Archive of SID

طراحی کیت آنتی‌بادی ضد فاکتور پری‌نوکلئر (APF) به روش ایمنوفلورسانس و ارزیابی آن در بیماران آرتریت روماتوئید

فرشیده عابدیان (M.Sc)* سید عبدالرحیم رضایی (M.Sc.)** حسن برادران (Ph.D.)**
مسعود ثقفی (M.D.)*** سید رضا مظلوم (M.Sc)****

چکیده

سابقه و هدف : آرتریت روماتویید از بیماری‌های روماتیسمی منتشر خود ایمن است. در این بیماری، اتو آنتی‌بادی‌هایی کشف شده‌اند که از نظر تشخیص و پیش‌آگهی با ارزش می‌باشند. یکی از این آنتی‌بادی‌ها، آنتی‌بادی ضد فاکتور پری‌نوکلئر است که با گرانول‌های کراتوهیالن سلول‌های مخاطی دهان واکنش می‌دهد. بنابراین ابتدا کیت APF-IFA را طراحی و سپس میزان آنتی بادی را در بیماران آرتریت روماتویید بررسی نمودیم.

مواد و روش ها : طراحی کیت شامل: ۱- شناسایی کننده‌های مناسب؛ ۲- آماده‌سازی سوبسترای آنتی‌ژنیک؛ و ۳- بهینه‌سازی روش و کنترل کیفیت می‌باشد.

این روش براساس اتصال APF با گرانول‌های کراتوهیالن سلول‌های مخاطی دهان و شناسایی آن با استفاده از آنتی هیومن گلوبولین تام‌کونژوگه به ماده فلورسنت می‌باشد. پس از کالیبراسیون کونژوگه، سنجش APF با رقت‌های $\frac{1}{5}$ و $\frac{1}{10}$ تا $\frac{1}{1280}$ سه گروه بیماران آرتریت روماتویید [۵۲ نفر با میانگین سنی (۱۵/۸ ± ۴۸)] ، گروه کنترل بیمار [۲۳ نفر با میانگین سنی (۱۶/۹ ± ۳۲/۵)] و گروه کنترل سالم [۳۰ نفر با میانگین سنی (۱۶/۹ ± ۳۲/۱)] انجام شد.

یافته ها : از ۵۲ بیمار آرتریت روماتویید ۳۷ مورد (۷۱/۲ درصد) APF مثبت و در گروه کنترل بیمار ۲ مورد (۸/۷ درصد) و در گروه کنترل سالم ۱ مورد (۳/۳ درصد) APF مثبت بودند.

کیت طراحی شده APF از دقت ۹۸ درصد به روش inter and intra assay برخوردار بوده و حساسیت و اختصاصی بودن تست APF در رقت $\frac{1}{5}$ سرم به ترتیب ۷۱/۲ و ۹۴/۳ درصد بوده است

استنتاج : باتوجه به نتایج، بهترین حساسیت واختصاصی بودن آزمایش برای بیماران آرتریت روماتویید، تیتر بودن رقت $\frac{1}{5}$ به عنوان Cut off یا حداقل تیتر معنی‌دار در تشخیص و تایید آرتریت روماتویید می‌باشد و با توجه به دقت ۹۸ درصدی کیت طراحی شده سنجش APF-IFA دارای اعتبار تشخیصی متوسط و تأییدی بالا برای بیماری آرتریت روماتویید است. همچنین مقایسه بین گروه‌های مورد آزمایش نشان داد که بین غلظت APF و شدت بیماری ارتباط معنی‌دار وجود دارد (P=۰/۰۵)، در حالی که ارتباط معنی‌دار بین تیتر APF و ابتلای خارج مفصلی، ظرفیت عملی، جنسیت، سن، سن شروع بیماری و مدت بیماری دیده نشد.

واژه های کلیدی : آرتریت روماتویید، تکنیک آنتی‌بادی ایمونوفلورسانس

* گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
** گروه ایمونولوژی، عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
*** گروه داخلی، عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
**** عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
✉ ساری- بلوار خزر- دانشکده پزشکی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری آرتریت روماتویید (RA)[1] نوعی بیماری اتوایمیون روماتیسمی و سیستمیک است. در این بیماری، اتو آنتی‌بادی‌هایی کشف شده‌اند هر چند نقش آنها در پاتوژنز بیماری مشخص نیست اما از نظر تشخیص، پیش آگهی یا برآورد شدت بیماری با ارزش می‌باشند. رایجترین این اتو آنتی‌بادی‌ها، فاکتور روماتوییدی می‌باشد که علی‌رغم حساسیت بالا، از نظر تشخیصی اختصاصی نمی‌باشد. بنابراین استفاده از یک نشانگر سرولوژیکی دیگر برای آرتریت روماتویید مفید خواهد بود و آن آنتی‌بادی ضد فاکتور پری‌نوکلئر (APF)[2] می‌باشد. این آنتی‌بادی به گرانول‌هایی که در سیتوپلاسم سلول‌های مخاط دهان انسان (گرانول‌های کراتوهیالن) قرار دارد متصل می‌شود. حضور این آنتی‌بادی به وسیله Mandema و Nienhuis (۱۹٦٤) شرح داده شد و اختصاصی بودن آن نیز، برای آرتریت روماتویید نشان داده شد(۱). این آنتی‌بادی غالباً از کلاس IgG می‌باشد(۲).

به‌دلیل حساسیت (۳٦-۸۷ درصد)(٤،۳) و اختصاصی بودن بالا (۷۳-۱۰۰ درصد)(٥،٤) یک وسیله سرولوژیکی با ارزش در تشخیص بیماری آرتریت روماتویید (٦،۷) و نشانگر سرولوژیکی مفید (۸،٤) برای تمایز این بیماری از دیگر بیماری‌های روماتیسمی التهابی می‌باشد.

APF محدود به‌بیماری آرتریت روماتویید نمی‌باشد و در بیماری‌های دیگر مانند لوپوس، آسکلرودرمای سیستمیک، سندرم شوگرن (۱۰،۹،٤) و در مونونوکلئوز عفونی (۱۱) و افرادسالم نیز دیده شده است. APF در تشخیص آرتریت روماتویید اولیه مفید است (۱۲ تا ۱٦) و تست تشخیصی خوبی در معیار تقسیم‌بندی آرتریت روماتویید بوده و در مایع سینوویال وجود دارد(۸).

وجود APF در ارتباط با حضور فاکتور روماتویید (۱۷،٥) و ندول‌های روماتویید می‌باشد. این آنتی‌بادی همچنین دربیماران آرتریت روماتویید سرونگاتیو (-RF) شناسایی شده است (٤) و مستقل از سن، جنسیت (٥) و طول مدت بیماری بوده(۱۸) و زود آشکار می‌شود و ممکن است حتی قبل از ظهور کلینیکی آرتریت روماتویید ظاهر شود (۱۹،۱۳،۱۲) و با سختی و شدت بیماری ارتباط دارد(۲۰).

در کشور ما تست تشخیص APF مرسوم نبوده و تاکنون پایه‌گذاری نشده بود. بنابراین راه‌اندازی آزمایشگاهی آن را برای سنجش APF ضروری دانستیم. با مطالعات انجام شده، تکنیک ایمونوفلورسانس غیرمستقیم که تنها تکنیک مورد استفاده برای ارزیابی شیوع آنتی‌بادی APF می‌باشد، مورداستفاده قرار گرفت.

گرانول‌های پری‌نوکلئر آنتی‌ژنیک در لایه میانی سلول‌های مخاط دهان انسان قرار دارند و براساس تشابه هیستولوژیک آنها به اجسام گراتوهیالن در لایه گرانولوزوم اپیدرمیس انسان، گرانول‌های کراتوهیالن نام دارند(۱۰).

این گرانول‌ها، پریودیک اسید شیف (PAS)[3] مثبت بوده و بازوفیلیک، رنگ می‌شوند و نوعی پروتئین غیرقابل حل وحساس به انجماد می‌باشند که آنتی‌ژنسیته آنها با روش‌های مختلف فیکس کردن (متانل واستن) کاهش می‌یابد.

مواد و روش ها

نمونه‌گیری از نوع غیر احتمالی (Non-Probability sampling) و آسان بوده است. این پژوهش بر روی ۵۲ بیمار با تشخیص قطعی آرتریت

1. Rhevmatoid Arithritis
2. Arti perinuclear factor
3. Periodic acid schiff

www.SID.ir

Archive of SID

روماتویید براساس معیار کالج روماتولوژی آمریکا (ACR)[1] با میانگین سنی ۱۵/۸±۴۸/۰ انجام شد و پرسشنامه‌ای مشتمل بر سؤالات مربوط به تشخیص بیماری توسط متخصص روماتولوژی تدوین گردید. این پرسشنامه طوری طراحی شده بود که با توجه به آن علاوه بر تشخیص بیماری بتوان جنسیت، سن، طول مدت بیماری، شدت بیماری، ظرفیت عملی و ابتلای خارج مفصلی (شامل ابتلای جلدی واسکولیت، چشمی، ریوی- قلبی، کلیوی، گوارشی، اسپلنومگالی و آدنومگالی می‌باشد) را نیز معین کرد. لازم به توضیح است شدت بیماری درسه گروه خفیف، متوسط و شدید طبقه‌بندی گردید(۲۱). همچنین ظرفیت عملی بیمار به چهار گروه : ۱- طبیعی، ۲- اختلال متوسط، ۳- اختلال شدید، و ٤- عدم قدرت تحرک، طبقه‌بندی شد (۲۱). گروه‌کنترل بیمار(بیماران مبتلابه بیماری‌های روماتیسمی و غیرمبتلا به آرتریت روماتویید) ۲۳ نفر با میانگین سنی ۱٦/۹ ± ۳۲/۵ و گروه کنترل سالم ۳۰ نفر با میانگین سنی ۱٦/۹ ± ۳۲/۱ بوده است که از نظر تیتر APF و RA-Latex مورد بررسی قرار گرفتند.

پس از خونگیری، سرم گروه‌های مورد آزمایش جدا شد و تا جمع‌آوری کامل نمونه‌ها در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

روش پایه‌ریزی آزمایش **APF-IFA** :

الف) تهیه سوبسترای آنتی‌ژنی.

بعد از شستشوی دهان، نمونه‌گیری از سلول‌های اپی‌تلیال لایه میانی مخاط دهان از قسمت داخلی گونه‌های فرد دهنده انجام شد و پس از شستشو با بافر فسفات سالین (PBS)[2] (دوبار)، محلول بافر PT (یکبار) و در آخر با PBS (یک بار)، لام جهت رنگ‌آمیزی PAS از نظر وجود سلول‌های گرانول مثبت تهیه شد و پس از قرار دادن سوسپانسیون سلولی بر روی لام فلورسانس، لام‌های آماده در ۷۰- درجه‌سانتی‌گراد ذخیره شدند.

و پس از کالیبراسیون آنتی هیومن کونژوگه به FITC تام، آزمایش بر روی سرم‌های سه گروه مورد مطالعه انجام گردید.

ب) مراحل انجام تست ***APF*** *به روش* ***IFA***[3] .

۱- افزودن رقت‌های مختلف سرم به مقدار ۱۰۸، ۲- انکوباسیون مرطوب (به مدت ۹۰ دقیقه)، ۳- شستشو با PBS(سه‌مرتبه)،٤- افزودن آنتی‌هیومن کونژوگه ۱۰۸، ۵- انکوباسیون درتاریکی(به مدت ۳۰ دقیقه)،٦- شستشو با PBS (سه مرتبه)، و ۷- بررسی با میکروسکوپ ایمونوفلورسنت.

برای تعیین دقت کیت پایه‌ریزی شده برای سنجش APF به دو روش inter assay و intra assay عمل نمودیم.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

برای بیان مشخصات نمونه پژوهش از آمار توصیفی شامل جداول توزیع فراوانی، نمودار، میانگین و انحراف معیار استفاده شده. درصد حساسیت و اختصاصی بودن تست مطالعه شد. برای تعیین ارتباط غلظت APF با شدت بیماری، ظرفیت عملی بیمار و ابتلای خارج مفصلی از آزمون آماری Tau B Kandall و برای بررسی ارتباط غلظت APF با شاخص‌های سن، سن شروع بیماری و طول مدت بیماری، از آزمون ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. برای تعیین ارتباط ظهور APF با جنسیت و ظهور RF[4] با بیماری آرتریت روماتویید، آزمون آماری کای‌دو مورد استفاده قرار گرفت. در تمام آزمون‌های انجام شده ضریب اطمینان

1. American college of rheumatology
2. Phosphate buffer salin
3. Immuno fluore scent Assay
4. Rheumatoid factor

www.SID.ir

Archive of SID

۹۵ درصد در سطح معنی‌دار حداقل α =۰/۰۵ مدنظر قرار گرفت.

یافته ها

در توزیع فراوانی افراد مورد مطالعه بر حسب جنسیت، در سه گروه بیماران آرتریت روماتویید، گروه کنترلِ بیمار و گروه کنترلِ سالم، از ۵۲ بیمار آرتریت روماتویید ۴۰ نفر مؤنث (۷۶/۹ درصد) و ۱۲ نفر مذکر (۲۳/۱ درصد) بودند و در گروه کنترل بیمار از ۲۳ نفر، ۱۳نفر مؤنث(۵۶/۵ درصد) و ۱۰ نفر مذکر(۴۳/۵ درصد) و در گروه کنترل سالم از ۳۰ بیمار ۱۸ نفر مؤنث (۶۰ درصد) و۱۲ نفر مذکر(۴۰ درصد) بودند. براساس نتایج، بین‌گروه‌ها و جنسیت ارتباط معنی‌دار وجود ندارد. یعنی گروه‌ها از نظر جنسیت همگن می‌باشند. همچنین میانگین سن بیماران آرتریت روماتویید ۱۵/۸ ± ۴۸/۰ ، گروه کنترل بیمار ۱۶/۹ ± ۳۲/۵ و گروه کنترل سالم ۱۶/۹ ± ۳۲/۱ بوده که میانگین سنی در سه گروه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارد (P<۰/۰۵). همچنین گروه‌ها به سه رده سنی کمتر از ۳۰ سال، ۳۰ تا ۶۰ سال و بیشتر از ۶۰ سال تقسیم شدند. در گروه بیماران آرتریت روماتویید بیشترین افراد در رده سنی ۳۰ تا ۶۰ سال بودند (۶۱/۵ درصد) ولی در گروه‌های کنترل بیمار و سالم بیشترین افراد در رده سنی کمتر از ۳۰ سال بودند که به ترتیب معادل ۴۷/۶ و ۶۰ درصد می‌باشد. براساس نتایج، سه گروه مورد بررسی پژوهش از نظر رده سنی همگن نمی‌باشند (P<۰/۰۵). درتوزیع فراوانی افراد مورد مطالعه بر حسب نتیجه آزمون APF در سه گروه بیمار و کنترل، از ۵۲ بیمار آرتریت روماتویید، ۳۷ نفر (۷۱/۲ درصد) APF^+ و در گروه کنترل بیمار از ۲۳ نفر، ۲ نفر(۸/۷ درصد) APF^+ و در گروه کنترل سالم از ۳۰ نفر، ۱ نفر (۳/۳ درصد) APF^+ بودند. براساس نتایج، بین بروز APF و ابتلاء به آرتریت روماتویید ارتباط معنی‌دار وجود دارد (P<۰/۰۰۰۱).

در مقایسه حساسیت و اختصاصی بودن تست با APF برای تیترهای مختلف در بیماران آرتریت روماتویید، در تیتر $\frac{1}{5}$ حساسیت آزمایش (۷۱/۲ درصد) و اختصاصی بودن آن (۹۴/۳ درصد) بود. در تیترهای بعدی، هر چند اختصاصی بودن تست افزایش می‌یابد، حساسیت به میزان زیادی کاهش پیدا می‌کند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱ : مقایسه حساسیت و اختصاصی بودن تست APF برای تیترهای مختلف در بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید (RA)

موارد -APF در گروه‌های کنترل	موارد +APF در بیماران RA	غلظت	حساسیت	اختصاصی بودن
۳	۳۷	$\frac{1}{5}$	۷۱/۲	۹۴/۳
۳	۳۰	$\frac{1}{10}$	۵۷/۷	۹۴/۳
۱	۱۸	$\frac{1}{20}$	۳۴/۶	۹۸/۱
۱	۱۳	$\frac{1}{40}$	۲۵	۹۸/۱
۶	۸	$\frac{1}{80}$	۱۵/۴	۹۸/۱
–	۵	$\frac{1}{160}$	۹/۶	۱۰۰
–	۲	$\frac{1}{320}$	۳/۹	۱۰۰
–	۲	$\frac{1}{640}$	۳/۹	۱۰۰
–	۱	$\frac{1}{1280}$	۱/۹	۱۰۰

آزمون‌های آماری نشان داد در بیماران آرتریت روماتویید، بین غلظت سرمی APF و شدت بیماری، ارتباط معنی‌دار وجود دارد (P=۰/۰۵) (جدول شماره۲). ولی بین غلظت سرمی APF و ظرفیت عملی بیمار، ابتلای خارج مفصلی (نمودار شماره ۱ و۲) ، سن، سن شروع بیماری و طول مدت بیماری، رابطه معنی‌دار وجود ندارد.

www.SID.ir

Archive of SID

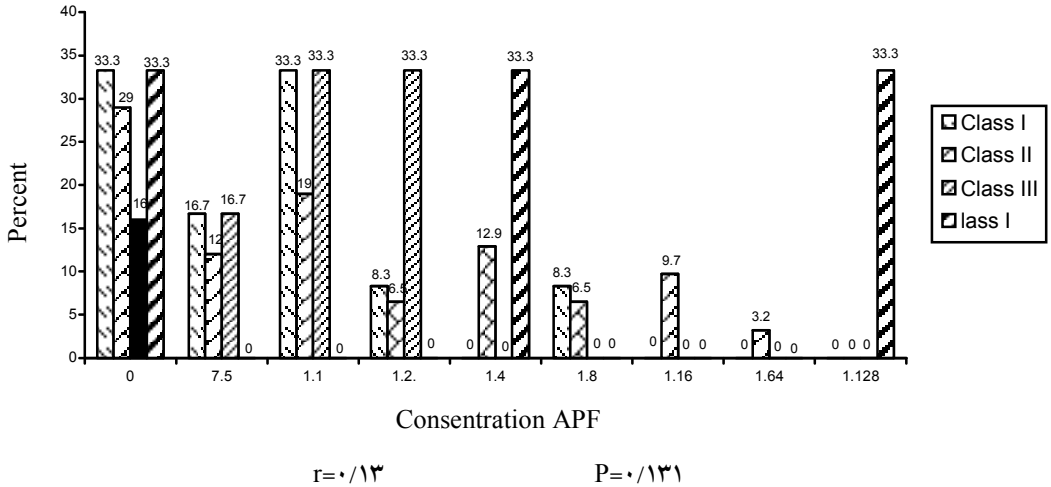
جدول شماره ۲ : ارتباط غلظت APF با شدت بیماری آرتریت روماتویید

شدت بیماری / غلظت APF	خفیف تعداد (درصد)	متوسط تعداد (درصد)	شدید تعداد (درصد)	جمع تعداد (درصد)
۰	٤ (٥٠)	٨ (٢٧/٦)	٣(٢٠)	١٥(٢٨/٨)
١/٥	١ (١٢/٥)	٤ (١٣/٨)	٢ (١٣/٣)	٧ (١٣/٥)
١/١٠	٣ (٣٧/٥)	٦ (٢٠/٧)	٣ (٢)	١٢(٢٣/١)
١/٢٠	-(-)	٢ (٦/٩)	٣ (٢٠)	٥ (٩/٦)
١/٤٠	-(-)	٣ (١٠/٣)	٢ (١٣/٣)	٥ (٩/٦)
١/٨٠	-(-)	٢ (٦/٩)	١ (٦/٧)	٣ (٥/٨)
١/١٦٠	-(-)	٣ (١٠/٣)	-(-)	٣ (٥/٨)
١/٣٢٠	-(-)	١ (٣/٤)	-(-)	١ (١/٩)
١/٦٤٠	-(-)	-(-)	١ (٦/٧)	١ (١/٩)
١/١٢٨٠	٨ (١٥/٤)	٢٩(٥٥/٨)	١٥(٢٨/٨)	٥٢ (١٠٠)

درارتباط ظهور APF با جنسیت در بیماران آرتریت روماتویید، از ۳۷ بیمار APF^+ ، ۳۰ مورد (۸۱ درصد) مؤنث و ۷ مورد (۱۹ درصد) مذکر بوده‌اند و از ۱۵ بیمار APF^- ، ۱۰ مورد(٦٦/٧) مؤنث و ۵ مورد(۳۳/۳ درصد) مذکر بودند. براساس نتایج، بین ظهور APF و جنسیت، ارتباط معنی‌دار وجود ندارد.

در ارتباط ظهور RF با ابتلای به بیماری آرتریت روماتویید، از ۵۲ بیمار مبتلا به آرتریت روماتویید، ٤٦ نفر (۸۸/۵ درصد)دارای RF^+ و از ۲۳ مورد کنترل بیمار، ۵ مورد (۲۱/۷ درصد) دارای RF^+ و از ۳۰ مورد کنترل سالم، ۳ مورد (۱۰ درصد) دارای RF^+ بودند.

طبق نتایج، بین نتیجه آزمون RF و ابتلا به آرتریت روماتویید ارتباط معنی‌دار وجود دارد (P<۰/۰۰۰۱) (جدول شماره ۳). در ارزیابی شاخص‌های مربوط به اعتبار آزمون‌های APF-IFA و RF-latex در تشخیص بیماری آرتریت روماتویید، آزمون RF حساسیت بالاتری (۸۸/۵ درصد) در مقایسه با آزمون APF (۷۱/۲ درصد) نشان داد ولی اختصاصی بودن آن (۸٦/۸ درصد) کمتر از آزمون APF (۹٤/۳ درصد) می‌شدند.

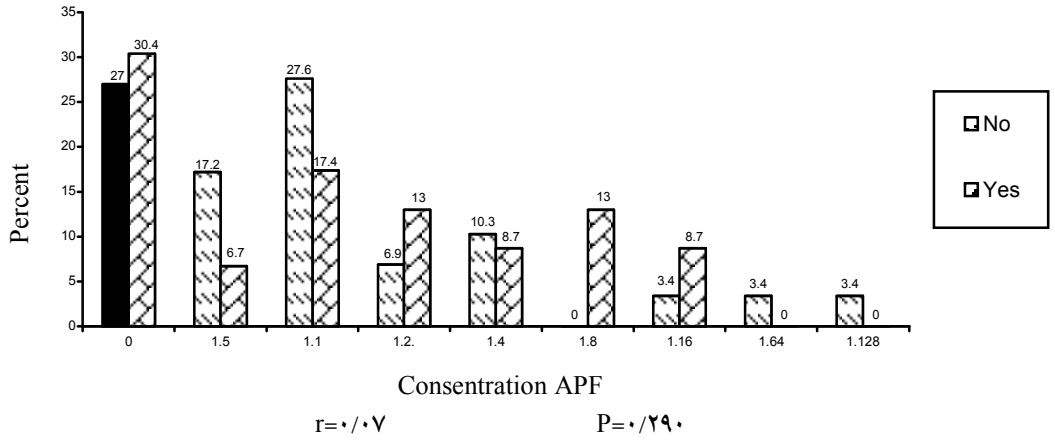


r=۰/۱۳ P=۰/۱۳۱

www.SID.ir

Archive of SID

نمودار شماره ۱: ارتباط غلظت APF با ظرفیت عملی بیمار آرتریت روماتوئید.



r=۰/۰۷ P=۰/۲۹۰

نمودار شماره ۲: ارتباط غلظت APF با ابتدای خارج مفصلی بیماران آرتریت روماتوئید.

جدول شماره ۳: ارتباط بروز با ابتلای به بیماری آرتریت روماتوئید

گروه / RF	آرتریت روماتوئید	کنترل بیمار	کنترل سالم	جمع
	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)
منفی	٦(١١/٥)	١٨ (٧٨/٣)	٢٧ (٩٠)	٥١ (٤٨/٦)
+١	٤ (٧/٧)	٣ (١٣/٠٤)	٢ (٦/٧)	٩ (٨/٦)
+٢	١٣ (٢٥)	١ (٤/٣٤)	١ (٣/٣)	١٥ (١٤/٣)
+٣	٢٢ (٤٢/٣)	١ (٤/٣٤)	٠ (٠)	٢٣ (٢١/٩)
+٤	٧ (١٣/٥)	٠ (٠)	٠ (٠)	٧ (٦/٧)
کل	٥٢ (٤٩/٥)	٢٣ (٢١/٩)	٣٠ (٢٨/٦)	١٠٥ (١٠٠)

chi-square: λ^2 =٦٥/٣ DF=٨ P<۰/۰۰۰۱

بحث

در بررسی انجام شده در گروه بیماران آرتریت روماتوئید مورد مطالعه، نسبت افراد مؤنث به مذکر ۳/۳ بوده است. مطالعات دیگر نیز نشان داده که این بیماری در خانم‌ها ۲ تا۳ بار بیشتر از آقایان رخ می‌دهد (۲۲). همچنین بیشتر این بیماران، در رده سنی ٦٠-٣٠ سال بودند (١٦/٥ درصد) که با نتایج بررسی‌های دیگر مطابقت می‌کند (۲۲).

برای تعیین دقت کیت پایه‌ریزی شده برای سنجش APF، دو روش intra assay ، Inter assay انجام شد که میزان دقت ۹۸ درصد به دست آمد و این نشان دهنده دقت زیاد در ساخت کیت APF می‌باشد. بنابراین می‌توان از APF-IFA با اعتماد علمی مناسب، برای سنجش APF در بیماران RA استفاده کرد و نتایج حاصل از اعتبار علمی مناسب برخوردار می‌باشد.

با توجه به حساسیت و اختصاصی بودن آزمایش APF در تیترهای مختلف در بیماران آرتریت روماتوئید، ماتیتر $\frac{1}{5}$ را به عنوان cut off یا حداقل تیتر معنی‌دار، پیشنهاد می‌کنیم. چون در تیتر $\frac{1}{5}$ حساسیت آزمایش ۷۱/۲ درصد و اختصاصی بودن آن ۹٤/۳ درصد می‌باشد ولی در تیترهای بعدی با وجود اختصاصی بودن بالای APF ، حساسیت آن کاهش می‌یابد. این آزمایش از اعتبار متوسطی در تشخیص بیماری RA و اعتبار علمی بالایی برای تأیید بیماری

www.SID.ir

Archive of SID

برخوردار است. در بررسی مطالعاتی نیز مشاهده شد که APF در بیماران RA از حساسیت ۳۶ تا ۸۷ درصد و اختصاصی بودن۷۳ تا۱۰۰ درصد برخوردار است(۵،٤،۳). و یک وسیله سرولوژیکی با ارزش در تشخیص بیماری RA و یک نشانگر سرولوژیکی مفید برای تمایز این بیماری از بیماری‌های روماتیسمی دیگر می‌باشد.

غلظت سرمیAPF با شدت بیماری در بیماران RA مورد مطالعه، ارتباط معنی‌دار داشته است. با افزایش غلظت APF ، فرم خفیف بیماری مشاهده نمی‌شود، بلکه فرم متوسط و شدید بیماری آشکار می‌شود. بررسی سایر مطالعات نیز بیانگر این مطلب می‌باشد(۲۰).

همچنین بین غلظت سرمی APF با ظرفیت عملی بیمار در بیماران مورد مطالعه، ارتباط معنی دار مشاهده نشد که با نتایج تحقیقات «مانرا» (Manera) و همکاران (۱۹۹٤) همخوانی دارد(۸) در بررسی مطالعاتی بیماران RA، بین غلظت سرمی APF و ابتلای خارج مفصلی نیز ارتباط معنی‌دار مشاهده نشد. در حالی که برخی از تحقیقات نشان داده است که بین APF و ابتلای RA ، ارتباط معنی دار مشاهده شد (P<۰/۰۰۰۱). در این ارزیابی، شاخص‌های مربوط به اعتبار آزمون‌های APF-IFA و RF-latex در تشخیص نشان می‌دهد که آزمون RF حساسیت بالاتری (۸۸/۵ درصد) در مقایسه با آزمون APF (۷۱/۲ درصد) داشته ولی اختصاصی بودن آن (۸٦/۸ درصد) کمتر از آزمون APF (۹٤/۳ درصد) می‌باشد. یعنی آزمون APF-IFA آزمون تأییدی مناسبتر و آزمون اختصاصی‌تری برای تشخیص بیماری RA است. در یک مطالعه آماری که بر روی ۳۰۸ بیمار RA انجام شد مشخص شد که حساسترین تست با کمترین اختصاصی بودن برای بیماری RA ، تست RF-latex می‌باشد(۲۰).

اگرچه بیماری RA بیشتر در سنین بالا (۵۰-۳۰ سالگی) و در خانم‌ها ۳-۲ برابر بیشتر از آقایان بروز می‌کند ولی ارتباط معنی‌داری بین غلظت APF با سن و سن شروع بیماری مشاهده نشد. همچنین غلظت APF مستقل از جنسیت و طول مدت بیماری می‌باشد. گزارش سایر محققین نیز بیانگر این مسئله است (۱۸،۵).

پیشنهادات

۱- بررسی روش مناسب برای پایداری سوبسترای آنتی‌ژن سلول‌های مخاط دهانی (پایداری نمونه‌های تهیه شده در ۷۰^{o}- به مدت دو هفته می‌باشد.)

۲- بررسی APF در آرتریت روماتویید اولیه (early RA) به صورت مطالعه آینده‌نگر. مطالعات نشان می‌دهد APF از جمله نشانگرهایی است که در تشخیص و پیش آگهی بیماری RA با ارزش می‌باشد و حتی قبل از شروع علایم بالینی، در آرتریت روماتویید اولیه قابل شناسایی است(۱۲،۱۳،۱٤،۱۵،۱٦) و نشانگری برای بیماری‌های فعالتر و شدیدتر می‌باشد. این مطالعه آینده‌نگر برای پی‌بردن آن است که آیا APF در بیماری حضور اولیه وجود دارد و آیا اولیهٔآن می‌تواند پیشرفت بیماری را پیش‌بینی کند.

۳- بررسی APF در مایع سینوویال بیماران آرتریت روماتویید.

www.SID.ir

Archive of SID

فهرست منابع

1. West geest A.A, Boerbooms A.M, Jongmans M, Vandenbroucke J.P, Vierwinden G, Van-de-Putte L.B, et al. Antiperinuclear Factor: indicator of more severe disease in seronegative rheumatoid arthritis. ***J Rheumatol.*** 1987; 14(5) : 893-894.
2. Munoz Fernandez S, Alvarez Dotorno R, Cuesta M, Balsa A, Fontan G, Gijon-Banos J. Antiperinuclear Factor: a useful test for the diagnosis of rheumatoid arithritis. ***Rheumatol-Int.*** 1995; 15(4): 145-9.
3. Henry JB. Rheumatoid arithritis. Clinical diagnosis and management by Laboratory method. 19th ed. (WB Saunders). Philadelphia. 1996. p. 1019-1020.
4. Janssen X, Veys EM, Verbruggen G, Declercq L, et al. The diagnostic significance of the antiperinuclear factor for rheumatoid arthritis. ***J-Rheumatol.*** 1998; 15(9): 1346-1350.
5. Sebbag M, Simon M, Vincent C, Masson-Bessiere C, Girbal E, Durieux JJ, et al. the antiperinuclear factor and the so-called anti keratin antibodies are the same rheumatoid arthrits specific auto antibodies. ***J-Clin-Invest.*** 1995 June; 95(6): 2672-2679.
6. Lefkovits I. Diagnostic auto antibodies in rheumatoid arithritis. Immunology methods manual the comprehensive source book of techniqus. Philadephia-saunders. 1996 Aug; 3: 1611-1616.
7. Munoz F, Alvarez DR, Gonzalez TJM, Balsa A, Richi P, Fontan G, et al. Antiperinuclear factor as a prognostic marker in RA. ***J. Pheumatol.*** 1999 Dec; 26(12): 2572-7.
8. Manera C, Franceschini F, Cretti L, Brage S, Cattaneoi R, Cattanec R. Clinical Heterogeneity of rheumatoid arithritis and the antiperinuclear Factor. ***J-Rheumatol.*** 1994; 21(11): 2021-5.
9. Hoet RM, Boerbooms AM, Arends M, Ruiter DJ, Van Venrooij WJ. A marker Auto anibody for rheumatoid arthritis: colocalisation of the perinuclear factor and profilaggrin. ***Ann-Rheum-Dis.*** 1991 Sep 50: 611-8.
10. Vivino FB, Maul GG. Histologic and electron microscopic characterization of the antiperinuclear factor antigen. ***Arthritis and Rheumatism.*** 1990 July; 33(7): 960-968.
11. Buisson M, Berthelot JM, Le-Goff P. Lack of relationship between antibodies in rheumatoid arthritis. ***J-Rheumatol.*** 1985; 12(2): 57-59.
12. Berthelot JM, Maugers Y, Castagne A, Audrain M, Prost A. Antiperinuclear factors are present in polyarthirtis before ACR criteria for rheumatoid arthritis are ful-filled. ***Annals of the Rheumatic Diseases.*** 1997; 56(2): 123-125.

www.SID.ir

Archive of SID

13. Boerbooms AMT, Berthelot JM. Antiperinuclear factors are present in polyarthritis before ACR criteria for rheumatoid arthritis are fulfilled. ***Annals of the Rheumatic Diseases.*** 1997; 56(6): 395-396.
14. Cordonnier C, Meyer O, Palasso E,Bandt M, Elias A, Nicaise P, et al. Diagnostic value of anti-RA33 antibody, antikeratin antibody, antiperinuclear factor, anti nuclear antibody in early rheumatoid arthritis comparison with rheumatic factor. ***Br-J-Rheumatol.*** 1996 Jul; 33(7): 620-4.
15. Li H, Li X, Gan X. Specific antibodies for the early diagnosis of eheumatoid arthritis. Xhonghua Yi Xue Za Zhi. 2000 Jan; 80(1): 20-4.
16. Van Jaarsveld GH, Ter Borg EJ, Jacobs JW, Schellekens GA, Gmelig-Meyling FH, Van Booma-Frank Fort C, et al. The prognostic value of anti perinuclear factor, anti cirtullinated peptide antibodies and RF in early RA. Clin Exp Rheumatol. 1999 Nov-Dec; 17(6): 689-97.
17. Youinou P, Le GP, Dumav A, Lelong A, Fauquert P, Jouquan J, et al. Antiperinuclear factor, clinical and serologic associations. ***Clin-Exp. Rheumatol.*** 1990 Mav-Jun; 8(3): 259-264.
18. Boerboms AM, West Geest AA, Peekers P, Vande Putte LB. Immunogenetic heterogeneity of seronegative rheumatoid arthritis and the antiperinuclear factor. ***Ann-Rheum-Dis.*** 1990 Jan; 49(1): 15-17.
19. Genevay S, Hayem G, Verpillat P, Meyer O. An eight year prospective study of outcome prediction by antiperinuclear factor and anti keratin antibodies at onset of rheumatoid arthritis. ***Ann-Rheum-Dis.*** 2002 Aug; 61(8): 734-6.
20. Von Essen R, Kurki P, Isomaki H. Okubo S, Kautiainen H, Aho K. Prospect for an additional laboratory criterion for rheumatoid arthritis. Scand-J-Rheumatol. 1993; 22(6): 267-272.
21. Harris. Clinical features of rheumatoid arthitis in kelley W, Hariris E, Ruddy S, Sledge C. Clinical features of Rheumatoid Arithritis.Text book of Rhematology. 5th ed. Philadelphia: Saunders company, 1997. p. 899-932.
22. Paul WE. Autoimmunity and Auto immune diseases. Fundamental immunology. Philadeiphia. New york. Lippincott-Raven. 1993 (third edithion) 1065.

www.SID.ir