biyomarkerlar

Doç. Dr. Songül Çildağ

**Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
İmmünoloji-Romatoloji Bilim Dalı**



Sunum planı

- B hücre aktivitesi ve klonal ekspansiyon
- Otoantikorlar
- Yeni otoantikorlar
- Tükürük biyobelirteçleri

Sjögren Sendromu-B hücre hiperaktivitesi

Tükürük bezlerinde, CXCL13'ün anormal üretiminden kaynaklanan B hücre infiltrasyonu- fokal lenfositik infiltrasyon

B hücre hiperaktivitesi;

SjS patogenezi ile sıkı bir şekilde bağlantılı

İnflamasyonun alevlenmesi ve kronikleşmesinde kritik rol

Hipergamaglobulinemi

Otoantikörler;

anti-Ro/SSA

anti-La/SSB

RF en yaygın ve önemli serolojik bulgular

B hücre hiperaktivitesi

- **CXCL13 ve reseptörü CXCR5;**

Daha yüksek odak skorları,
hücre infiltrasyonu ve

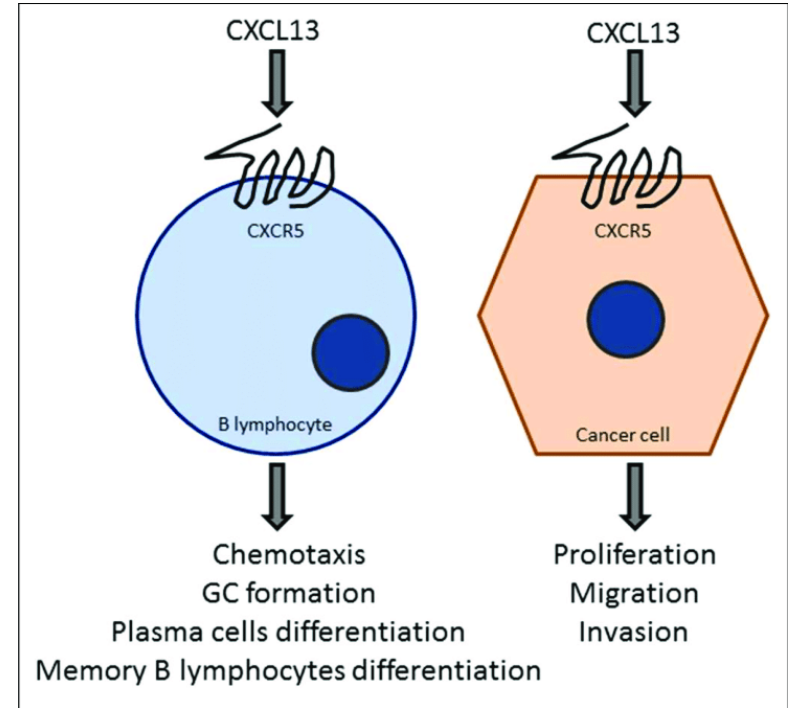
otoantikor üretimi ile ilişkili

CXCL13-BAFF sinerjistik

BAFF seviyesi-antikor seviyesi

TLR B h. yanıtı düzenlenmesi

Soluble serum CD40L artışı

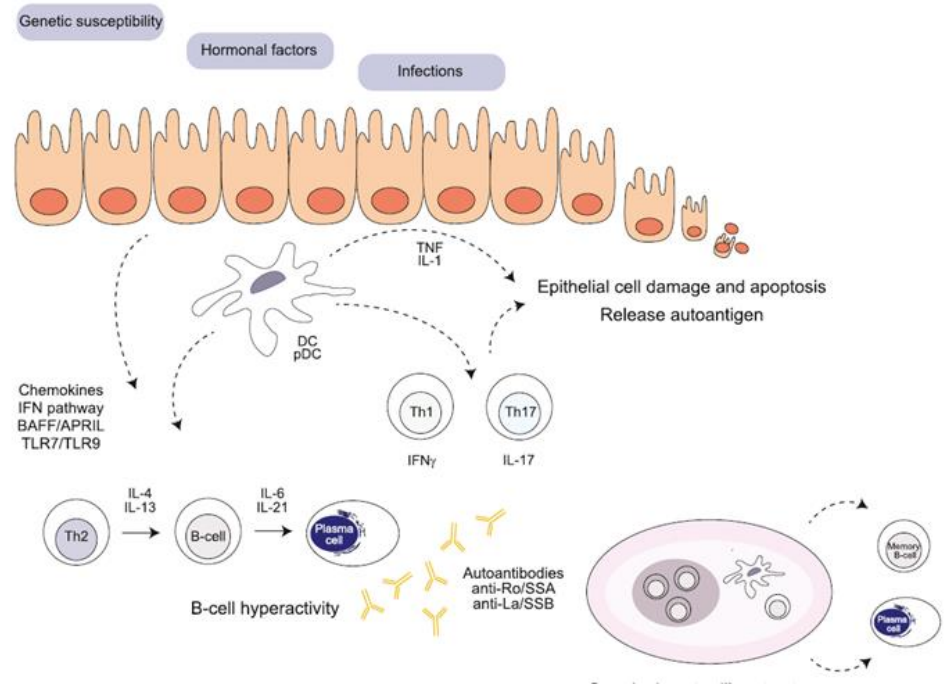


CXCL13 serum seviyeleri hastalık aktivitesi ilişkili biyomarker
Başlangıç yüksek serum CXCL13 serum seviyeleri Hodking dışı
lenfoma gelişimi ile ilişkili

B hücre hiperaktivitesi

- **IL-21 güçlü bir sitokin**

Plazma hücre farklılaşması için artmış sitokinler, Yüksek serum IL-21, Serum IgG ile, Anti-Ro/SSA antikor titresi ile ilişkili



B hücre hiperaktivitesi ve klonal ekspansiyon

- Potansiyel bir kronik antijenik uyarım riski, B hücrelerinin klonal genişlemesi ve lenfoma gelişimidir.
- Tükrük bezinde artmış B h. klonal ekspansiyon
- Ekzokrin bezlerde GC varlığı lenfoma için predispozan faktör
- Lenfoma gelişimi için diğer predispozan faktörler;
anti-Ro/SSA
anti-La/SSB
hipergammaglobulinemi
kryoglobulinemi
düşük C4 ve C3
lökopeni

Otoantikolar

- Diğer otoimmün hastalıklarda olduğu gibi, antikoların çoğu, hastalığın klinik belirtisinden önce mevcut
- Hastaların %81'de 18-20 yıl öncesinde ANA, RF, anti-Ro/SSA, anti-La/SSB (en yaygın)
Tanı için ortalama 4,3-5,1 yıl önce otoantikör (+)

(Theander, 2015)

<40 yaşından önce tanı konan hastalarda, tanı öncesi otoantikör prevalansı daha yüksek

Antinükleer antikörler

- **>%80 pSjS**

Extraglandüler bulgular

Hipergamaglobulinemi

Artmış anti-ENA ilişkili

En yaygın anti-ENA;

anti-Ro/SSA (%33-74) (%77-90)

anti-La/SSB (%23-52)

anti-Ro/SSA+ anti-La/SSB~%50

Prediktif otoantikorlar

- **Neonatal lupus (AntiRo/La)**

Anti-Ro+ gebelerin %1-2 konjenital kalp blođu dahil komplikasyon

-11 anti-Ro/La+ anne takibinde 8 annede ort 5 yılda kuru göz

-52 anneden 23 doğum anında asemptomatik ve 23 annenin 11 romatizmal bir hastalık geliştiği, ort. 3.7 yıl

Prediktif otoantikolar

- **Neonatal lupus (AntiRo/La)**

-ABD Ulusal Yenidođan Lupus Kaydı; en az 6 aylık takibi olan 229 annenin;

51 doğum sırasında asemptomatik

51 kiřiden 7 SjS, 4 SLE (SLE), 1 SLE+SjS ort 3,15 yıl

37 anne doğum sırasında bazı semptomlar var ve farklılaşmamış otoimmün sendrom olarak belirlenmiş-takipte 6 SjS, 4 SLE

10 yılda SjS gelişme riski %28 (ABD Ulusal kayıta)

Prediktif otoantikolar

- **Sjögren Sendromu (AntiRo/La)**

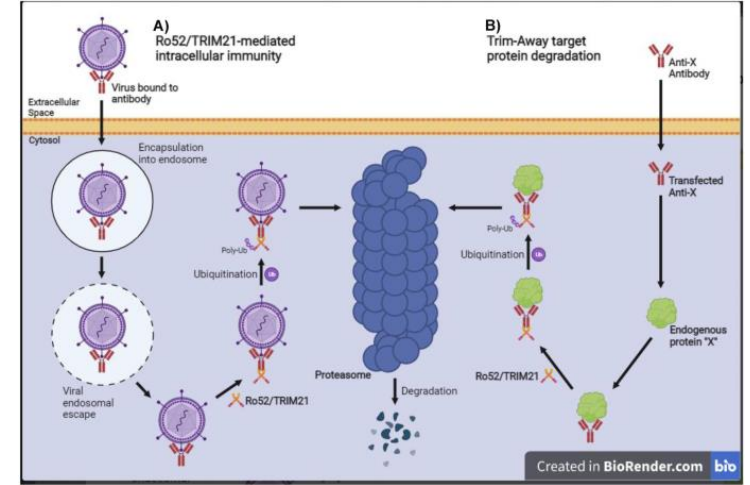
117 SjS; 88 seropozitif 84'ünde, hastalıktan 20 yıl öncesine kadar en az bir otoantikor mevcut

Sağlıklı bireylerde Anti-Ro/La varlığı gelecekte SjS geliştirme riski

anti-Ro/SSA - anti-La/SSB

Ro/SSA; iki polipeptid 52/60kDa
Ro-52 üçlü motifli proteinler içerisinde
(TRIM)

Ro-52=TRIM21



Ro52/TRIM21, viral enfeksiyon sırasında IFN tarafından indüklenir,
anti-proliferatif ve pro-apoptotik özellik

Otoantijenlerin erişilebilirliğinin artmasına ve otoantikor oluşumuna
neden olur

Klasifikasyon en değerli otoantikor Anti-Ro/SSA

anti-Ro60/SSA- anti-La/SSB

RNA bağlayıcı proteinler

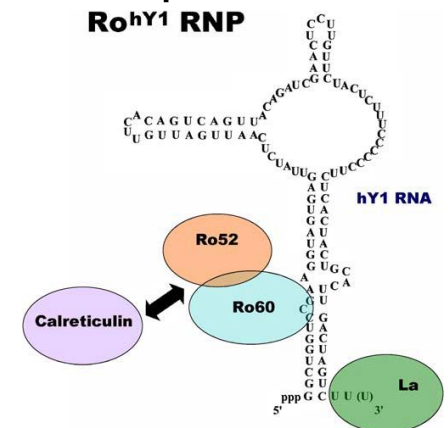
Ro60/SSA; Sitoplazma içinde kodlayıcı olmayan küçük RNA'ya (YRNA) bağlanarak UV takiben hücre içi hasar onarım mekanizmalarında rol alır

La proteini; bir RNA III polimeraz olarak işlev görür ve bazen fiziksel olarak Ro60-YRNA kompleksi ile ilişkilidir

Ro52 (TRIM21); aa dizisi açısından Ro60 ile ilgisizdir.

Ro52/TRIM21'in YRNA'ya bağlanması Ro60/SSA'nın varlığını gerektirdiğinden, Ro52/TRIM21 ve Ro60/SSA arasında protein düzeyinde olası bir etkileşim

pSjS; anti-Ro52 sıklıkla anti-Ro60 ile birlikte



anti-Ro60/SSA-anti-La/SSB

Erken başlangıç

Uzun hastalık süresi

Daha ciddi tükrük bezi lenfositik infiltrasyonu ve disfonksiyonu

Tekrarlayan parotis şişliği

Ekstra glandüler belirtilerin daha yüksek prevalansı (SM,LAP, vaskülit, R. Fenomeni, AC tutulumu hariç???)

Hipergamaglobulinemi

RF ilişkili

anti-Ro/SSA+anti-La/SSB (SLE'den ayırt edici), ciddi hastalık

anti-Ro60/SSA-anti-La/SSB

- Tek başına anti-La varlığı çok nadir/ SjS öngörmez
- Anti-Ro yokluğu glandüler SjS (sınırlı)
- Anti-Ro varlığı bronşektazi ile ilişkisiz
- Anti-Ro lenfoma ilişkisi tartışmalı

anti-Ro60/SSA anti-La/SSB

- Anti-Ro52/TRIM21, AntiRo60/SSA
Otoimmün hastalıklarda benzer oranda

Anti-Ro52/TRIM21; Miyozit ve daha nadir SSc

Anti-Ro60/SSA; SjS, SLE

Anti-Ro60 (+) ve anti-Ro52 (-) hastalarda en sık (%48,5) tanı SLE

Primer SjS; sıklıkla anti-Ro52/TRIM21 ve anti-Ro60/SSA birlikte pozitiflik

Seronegatif Sjs

ANA (+)

Anti-Ro/SSA veya anti-La/SSB'nin yokluğu

Yaygın ağrıya sahip iyi seyirli bir alt grubu, ancak daha düşük düzeyde B hücre ekspansiyonu ve daha düşük lenfoma riski

Table 1
The 2002 AECG, 2012 ACR and 2016 ACR/EULAR classification criteria for SS.

	2002 AECG Classification Criteria		2012 ACR Classification Criteria		2016 ACR-EULAR Classification Criteria	
	Item	Weight	Item	Weight	Item	Weight
Dryness	Ocular dryness symptoms	Minor				
	Oral dryness symptoms	Minor				
Ocular signs	Schirmer's test ≤ 5 mm/5 min OR van Bijsterveld score ≥ 4	Minor	Keratoconjunctivitis sicca with ocular staining score ≥ 3	1	Schirmer's test ≤ 5 mm/5 min	1
					Ocular staining score ≥ 5 or van Bijsterveld score ≥ 4	1
Salivary gland	Focus score ≥ 1 focus/4 mm ²	Major	Focus score ≥ 1 focus/4 mm ²	1	Focus score ≥ 1 focus/4 mm ²	3
	Unstimulated whole salivary flow ≤ 0.1 ml/min	Minor			Unstimulated whole salivary flow ≤ 0.1 ml/min	1
Autoantibodies	Anti-Ro/SSA or anti-La/SSB	Major	Anti-Ro/SSA or anti-La/SSB OR RF with ANA $\geq 1:320$	1	Anti-Ro/SSA	3
Rules for classification	4 out of 6 with ≥ 1 major, or 3 out of 4 objective items		$\geq 2/3$ criteria in a patient with suspected SS		Total score of ≥ 4 in a patient with sicca or ESSDAI ≥ 1	

Romatoid Faktör

%36-74 pSjS

Hastalığın erken evresi

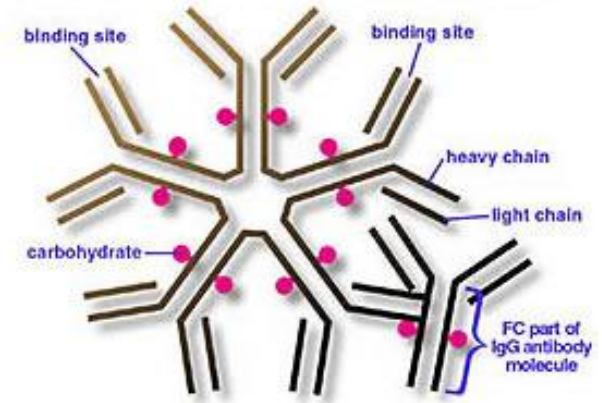
ANA ve anti-ENA antikoru,

Hipergamaglobulinemi,

Hipokomplementemi ilişkili

Sistemik hastalık-Artrit, kutanöz vaskülit ve İAH gibi ekstraplandüler belirtilerin sıklığında artış, öz. IgA RF için böbrek hastalığı ilişkili

Lenfoma gelişimi ile ilişkili ob



SjS için; önemli bir prognostik faktör

Anti-CCP

- SjS %3-10 anti-CCP+
- Artritle ilişkili
- Extraglanduler bulgularla ilişkili değil
- RA gelişme riski (OR:2,5)

RA gelişimi açısından yararlı bir biyomarker



Anti-centromer antikorlar (ACA)

- CENP-A, CENP-B, CENP-C otoantijenleri tanır
- CREST, CENP-B, CENP-C
- Primer SjS, CENP-C
- pSjS %3.7-27 (IIF), %20-25 (diğer methodlar)
- >1000 bağ doku hastalığı-ACA en yaygın ilişki
Raynaud fenomeni

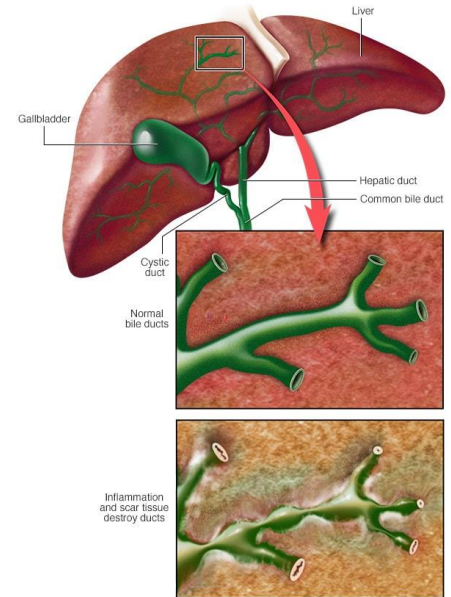


pSjS ve ACA

- Raynaud fenomeni
- Skleroderma benzeri klinik
- Primer biliyer siroz **daha sık**
- Daha yoğun glandular infiltrasyon
- Lenfoma için daha fazla risk
- Anti-SSA ve anti-SSB
- Lökopeni
- Hiperglobulinemi
- RF
- Eklem tutulumu **daha az sık**

Anti-Mitokondriyal Antikorlar

- %1.7-13
- **Primer biliyer kolanjit** karakteristik
Karaciğerin SjS=Tükürük bezinin PBK
- AMA+ KC hasarı, PBK gelişimi ilişkili



Kryoglobulinemi

- pSjS 1/3 bulunur
- %3-4 (%5-10) kryoglobulinemik hastalık bulgusu
- Kutanöz vaskülit
- Cilt ülserleri
- Periferik nöropati
- Pulmoner tutulum
- Renal tutulum
- Hastalık aktivitesi



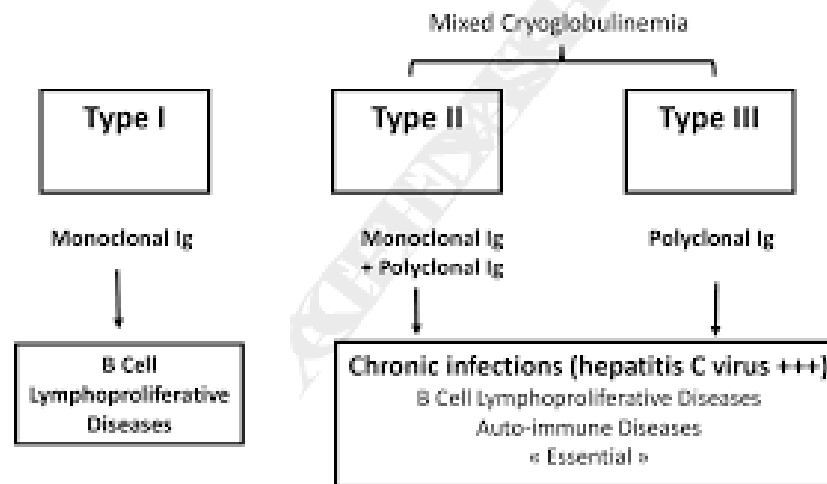
Figure 1 Characteristic macula numera on the skin of the

Kriyoglobulinemi yeni ekstraglandüler belirtilerin gelişimi için en öngörücü faktör

Kryoglobulinemi

- ~ SjS hastalarda, romatoid faktör aktivitesine sahip monoklonal immünoglobulin bileşenli **tip II mikst kriyoglobulinemi** bulunur

(g. immunoglobulin)



Kryoglobulinemi

- SjS kriyoglobulinemi 266 hastanın 18 yıllık takibi, Hodgkin dışı lenfoma ile 4x
- 661 hastadan oluşan çok merkezli bir çalışma, kriyoglobulin varlığının, Hodgkin dışı lenfoma için nispi riski 6.8, kriyoglobulinemi mortalite ilişkili

Kryoglobulinemi;

Extraglanduler bulgular

Lenfoma

Mortalite

Diğer otoantikolar

- anti-dNA
- anti-RNP
- anti-Sm
- anti-Scl70
- anti-Jo1
- atipik antikolar (anti-kardiyolipin,ANCA)

Bu otoantikorlardan birine sahip 82 hastanın 13'ünde (%16) SjS ek olarak başka bir otoimmün hastalık gelişimi

Primer SjS? Sekonder SjS?

Lenfoma gelişimi

- **RF ve kryoglobulin varlığı (birlikte)** lenfoma gelişimi ile ilişkili en önemli biyomarker

Tip 1 SjS (lenfoma açısından yüksek riskli)

Tip 2 SjS (lenfoma açısından daha benign)

(*Semin. Arthritis Rheum. 2000*)

- Serum **FMS-like tyrosine kinase-3 ligand** seviyeleri lenfoma gelişimi açısından biyomarker

(*Arthritis Rheum. 2010*)

- **TNFAIP3**'ün bir germ hattı ve kodlama polimorfizmi (rs2230926) otoimmünite ve lenfoma gelişimi ile ilişkili

(*Ann.Rheum. Dis. 2016*)

Yeni otoantikolar

anti SP-1, anti-CA6, anti-PSP	Erken hastalık, anti-Ro/SSA ve anti-La/SSB negatif
anti-NA14 (anti-SSNA1)	Primer SjS» Sekonder SjS, Kısa hastalık süresi
anti-cofilin-1, anti-alpha-enolase, anti- RGI2	MALT lenfoma
anti-AQ4	NMOSD
anti-mitochondrial	KC tutulumu
anti-centromere	Daha yüksek hastalık başlangıç yaşı, Raynaud F., daha düşük anti-Ro/SAA, anti-La/SSB prevalansı
Anti-carbonic anhydrase	RTA
Anti-IFI16	Şiddetli hastalık, daha yüksek fokus skoru, germinal merkez benzeri yapılar, yüksek titre ANA, anormal Schirmer testi, hiperglobulinemi
Anti-MDM2	Daha uzun hastalık süresi, daha yüksek hastalık aktivite indeksi (ESSDAI),hiperglobulinemi
Anti-NR2	Hafıza bozukluğu ve depresyon

Tükürük biyomarkerları

- β 2 mikroglobulin
- Laktoferrin
- Nötrofil jelatinaz ilişkili Lipocalin (NGAL)
- Solubl sialik asit bağlayan immünglobulin benzeri lektin (Siglec)-5
- Sitokinler
- Otoantikolar
- Kalprotektin
- Karbonik anhidraz-VI
- Adiponektin

Tükürük $\beta 2$ mikroglobulin ($\beta 2m$)

- T ve B lenfositleri de dahil antijen sunan hücrelerde eksprese edilen ve interferon tarafından düzenlenen MHC kompleks-I'in düşük moleküler ağırlıklı bir proteini
- pSjS belirgin artmış tükürük $\beta 2m$ (lenfosit aktivasyonu ve infiltrasyonu)

pSjS ayırt edici (sağlıklı ve nonsikka)
Hastalık aktivitesi göstergesi

Tükürük Laktoferrin

- Anti-mikrobiyal, salgılarda bulunan, lenfosit ekzotaksisinde yer alan demir bağlayıcı bir glikoprotein. Nötrofillerden yüzeyde eksprese edilen laktoferrinin salınımı, Th1 sitokin üretimini düzenler.
- pSS tükürük kanallarında güçlü laktoferrin boyaması, artmış laktoferrin konsantrasyonu

Tükürük laktoferrin yüksekliği;

tükürük bezlerinde lenfositik infiltrasyon

Biyobelirteç açısından özgüllüğü düşük

Tükürük Nötrofil jelatinaz ilişkili Lipocalin (NGAL)= lipocalin-2

- Lipokalin-2, yağ asitleri ve hormonlar dahil olmak üzere küçük ve hidrofobik molekülleri taşıyan lipokalinlerden biri. Enfeksiyon, DM, obezite ve kanser artmış seviyeler
 - pSjS, tükürük ve **glandlarda artmış**
- Tükürük bezinin asiner epitelindeki NGAL ekspresyonu sadece SjS'li hastalarda tespit edilmiş olup fokus skoru ile korele**

Tükürük Solubl sialik asit bağlayan immünglobulin benzeri lektin (Siglec)-5

Nötrofillerin, monositlerin ve makrofajların yüzeyinde eksprese edilen ve sitoplazmik kuyruğu, hücre aktivasyonunu inhibe eden immünoresseptör tirozin bazlı inhibitör motiflere sahip transmembran reseptörler

Otoimmün hastalıklarda ve enfeksiyonlara karşı defans

- pSjS, periferik kan mononükleer hücrelerde artmış düzey
- pSjS tükürük Siglec 5 artış;

Yüksek IgG, daha yüksek ağız kuruluğu ve oküler boyanma skoru, göz kuruluğu, daha düşük tükürük akış hızı, beyaz küre sayısı ile korele

Tükürükteki soluble Siglec-5 patolojik rolü iyi bilinmiyor

Tükürük sitokinleri

- IL17 ve IL23, tükürük bezlerinde pozitif boyanırken, tükürükte IL17 ve IL6 değişen seviyeler
- Tükürük ve serum IL17A, IL6, TNF- α ve IL10 seviyeleri yüksek ve tükürük IL17A ve IL6 seviyeleri nitrik oksit ile korele
- pSjS'li tükürükte çözünür L-selektin ve IL17 seviyeleri yüksek
- pSjS'li tükürük IL6 ve TNF- α seviyeleri daha yüksek, IL17A ve RF-IgA seviyeleri farklı değil

pSjS hastalarında tükürük IL-6 seviyeleri, ESH ve IgG seviyeleri ile, tükürük TNF- α seviyeleri IgG seviyeleri ile korele

Tükürük otoantikorları

- anti-histon,
anti-transglutaminaz,
anti-SSA, anti-SSB
- **anti-M3R**
 - pSS'de %55.8, genç yaş, kısa hastalık süresi, yüksek globulin seviyesi ile ilişkili
 - anti-M3R, tükürük akış hızı ile korele

Tükürük otoantikoları

pSjS'de dokuya özgü antikolar;

- Serum anti-CA-VI ve PSP antikoları pozitif
- Tükürük anti-CA-VI, SP-1 ve PSP antikoları, pSjS'li hastalarda daha yüksek
- Bu antikolar pSjS'li hastaların %40-67'de pozitif

Umut vaad edici serum biyobelirteçleri

Tükürük Calprotectin

- **S100 proteinleri;**

S100A8 (calgranulin A),

S100A9 (calgranulin B),

Calprotectin (S100A8/A9)

- Serum Calprotectin-anti Ro-anti La seviyeleri, yorgunluk şiddeti ölçeği ile korele
- Serum Calprotectin fokus skoru ile korele
- Tükürük S100 seviyeleri pSjS yüksek olup fokus skoru ile korele
- Tükürük seviyesi normal parotis salgısında Calprotectin yüksek
- Tükürük seviyeleri MALT lenfoma pSjS da lenfoma olmayan pSjS'a göre daha yüksek

Tükürük Karbonik Anhidraz-VI

- CA-VI; Çinko içeren mettalloenzim
Tükürük pH korunmasını sağlar
- SjS tükürükte seviyeleri daha düşük

pSjS'li hastalarda düşük tükürük CA-VI, asidik ağız boşluğundaki pH'ı azaltabilir, böylece çürük ve diğer enfeksiyonlar için elverişli ortam

Tükürük Adiponektin

- Tükürük adiponektin ve ADA, monositler makrofaj farklılaşmasında, B ve T lenfositlerinin gelişiminde rol oynar
- pSjS tükürüğünde yüksek seviyeler

Yüksek adiponektin ve ADA seviyeleri, lenfosit aktivasyonundan ve lenfositlerin tükürük bezine sızmasından kaynaklanabilir.

Ayrıca pSjS tükürük yüksek IL-1 β , IL-6 ve IL-8

-Tükürük adiponektin tükürük IFN- γ , IL-1, IL-8, TNF- α seviyeleri ile korele

- **Tükürük serbest hafif zincirleri**
- **Tükürük immünoglobulinleri**

Parametre	pSjS 78	SK 62	HK 76	p (pSjS ve SK)	p (pSjS ve HK)
Tükürük serbest K	3.9	3.29	3.06	.17	0.007
Tükürük serbest L	3.5	1.98	1.63	<.0001	<.0001
Serum serbest K	45.6	29.15	29.7	<.0001	.0002
Serum serbest L	36.6	19.89	24.5	<.0001	.021
Tükürük IgG	4.67	1.93	1.69	<.0001	<.0001
Tükürük IgA	15.87	15.23	16.59	>.99	>.99
Tükürük IgM	1.19	0.55	0.79	.002	.013
Serum IgG	19.04	14.43	13	<.0001	<.0001
Serum IgA	2.72	2.55	2.71	.06	.92
Serum IgM	0.97	1.36	1.05	.05	.94

HK: Hasta kontrol (NonSjS Sikka 14, RA 26, SLE 22)

SK: Sağlıklı kontrol

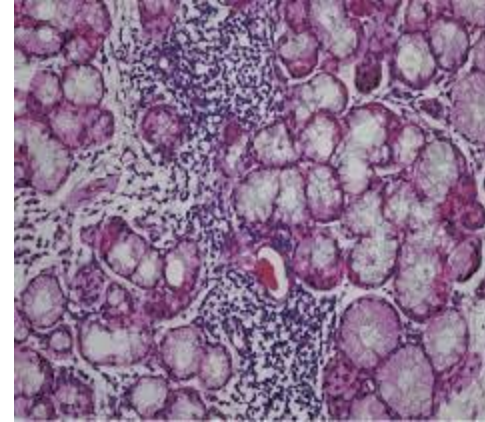
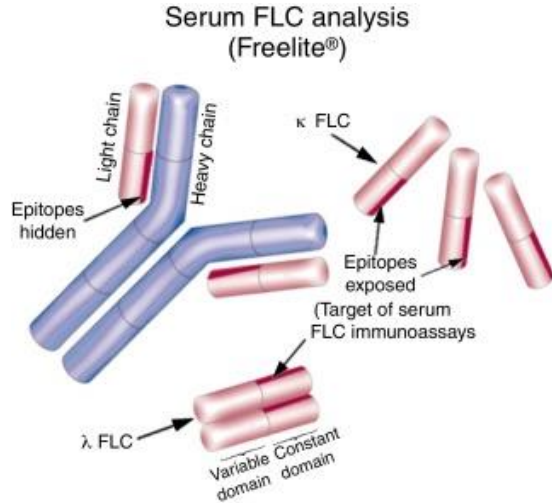
- **Tükürük serbest K;** Ağız kuruluğu ve göz kuruluğu ile korele
- **Tükürük serbest L ve tükürük IgG;** Kutanöz bulgular (hepsi vaskülit) ilişkili
- **Tükürük serbest hafif zincir ve tükürük IgG;** Ciddi hastalık ilişkili

- Serum serbest K, L, Ig' ler sikka semptomları ile korele değil
- Sadece serum serbest K ve L, ESSDAI indexi ile zayıf pozitif korele

- **Serum IgG ESSDAI ile en yüksek pozitif korelasyona sahip**
- **Anti-SSA ve anti-SSB pozitif hastalarda daha yüksek serum IgG, serum serbest K ve L**

- Tükürük serbest zincirler ve tükürük IgG'si, pozitif histopatoloji ile korele

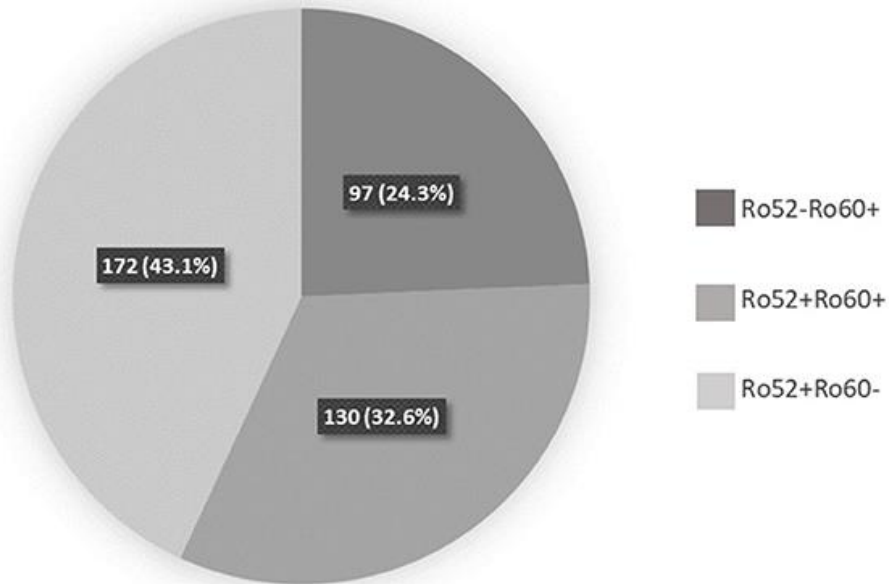
Potansiyel olarak ACR/EULAR sınıflandırma kriterlerinde minör tükürük bezi biyopsisinin yerini alabilir mi?



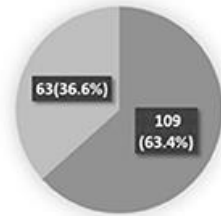


TEŞEKKÜRLER

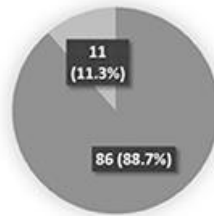
General population



Ro52+Ro60- patients



Ro52-Ro60+ patients



Ro52+Ro60+ patients

