

طراحی کیت آنتی بادی ضد فاکتور پری نوکلتر (APF) به روش ایمنوفلورسانس و ارزیابی آن در بیماران آرتریت روماتوئید

فرشیده عابدیان (M.Sc)*
برادران (Ph.D)**
مسعود ثقفی (M.D)***

سید عبدالرحیم رضایی (M.Sc)**
سید رضا مظلوم (M.Sc)***

چکیده

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

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

این روش براساس اتصال APF با گرانول‌های کراتوهیالین سلول‌های مخاطی دهان و شناسایی آن با استفاده از آنتی هیومن گلوبولین تام کونژوگه به ماده فلورسنت می‌باشد. پس از کالیبراسیون کونژوگه، سنجش APF با رقت‌های $\frac{1}{5}$ و $\frac{1}{10}$ ت $\frac{1}{1280}$ سه گروه بیماران آرتریت روماتوئید [۵۲ نفر با میانگین سنی $(48 \pm 15/8)$]، گروه کنترل بیمار [۲۳ نفر با میانگین سنی $(32/5 \pm 16/9)$] و گروه کنترل سالم [۳۰ نفر با میانگین سنی $(32/1 \pm 16/9)$] انجام شد.

یافته‌ها : از ۵۲ بیمار آرتریت روماتوئید 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 و اختصاصی بودن آزمایش برای بیماران آرتریت روماتوئید، تیتراژ بود؛ $\frac{1}{5}$ رقت به عنوان Cut off یا حداقل تیتراژ معنی‌دار در تشخیص و تایید آرتریت روماتوئید می‌باشد و با توجه به دقت ۹۸ درصدی کیت طراحی شده سنجش APF-IFA دارای اعتبار تشخیصی متوسط و تأییدی بالا برای بیماری آرتریت روماتوئید است. همچنین مقایسه بین گروه‌های مورد آزمایش نشان داد که بین غلظت APF و شدت بیماری ارتباط معنی‌دار وجود دارد ($P=0/05$)، در حالی که ارتباط معنی‌دار بین تیتراژ APF و ابتلای خارج مفصلی، ظرفیت عملی، جنسیت، سن، سن شروع بیماری و مدت بیماری دیده نشد.

واژه‌های کلیدی : آرتریت روماتوئید، تکنیک آنتی بادی ایمنوفلورسانس

✉ ساری - بلوار خزر - دانشکده پزشکی

*** گروه داخلی، عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

* گروه ایمنونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

** گروه ایمنونولوژی، عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

*** عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

مقدمه

وجود APF در ارتباط با حضور فاکتور روماتوئید (۱۷،۵) و ندول‌های روماتوئید می‌باشد. این آنتی‌بادی همچنین در بیماران آرتریت روماتوئید سرونگاتیو (RF-) شناسایی شده است (۴) و مستقل از سن، جنسیت (۵) و طول مدت بیماری بوده (۱۸) و زود آشکار می‌شود و ممکن است حتی قبل از ظهور کلینیکی آرتریت روماتوئید ظاهر شود (۱۲، ۱۳، ۱۹) 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، مورد استفاده قرار گرفت. گرانول‌های پری‌نوکلئار آنتی‌ژنیک در لایه میانی سلول‌های مخاط دهان انسان قرار دارند و براساس تشابه هیستولوژیک آنها به اجسام گراتوئیلان در لایه گرانولوزوم اپیدرمیس انسان، گرانول‌های کراتوئیلان نام دارند (۱۰).

این گرانول‌ها، پرپروتئیک اسید شیف (PAS) مثبت بوده و بازوفیلیک، رنگ می‌شوند و نوعی پروتئین غیرقابل حل و حساس به انجماد می‌باشند که آنتی‌ژن‌سسته آنها با روش‌های مختلف فیکس کردن (متانل و استن) کاهش می‌یابد.

مواد و روش‌ها

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

بیماری آرتریت روماتوئید (RA)^۱ نوعی بیماری اتوایمیون روماتیسمی و سیستمیک است. در این بیماری، آنتی‌بادی‌هایی کشف شده‌اند هر چند نقش آنها در پاتوژنز بیماری مشخص نیست اما از نظر تشخیص، پیش‌آگهی یا برآورد شدت بیماری با ارزش می‌باشند. رایجترین این آنتی‌بادی‌ها، فاکتور روماتوئیدی می‌باشد که علی‌رغم حساسیت بالا، از نظر تشخیصی اختصاصی نمی‌باشد. بنابراین استفاده از یک نشانگر سروولوژیکی دیگر برای آرتریت روماتوئید مفید خواهد بود و آن آنتی‌بادی ضد فاکتور پری‌نوکلئار (APF)^۲ می‌باشد. این آنتی‌بادی به گرانول‌هایی که در سیتوپلاسم سلول‌های مخاط دهان انسان (گرانول‌های کراتوئیلان) قرار دارد متصل می‌شود. حضور این آنتی‌بادی به وسیله Mandema و Nienhuis (۱۹۶۴) شرح داده شد و اختصاصی بودن آن نیز، برای آرتریت روماتوئید نشان داده شد (۱). این آنتی‌بادی غالباً از کلاس IgG می‌باشد (۲).

به دلیل حساسیت (۳۶-۸۷ درصد) (۳، ۴) و اختصاصی بودن بالا (۷۳-۱۰۰ درصد) (۴، ۵) یک وسیله سروولوژیکی با ارزش در تشخیص بیماری آرتریت روماتوئید (۶، ۷) و نشانگر سروولوژیکی مفید (۴، ۸) برای تمایز این بیماری از دیگر بیماری‌های روماتیسمی التهابی می‌باشد.

APF محدود به بیماری آرتریت روماتوئید نمی‌باشد و در بیماری‌های دیگر مانند لوپوس، آسکلرودرمای سیستمیک، سندرم شوگرن (۴، ۹، ۱۰) و در مونونوکلئوز عفونی (۱۱) و افراد سالم نیز دیده شده است. APF در تشخیص آرتریت روماتوئید اولیه مفید است (۱۲ تا ۱۶) و تست تشخیصی خوبی در معیار تقسیم‌بندی آرتریت روماتوئید بوده و در مایع سینوویال وجود دارد (۸).

1. Rheumatoid Arthritis
2. Anti perinuclear factor

3. Periodic acid schiff

وجود سلول‌های گرانول مثبت تهیه شد و پس از قرار دادن سوسپانسیون سلولی بر روی لام فلورسانس، لام‌های آماده در ۷۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. و پس از کالیبراسیون آنتی هیومن کونزوگه به FITC تام، آزمایش بر روی سرم‌های سه گروه مورد مطالعه انجام گردید.

ب) مراحل انجام تست APF به روش IFA

- ۱- افزودن رقت‌های مختلف سرم به مقدار ۱۰۸،
- ۲- انکوباسیون مرطوب (به مدت ۹۰ دقیقه)، ۳- شستشو با PBS (سه مرتبه)، ۴- افزودن آنتی هیومن کونزوگه ۱۰۸،
- ۵- انکوباسیون در تاریکی (به مدت ۳۰ دقیقه)، ۶- 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 Kendall 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^۴ با بیماری آرتریت روماتوئید، آزمون آماری کای دو مورد استفاده قرار گرفت. در تمام آزمون‌های انجام شده ضریب اطمینان

روماتوئید براساس معیار کالج روماتولوژی آمریکا (ACR)^۱ با میانگین سنی $48/0 \pm 15/8$ 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 و اسکولیت، چشمی، ریوی- قلبی، کلیوی، گوارشی، اسپلنومگالی و آدنومگالی می‌باشد) را نیز معین کرد. لازم به توضیح است شدت بیماری در سه گروه خفیف، متوسط و شدید طبقه‌بندی گردید (۲۱). همچنین ظرفیت عملی بیمار به چهار گروه: ۱- طبیعی، ۲- اختلال متوسط، ۳- اختلال شدید، و ۴- عدم قدرت تحرک، طبقه‌بندی شد (۲۱). گروه کنترل بیمار (بیماران مبتلا به بیماری‌های روماتیسمی و غیرمبتلا به آرتریت روماتوئید) ۲۳ نفر با میانگین سنی $32/5 \pm 16/9$ و گروه کنترل سالم ۳۰ نفر با میانگین سنی $32/1 \pm 16/9$ بوده است که از نظر تیترا 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)^۲ (دوبار)، محلول بافر PT (یکبار) و در آخر با PBS (یک بار)، لام جهت رنگ‌آمیزی PAS از نظر

3. Immuno fluorescence Assay
4. Rheumatoid factor

1. American college of rheumatology
2. Phosphate buffer salin

بین بروز APF و ابتلاء به آرتریت روماتوئید ارتباط معنی‌دار وجود دارد ($P < 0/0001$).

در مقایسه حساسیت و اختصاصی بودن تست با APF برای تیترهای مختلف در بیماران آرتریت روماتوئید، در تیتراژ $\frac{1}{5}$ 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 روماتوئید (RA)

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

آزمون‌های آماری نشان داد در بیماران آرتریت روماتوئید، بین غلظت سرمی APF و شدت بیماری، ارتباط معنی‌دار وجود دارد ($P = 0/05$) (جدول شماره ۲). ولی بین غلظت سرمی APF و ظرفیت عملی بیمار، ابتلای خارج مفصلی (نمودار شماره ۱ و ۲)، سن، سن شروع بیماری و طول مدت بیماری، رابطه معنی‌دار وجود ندارد.

۹۵ درصد در سطح معنی‌دار حداقل $\alpha = 0/05$ مدنظر قرار گرفت.

یافته‌ها

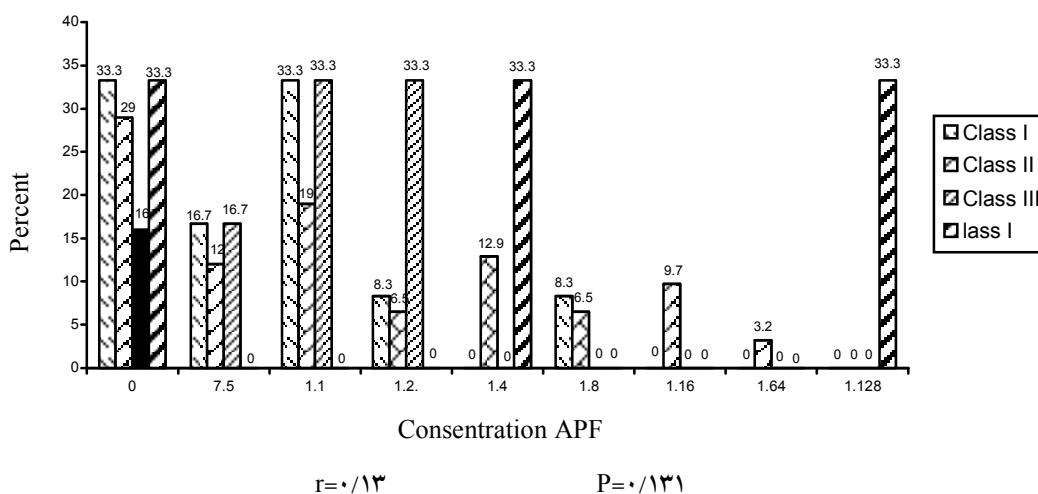
در توزیع فراوانی افراد مورد مطالعه بر حسب جنسیت، در سه گروه بیماران آرتریت روماتوئید، گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم، از ۵۲ بیمار آرتریت روماتوئید ۴۰ نفر مؤنث (۷۶/۹ درصد) و ۱۲ نفر مذکر (۲۳/۱ درصد) بودند و در گروه کنترل بیمار از ۲۳ نفر، ۱۳ نفر مؤنث (۵۶/۵ درصد) و ۱۰ نفر مذکر (۴۳/۵ درصد) و در گروه کنترل سالم از ۳۰ بیمار ۱۸ نفر مؤنث (۶۰ درصد) و ۱۲ نفر مذکر (۴۰ درصد) بودند. براساس نتایج، بین گروه‌ها و جنسیت ارتباط معنی‌دار وجود ندارد. یعنی گروه‌ها از نظر جنسیت همگن می‌باشند. همچنین میانگین سن بیماران آرتریت روماتوئید $15/8 \pm 4/0$ ، گروه کنترل بیمار $16/9 \pm 3/5$ و گروه کنترل سالم $16/9 \pm 3/1$ بوده که میانگین سنی در سه گروه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارد ($P < 0/05$). 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 روماتوئید 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 ($P < 0/05$). در توزیع فراوانی افراد مورد مطالعه بر حسب نتیجه آزمون APF در سه گروه بیمار و کنترل، از ۵۲ بیمار آرتریت روماتوئید، 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،

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

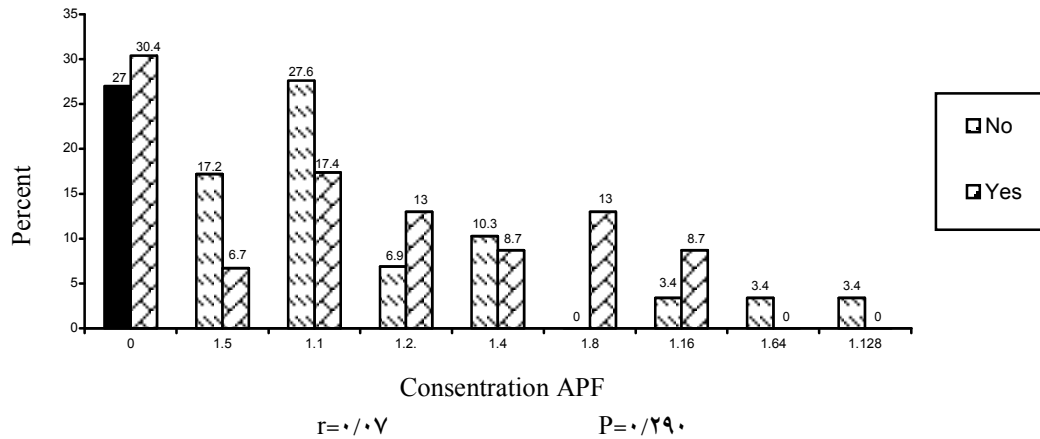
شدت بیماری	خفیف	متوسط	شدید	جمع
غلظت APF	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
۰	۴ (۵۰)	۸ (۲۷/۶)	۳ (۲۰)	۱۵ (۲۸/۸)
۱/۵	۱ (۱۲/۵)	۴ (۱۳/۸)	۲ (۱۳/۳)	۷ (۱۳/۵)
۱/۱۰	۳ (۳۷/۵)	۶ (۲۰/۷)	۳ (۲)	۱۲ (۲۳/۱)
۱/۲۰	-(-)	۲ (۶/۹)	۳ (۲۰)	۵ (۹/۶)
۱/۴۰	-(-)	۳ (۱۰/۳)	۲ (۱۳/۳)	۵ (۹/۶)
۱/۸۰	-(-)	۲ (۶/۹)	۱ (۶/۷)	۳ (۵/۸)
۱/۱۶۰	-(-)	۳ (۱۰/۳)	-(-)	۳ (۵/۸)
۱/۳۲۰	-(-)	۱ (۳/۴)	-(-)	۱ (۱/۹)
۱/۶۴۰	-(-)	-(-)	۱ (۶/۷)	۱ (۱/۹)
۱/۱۲۸۰	۸ (۱۵/۴)	۲۹ (۵۵/۸)	۱۵ (۲۸/۸)	۵۲ (۱۰۰)

در ارتباط ظهور APF با جنسیت در بیماران آرتریت روماتوئید، از ۳۷ بیمار APF⁺، ۳۰ مورد (۸۱ درصد) مؤنث و ۷ مورد (۱۹ درصد) مذکر بوده‌اند و از ۱۵ بیمار APF⁻، ۱۰ مورد (۶۶/۷) 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 روماتوئید، از ۵۲ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید، ۴۶ 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 روماتوئید ارتباط معنی‌دار وجود دارد ($P < 0.0001$) (جدول شماره ۳). در ارزیابی شاخص‌های مربوط به اعتبار آزمون‌های APF-IFA و RF-latex در تشخیص بیماری آرتریت روماتوئید، آزمون RF حساسیت بالاتری (۸۸/۵ درصد) در مقایسه با آزمون APF (۷۱/۲ درصد) نشان داد ولی اختصاصی بودن آن (۸۶/۸ درصد) کمتر از آزمون APF (۹۴/۳ درصد) می‌شدند.



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



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

سال بودند (۱۶/۵ 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 ۹۴/۳ 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

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

گروه	آرتریت روماتوئید	کنترل بیمار	کنترل سالم	جمع
RF	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)
منفی	۶(۱۱/۵)	۱۸(۷۸/۳)	۲۷(۹۰)	۵۱(۴۸/۶)
+۱	۴(۷/۷)	۳(۱۳/۰۴)	۲(۶/۷)	۹(۸/۶)
+۲	۱۳(۲۵)	۱(۴/۳۴)	۱(۳/۳)	۱۵(۱۴/۳)
+۳	۲۲(۴۲/۳)	۱(۴/۳۴)	۰(۰)	۲۳(۲۱/۹)
+۴	۷(۱۳/۵)	۰(۰)	۰(۰)	۷(۶/۷)
کل	۵۲(۴۹/۵)	۲۳(۲۱/۹)	۳۰(۲۸/۶)	۱۰۵(۱۰۰)

chi-square: $\lambda^2=65/3$ DF=۸ $P<0.0001$

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 تا ۳ بار بیشتر از آقایان رخ می‌دهد (۲۲). همچنین بیشتر این بیماران، در رده سنی ۶۰-۳۰

برخوردار است. در بررسی مطالعاتی نیز مشاهده شد که APF در بیماران RA از حساسیت ۳۶ تا ۸۷ درصد و اختصاصی بودن ۷۳ تا ۱۰۰ درصد برخوردار است (۵،۴،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 سرمی APF 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 معنی‌دار مشاهده نشد که با نتایج تحقیقات «مانرا» (Manera) و همکاران (۱۹۹۴) 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 معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0/0001$). 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 (۸۶/۸ درصد) کمتر از آزمون APF (۹۴/۳ 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 (۳۰-۵۰)

سالگی) و در خانم‌ها ۲-۳ 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).

پیشنهادهات

- ۱- بررسی روش مناسب برای پایداری سوبسترای آنتی‌ژن سلول‌های مخاط دهانی (پایداری نمونه‌های تهیه شده در 70^0 - به مدت دو هفته می‌باشد).
- ۲- بررسی APF در آرتریت روماتوئید اولیه (early RA) به صورت مطالعه آینده‌نگر. مطالعات نشان می‌دهد APF از جمله نشانگرهایی است که در تشخیص و پیش‌آگهی بیماری RA با ارزش می‌باشد و حتی قبل از شروع علائم بالینی، در آرتریت روماتوئید اولیه قابل شناسایی است (۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶) 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 اولیه آن می‌تواند پیشرفت بیماری را پیش‌بینی کند.
- ۳- بررسی APF در مابع سینوویال بیماران آرتریت روماتوئید.

- 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 techniquis. 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, Ruiten 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 polyarthrits before ACR criteria for rheumatoid arthritis are ful-filled. *Annals of the Rheumatic Diseases.* 1997; 56(2): 123-125.

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 rheumatoid 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 arthritis in kelley W, Hariris E, Ruddy S, Sledge C. Clinical features of Rheumatoid Arthritis. Text book of Rheumatology. 5th ed. Philadelphia: Saunders company, 1997. p. 899-932.
22. Paul WE. Autoimmunity and Auto immune diseases. Fundamental immunology. Philadelphia. New york. Lippincott-Raven. 1993 (third edition) 1065.