

طراحی و ارزیابی کیت آنتی بادی ضد کراتین (AKA) در بیماران آرتریت روماتوئید

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

چکیده

سابقه و هدف: آرتریت روماتوئید از بیماری‌های روماتیسمی منتشر خود ایمن است. اتوانتی بادی‌های کشف شده در این بیماری از نظر تشخیص و پیش آگهی با ارزش می باشند. یکی از این آنتی بادی‌ها، آنتی بادی ضد کراتین (AKA) است که با کراتین فیبری در اپیدرم و ضمامن اپیدرمال ولایه های شاخی شده اپی تلیوم مری رت واکنش می دهد. ابتدا کیت AKA-IFA طراحی، حساسیت و ویژگی آن محاسبه می شود سپس شیوع آنتی بادی را در بیماران آرتریت روماتوئید (RF) بررسی و در پایان نتایج AKA با نتایج آزمایش RF مقایسه شد.

مواد و روش‌ها: با استفاده از آنتی ژن‌های پروتئینی لایه شاخی مری رت و استفاده از آنتی هیومن IgG کونژوگه به ماده فلورسنت، کیت AKA طراحی گردید. برای سنجش حساسیت و ویژگی کیت، ۵۲ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید با استفاده از معیار کالج روماتولوژی امریکا با میانگین سنی $58/10 \pm 48/0$ انتخاب شد و نتایج آزمایش AKA در آنها با گروه کنترل بیمار (۲۳ بیمار مبتلا به بیماری‌های روماتیسمی و غیر مبتلا به آرتریت روماتوئید) با میانگین سنی $32/5 \pm 16/9$ و گروه کنترل سالم ۳۰ نفر با میانگین سنی $32/1 \pm 16/9$ مورد مقایسه قرار گرفت. جهت تعیین دقت کیت، روش Inter assay و Intra assay مورد استفاده قرار گرفت. RF بیماران بررسی و نتایج آن با نتایج AKA طراحی شده مقایسه گردید.

یافته‌ها: از ۵۲ بیمار آرتریت روماتوئید، ۳۹ مورد (۷۵ درصد) و در گروه کنترل بیمار ۳ مورد (۱۳ درصد) و در گروه کنترل سالم ۱ مورد (۳/۳ درصد) AKA مثبت بودند. کیت طراحی شده AKA از دقت ۱۰۰ درصد به روش inter assay و ۹۸ درصد به روش intra assay برخوردار بوده و حساسیت و ویژگی تست AKA در رقت ۱/۱۰ سرم به ترتیب ۷۵ و ۹۲/۵ درصد بود. در حالی که حساسیت و ویژگی RF به ترتیب ۸۸/۵ و ۸۶/۸ درصد محاسبه شد.

استنتاج: نتایج نشان داد، بهترین حساسیت و ویژگی آزمایش برای بیماران آرتریت روماتوئید، تیتراژ $\frac{1}{11}$ است به عبارتی رقت $\frac{1}{11}$ به عنوان حداقل تیتراژ معنی دار (Cut off) در تشخیص و تایید آرتریت روماتوئید می باشد و با توجه به دقت کیت طراحی شده، سنجش AKA- IFA دارای اعتبار علمی بالایی در تشخیص و تایید بیماری آرتریت روماتوئید می باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی کراتین آنتی بادی، آرتریت روماتوئید، ایمونوفلورسانس.

* ساری: بلوار خزر - روبه روی انبار برق - دانشکده پزشکی
*** فوق تخصص روماتولوژی عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
***** کارشناس ارشد پرستاری دانشگاه علوم پزشکی مشهد

* کارشناس ارشد ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
** متخصص ایمونولوژی عضو هیئت علمی (دانشیار) دانشگاه علوم پزشکی مشهد
*** کارشناس ارشد ایمونولوژی عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
***** کارشناس ارشد قارچ شناسی انستیتو پاستور تهران

E تاریخ دریافت: ۸۳/۴/۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۳/۸/۱۹ تاریخ تصویب: ۸۴/۱/۲۴

مقدمه

بنابراین می‌تواند یک نشان‌گر برای بیماری فعال‌تر و شدیدتر باشد (۹).

اخیرا این آنتی‌بادی در مایعات سینوویال مفاصل بیماران آرتریت روماتوئید با غلظت بیش‌تری نسبت به سرم شناسایی شد که عقیده بر این است که آنتی‌بادی ممکن است به طور لوکال سنتز شده و در قسمتی از پاتوژنز سینوویت RA نقش داشته باشد (۱۸). حضور این آنتی‌بادی مستقل از سن، جنس و طول مدت بیماری بوده (۲) ولی با حضور فاکتور روماتوئید (RF) در ارتباط می‌باشد (۱۰ و ۲).

AKA یک نشان‌گر اختصاصی آرتریت روماتوئید محسوب می‌شود اگرچه که حساسیت آن کم‌تر از فاکتور روماتوئید می‌باشد (۲۱-۱۹).

AKA علاوه بر بیماری آرتریت روماتوئید در نمونه‌های سرم بیماران با نارسایی‌های روماتیسمی دیگر مانند لوپوس، اسکرودرماتیسستمیک، اسپوندیلیت انکیلوزانت و حتی در موارد سالم نیز دیده شده است (۱۱ و ۵ و ۹ و ۴). این آنتی‌بادی هم‌چنین در آرتریت روماتوئید با تست RF منفی نیز دیده شده و میزان شیوع آن ۱/۳ موارد RF⁺ می‌باشد (۵). تحقیقات زیادی از زمان شناسایی این آنتی‌بادی صورت گرفته و محققین بر اساس تست AKA آرتریت روماتوئید را تشخیص داده‌اند (۷ و ۵).

روش تشخیص AKA ایمونوبلاتینگ و روش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم می‌باشد که ما از تکنیک ایمونوفلورسانس غیر مستقیم برای ارزیابی شیوع آنتی‌بادی AKA استفاده نمودیم. از آنجا که در کشور ما تست AKA برای تشخیص بیماری انجام نمی‌شود با طراحی کیت تشخیصی AKA بعد از ارزیابی حساسیت

بیماری آرتریت روماتوئید (RA)^۱ نوعی بیماری اتوایمیون روماتیسمی و سیستمیک است. در این بیماری، اتوآنتی‌بادی‌هایی کشف شده‌اند هرچند نقش آن‌ها در پاتوژنز بیماری مشخص نیست اما از نظر تشخیص، پیش‌آگهی یا برآورد شدت بیماری با ارزش می‌باشند. رایج‌ترین این اتوآنتی‌بادی‌ها، فاکتور روماتوئید (RF)^۲ می‌باشد. در حال حاضر تست سرولوژیکی متداول برای تشخیص بیماری آرتریت روماتوئید تست RF می‌باشد که علی‌رغم حساسیت بالا، از نظر تشخیص اختصاصی نمی‌باشد و از طرفی بیماران آرتریت روماتوئیدی با تست RF منفی کاذب نیز یافت می‌شوند. بنابراین استفاده از یک نشان‌گر سرولوژیکی دیگر برای آرتریت روماتوئید مفید خواهد بود و آن آنتی‌کراتین آنتی‌بادی (AKA)^۳ می‌باشد. این آنتی‌بادی با کراتین (پروتئین‌های غیر قابل حل فیبری که در اپیدرم، ضمام اپیدرمال یافت می‌شود و جزء تشکیل‌دهنده عمده، لایه شاخی پوست می‌باشد و در لایه‌های سطحی شاخی شده اپی‌تلیوم مری رت نیز حضور دارد) متصل می‌شود (۱۰ و ۲). حضور AKA در سرم برخی از بیماران آرتریت روماتوئید اولین بار به وسیله Young و همکاران (۱۹۷۹) گزارش شد (۱۰ و ۳). AKA غالباً از کلاس IgG بوده (۴) و فقط AKA کلاس IgG اختصاصی برای RA می‌باشد (۳). AKA دارای حساسیت ۸۰ - ۳۳ درصد (۱۱-۲۵ و ۱) و ویژگی بالای ۱۰۰ - ۷۸ درصد می‌باشد (۸ و ۱۰) که به عنوان یک نشان‌گر سرولوژیکی مناسب برای تشخیص و پیش‌آگهی بیماری آرتریت روماتوئید محسوب شده (۱۰ و ۵) با شدت و فعالیت بیماری ارتباط دارد (۱۲ و ۱۰) و در آرتریت روماتوئید اولیه و حتی قبل از شروع علائم کلینیکی حضور می‌یابد (۱۷-۱۳ و ۹)

1- RA Rheumatoid Arthritis

2- RF: Rheumatoid Factor

3- AKA: Anti Keratin Antibody

الف: روش تهیه سوبسترای آنتی ژن. برای تهیه مقاطع انجمادی مری رت، ابتدا حیوان با کلروفورم بیهوش و مری حیوان را جدا نموده و توسط میکروتوم انجمادی از قسمت ثلث میانی مری مقاطع انجمادی تهیه و از آن برش هایی به ضخامت $3-4 \text{ mm}$ - پیکومیم تهیه و به روی لام فلورسنت منتقل شد و لام های آماده شده در فریزر -70 درجه سانتی گراد ذخیره شدند. پس از کالیبراسیون آنتی هیومن IgG کونژوگه به FITC شرکت DAKO مطابق روش استاندارد، آزمایش بر روی سرم های سه گروه مورد مطالعه انجام گردید.

ب: مراحل انجام تست AKA به روش IFA

۱- افزودن رقت های مختلف سرم به مقدار $I 10, 2$ - انکوباسیون مرطوب (به مدت ۹۰ دقیقه)، ۳- شستشو با بافر فسفات سالین (PBS) سه مرتبه، ۴ - افزودن آنتی هیومن کونژوگه $I 10, 5$ - انکوباسیون در تاریکی (به مدت ۳۰ دقیقه)، ۶- شستشو با PBS سه مرتبه و ۷- بررسی با میکروسکوپ ایمنو فلورسنت.

برای تعیین دقت کیت پایه ریزی شده برای سنجش AKA به دو روش inter assay و intra assay عمل شد.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

جهت توصیف مشخصات نمونه های پژوهش از آمار توصیفی شامل جداول توزیع فراوانی، نمودار، میانگین و انحراف معیار استفاده شد. درصد حساسیت و ویژگی تست مطالعه شد. برای تعیین ارتباط غلظت AKA با شدت بیماری، ظرفیت عملی بیمار و ابتلای خارج مفصلی از آزمون آماری Tau a kendall و جهت بررسی ارتباط غلظت AKA با شاخص های سن، سن شروع بیماری و طول مدت بیماری از آزمون ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. همچنین جهت تعیین ارتباط ظهور AKA با جنسیت و ظهور RF با بیماری آرتريت روماتوئید آزمون آماری کای دو مورد استفاده قرار گرفت. در تمام آزمون های انجام شده ضریب

و ویژگی آن، AKA در بیماران مبتلا به آرتريت روماتوئید، گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم تعیین گردیده و نتایج آن با آزمایش RF مقایسه شد.

RA: Rheumatoid Arthritis RF:
Rheumatoid Factor AKA: Anti Keratin Antibody

مواد و روش ها

پژوهش بر روی ۵۲ بیمار آرتريت روماتوئید بر اساس معیارهای تشخیصی کالج روماتولوژی آمریکا (ACR)^۱ با میانگین سنی $58 \pm 15/8$ سال انجام شد بدین منظور پرسشنامه ای مشتمل بر سوالات مربوط به تشخیص بیماری و 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 می باشد) تدوین گردید. شدت بیماری به سه درجه خفیف، متوسط و شدید (۲۲) همچنین ظرفیت عملی بیمار به چهار گروه؛ ۱- طبیعی، ۲ - اختلال متوسط، ۳- اختلال شدید ۴- عدم قدرت تحرک، طبقه بندی شد (۲۳).

گروه کنترل بیمار (بیماران مبتلا به بیماری های روماتیسمی و غیر مبتلا به آرتريت روماتوئید) ۲۳ نفر با میانگین سنی $32/5 \pm 16/9$ و گروه کنترل سالم (که هیچ گونه علامت بالینی بیماری روماتیسمی نداشته) با میانگین سنی $32/1 \pm 16/9$ بودند که از نظر تیترا AKA و تست RF - latex مورد بررسی قرار گرفتند.

پس از خون گیری، سرم گروه های مورد آزمایش جدا و تا جمع آوری کامل نمونه ها در فریزر -20 درجه سانتی گراد نگهداری شد.

روش پایه ریزی آزمایش AKA - IFA

1- American College of Rheumatology

۱/۱۰ حساسیت تست ۷۵ درصد و ویژگی آن ۹۲/۵ درصد بود. در تیتراهای بعدی هرچه ویژگی تست افزایش می‌یافت، حساسیت به مقدار زیادی کاهش پیدا کرد، جدول شماره ۱.

جدول شماره ۱: مقایسه حساسیت و ویژگی تست AKA برای تیتراهای مختلف در بیماران آرتریت روماتوئید.

ویژگی (درصد)	حساسیت (درصد)	غلظت	در AKA ⁺ موارد گروه های کنترل	در بیماران آرتریت روماتوئید
۹۲/۵	۷۵	$\frac{1}{10}$	۴	۵
۱۰۰	۶۵/۴	$\frac{1}{20}$	-	۱۰
۱۰۰	۴۶/۲	$\frac{1}{40}$	-	۸
۱۰۰	۳۰/۸	$\frac{1}{80}$	-	۱۱
۱۰۰	۹/۶	$\frac{1}{160}$	-	۴
۱۰۰	۱/۹	$\frac{1}{330}$	-	۱

آزمون‌های آماری نشان داد در بیماران آرتریت روماتوئید، بین غلظت سرمی AKA و شدت بیماری، ارتباط معنی‌دار وجود دارد ($P=0.0321$)، جدول شماره ۲. چنان‌که نمودار شماره ۱ نشان می‌دهد بین غلظت سرمی AKA و ظرفیت عملی بیمار رابطه معنی‌دار وجود دارد ($P=0.035$). ولی بین غلظت سرمی AKA و ابتلای خارج مفصلی سن، سن شروع بیماری و طول مدت بیماری ارتباط معنی‌دار وجود ندارد، نمودار شماره ۲. در رابطه با ارتباط AKA با جنسیت در بیماران آرتریت روماتوئید، از ۳۹ بیمار AKA⁺، ۳۲ مورد (۸۲/۱ درصد) مونث و ۷ مورد (۱۷/۹ درصد) مذکر بودند و از ۱۳ بیمار AKA⁻، ۸ نفر (۶۱/۵ درصد) مونث و ۵ نفر (۳۸/۵ درصد) مذکر بودند. بنابراین بین ظهور AKA و جنسیت، ارتباط معنی‌دار وجود ندارد. نتایج آزمایش RF نشان داد که از ۵۲ بیمار مبتلا به آرتریت

اطمینان ۹۵ درصد در سطح معنی‌دار حداقل $\alpha = 0.05$ مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

در سه گروه نمونه‌ها از ۵۲ بیمار آرتریت روماتوئید ۴۰ نفر مونث (۷۶/۹ درصد) و ۱۲ نفر مذکر (۲۳/۱ درصد) و در گروه کنترل بیمار از ۲۳ نفر، ۱۳ نفر مونث (۵۶/۵ درصد) و ۱۰ نفر مذکر (۴۳/۵ درصد) و در گروه کنترل سالم از ۳۰ بیمار ۱۸ نفر مونث (۶۰ درصد) و ۱۲ نفر مذکر (۴۰ درصد) بودند. نتایج نشان داد یعنی گروه‌ها از نظر جنسیت همگن بودند. هم چنین میانگین سن بیماران گروه آرتریت روماتوئید 48.1 ± 15.8 ، گروه کنترل بیمار 46.9 ± 32.5 و گروه کنترل سالم 46.9 ± 32.1 سال بوده و میانگین سنی در سه گروه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشت. ($P < 0.05$). و نیز در گروه بیماران آرتریت روماتوئید اکثر نمونه‌ها در رده سنی ۳۰ تا ۶۰ سال (۶۱/۵ درصد) ولی در گروه‌های کنترل بیمار و سالم اکثر نمونه‌ها در رده سنی کم‌تر از ۳۰ سال (به ترتیب ۴۷/۶ و ۶۰ درصد) بودند تجزیه و تحلیل آماری نشان داد سه گروه از نظر رده سنی همگن نبودند ($P < 0.05$).

در توزیع فراوانی نمونه‌ها بر حسب نتیجه آزمون AKA از ۵۲ بیمار آرتریت روماتوئید ۳۹ نفر (۷۵ درصد) AKA⁺ و در گروه کنترل بیمار از ۲۳ نفر، ۳ نفر (۱۳ درصد) AKA⁺ و در گروه کنترل سالم از ۳۰ نفر، ۱ نفر (۳/۳ درصد) AKA⁺ بودند. براساس نتایج، بین AKA و ابتلا به آرتریت روماتوئید ارتباط معنی‌دار وجود داشت ($P < 0.0001$).

مقایسه حساسیت و ویژگی تست AKA برای تیتراهای مختلف در بیماران آرتریت روماتوئید، در تیترا

روماتوئید، ۴۶ نفر، (۸۸/۵ درصد) دارای RF⁺ و از کلاس IgM و از ۲۳ مورد کنترل بیمار ۵ مورد (۲۱/۷ درصد) دارای RF⁺ و از ۳۰ مورد کنترل سالم، ۳ مورد جدول شماره ۲: ارتباط غلظت AKA با شدت بیماری آرتریت روماتوئید

(۱۰ درصد) دارای RF⁺ بودند، جدول شماره ۳. بین نتیجه آزمون RF و ابتلا به آرتریت روماتوئید ارتباط معنی دار وجود دارد. ($P < 0.0001$)، جدول شماره ۳.

AKA	شدت بیماری			
	خفیف تعداد(درصد))	متوسط تعداد(درصد)	شدید تعداد(درصد)	جمع تعداد(درصد)
۰	۲(۲۵)	۸(۲۷/۶)	۳(۲۰)	۱۳(۲۵)
$\frac{1}{10}$	۳(۳۷/۶)	۲(۶/۹)	-	۵(۹/۶)
$\frac{1}{20}$	۱(۱۲/۵)	۶(۲۰/۷)	۳(۲۰)	۱۰(۱۹/۲)
$-\frac{1}{40}$	۱(۱۲/۵)	۶(۲۰/۷)	۱(۶/۷)	۸(۱۵/۴)
$\frac{1}{80}$	۱(۱۲/۵)	۴(۱۳/۸)	۶(۴۰)	۱۱(۲۱/۲)
$\frac{1}{160}$	-	۲(۶/۹)	۲(۱۳/۳)	۴(۷/۷)
$\frac{1}{320}$	-	۱(۳/۴)	-	۱(۱/۹)
جمع	۸(۱۵/۴)	۲۹(۵۵/۸)	۱۵(۲۸/۸)	۵۲(۱۰۰)

درارزیابی شاخص‌های مربوط به اعتبار آزمون‌های AKA - IFA و RF - Latex در تشخیص بیماری آرتریت روماتوئید، آزمون RF حساسیت بالاتری (۸۸/۵ درصد) در مقایسه با آزمون AKA (۷۵ درصد) نشان داد ولی ویژگی آن (۸۶/۸ درصد) کم‌تر از آزمون AKA (۹۲/۵ درصد) بود. جهت تعیین دقت کیت طرح ریزی شده برای سنجش AKA، دو روش intra assay و Inter assay انجام شد که میزان دقت ۱۰۰ درصد در روش intra assay و ۹۸ درصد در روش inter assay به دست آمد.

جدول شماره ۳: نتایج آزمایش آرتریت روماتوئید نمونه‌های مورد پژوهش

نتایج RF	گروه مورد آزمایش			
	آرتریت روماتوئید تعداد(درصد)	کنترل بیمار تعداد(درصد)	کنترل سالم تعداد(درصد)	جمع تعداد(درصد)
منفی	۶(۱۱/۵)	۱۸(۷۷/۳)	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)

بیمار صورت گرفت این ارتباط مشاهده شد (۱) تفاوت نتایج ممکن است ناشی از تعداد بیش‌تر بیمار در مطالعات دیگر باشد.

در ارزیابی شاخص‌های مربوط به اعتبار آزمون‌های RF - latex و AKA - IFA در تشخیص بیماری RA، ملاحظه شد که آزمون RF حساسیت بالاتری (۸۸/۵ درصد) در مقایسه با آزمون AKA (۷۵ درصد) داشته ولی ویژگی آن (۸۶/۸ درصد) کم‌تر از آزمون AKA (۹۲/۵ درصد) می‌باشد که با نتایج سایر مطالعات انجام شده هم‌خوانی دارد (۲۱-۱۹). آزمون AKA - IFA، آزمون تاییدی مناسب‌تر و اختصاصی‌تری برای تشخیص بیماری RA است و مطالعات دیگر محققین نیز موید این نکته می‌باشد (۱۹ و ۱۱).

در این بررسی در گروه بیماران آرتریت روماتوئید، نسبت افراد مونث 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 (۲۴). هم‌چنین بیش‌تر این بیماران در رده سنی ۶۰-۳۰ سال بودند (۶۱/۵ درصد) که با نتایج بررسی‌های دیگر مطابقت دارد (۲۴). ارتباط معنی‌داری بین غلظت AKA با سن، سن شروع بیماری مشاهده نشد. و غلظت AKA مستقل از جنسیت و طول مدت بیماری بود. این یافته در نتایج سایر مطالعات نیز نشان داده شده است (۱۸ و ۶ و ۲).

باتوجه به نتایج، بهترین حساسیت و ویژگی آزمایش برای بیماران آرتریت روماتوئید، تیتراژ $\frac{1}{10}$ بوده، یعنی رقت $\frac{1}{10}$ به عنوان یا حداقل تیتراژ معنی‌دار (cut off) در تشخیص و تایید بیماری آرتریت روماتوئید می‌باشد و با توجه به دقت کیت طراحی شده، سنجش IFA - AKA دارای اعتبار علمی بالایی در تشخیص و تایید بیماری آرتریت روماتوئید می‌باشد.

۳۳(۲۷/۹)	۰	۱(۴/۳۴)	۲۲(۴۷/۳)	+۳
۷(۶/۷)	۰	۰	۷(۱۳/۵)	+۴
۱۰۵(۱۰۰)	۳۰(۲۸/۶)	۲۳(۲۱/۹)	۵۲(۴۹/۵)	کل

Chisquare: $\lambda^2 = 65.3$

RF=8

P<0.0001

بحث

با توجه به حساسیت و ویژگی آزمایش AKA در تیتراژهای مختلف در بیماران آرتریت روماتوئید، تیتراژ ۱/۱۰ به عنوان حداقل تیتراژ معنی‌دار (cut off) محاسبه گردید. زیرا در تیتراژ ۱/۱۰ حساسیت آزمون ۷۵ درصد و ویژگی آن ۹۲/۵ درصد می‌باشد ولی در تیتراژهای بعدی با وجود ویژگی بالای AKA، حساسیت آن کاهش می‌یابد. محققین در مطالعات خود حساسیت آزمون را ۸۰-۳۳ درصد (۱۱-۵ و ۲ و ۱) و ویژگی آن را ۱۰۰-۸۷ درصد (۱۰ و ۸ و ۶) گزارش نموده‌اند. این آنتی‌بادی نشان‌گر سرولوژیکی معتبر برای پیش‌آگهی و تشخیص بیماری آرتریت روماتوئید می‌باشد (۱۷ و ۱۶ و ۵) نتایج این تحقیق نیز این یافته‌ها را تایید می‌کند.

غلظت سرمی AKA با شدت بیماری در بیماران RA مورد مطالعه ارتباط معنی‌دار داشت. با افزایش غلظت AKA فرم خفیف بیماری مشاهده نمی‌شد اما فرم متوسط و شدید بیماری آشکار می‌شد. نتایج سایر مطالعات نیز موید این نکته می‌باشد (۳-۱). هم‌چنین بین غلظت سرمی AKA با ظرفیت عملی بیمار ارتباط معنی‌دار مشاهده نشد که با مطالعات دیگر که بر روی بیماران RA صورت گرفته، هم‌خوانی دارد (۱). هم‌چنین در بیماران آرتریت روماتوئید مورد مطالعه، بین غلظت سرمی AKA با ابتلای خارج مفصلی ارتباط معنی‌دار مشاهده نشد اگرچه در بررسی که بر روی ۲۰۴ و ۹۶

فهرست منابع

1. HaJiroussou. V, shingle. J, gillett. A. P, webley. M. significance of Antikeratin

Antibodies in Rheumatoid Arthritis. J - Rheumatol 1985; 12: 57 - 59.

2. Kristein. H, Mathiesen . F.K. Antikeratin Antibodies in Rheumatoid Arthritis. Scand – J – **Rheumatology**. 1987; 16: 331 – 337.
3. Youinou. P, Serre. G. The Antiperinuclear Factor and Antikeratin Antibody system. **Int – Arch – Allergy Immunol**. 1995; 107: 508 – 518.
4. Kataaha. P.K, Mortazavi – Milani. S.M, Russel. G, Holborow. E.J, et al. Anti – intermediated filament antibodies, Antikeratin Antibody and Antiperinuclear Factor in Rheumatoid Arthritis and infectious mono nucleosis. **Annals of Rheumatic diseases**. 1985; 44: 446 – 449.
5. Aho. K, Palusuo. T, Kuri. P. Marker antibodies of Rheumatoid Arthritis: Diagnostic and pathogenetic implicans. **Semin – Arthritis – Rheum**. 1994. Jun; 23 (6): 379 – 87.
6. Girbal. E, sebbag. M, Gomes. D.V, Simmon. M, Vincent. C, serre. G. characterisation of the rat oesophagus epithelium anthigens defined by the so – called antikeratin antibodies, specific for Rheumatoid Arthritis. **Annals of Rheumatic Diseases**. 1993; 52 (10): 749 – 757.
7. Henry.J. B. **Rheumatoid Arthritis**. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 1996; 19 Edition: 1019 – 1020.
8. Lefkovits. I. **Diagnostic Auto Antibodies in Rheumatoid Arthritis**. Immunology methods manual the comprehensive source book of techniques. 1996 August; 3: 1611- 1616.
9. Paimela . L, Gripenberg. M, kurki. P, Leirisalo. R.M. Antikeratin Antibodies: Diagnostic and prognostic markers for early Rheumatoid Arthritis. **Annals of the Rheumatic Disease**. 1992;51(6):743– 746.
10. Sebbag. M, simon . M, Vincent.C, Bessiere. C.M, Girbal. E, Durieux . J. J. The Antiperinuclear factor and the so – called Antikeratin Antibodies are the same Rheumatoid Arthritis Specific Auto Antibodies. **J– clin– invest**. 1995. Jun; 95: 2672 – 2679.
11. Youniou. P, Goff. P.L.E, colaco C.B. Thivolet. J, Tater. D, Viac. J. Antikeratin Antibodies in serum and synovial Fluid show Specificity for Rheumatoid Arthritis in a study of connective tissue diseases. **Annals of the Rheumatic Diseases**. 1985; 44: 450 – 454.
12. Von –Essen. R, Kurki. P, Isomaki. H. prospect for an additional laboratory criterion for Rheumatoid Arthritis. **Scand–J Rheumatol**. 1993;22 (6) : 267 – 272.
13. Aho. K, Von – Essen. R, Kurki. P, palosuo. T , Heliovaara. M. Antikeratin Antibody and Antiperinuclear as Markers for subclinical Rheumatoid disease process.J.**Rheumatol**. 1993;20:1278– 81.
14. Cordonnier. C, Meyer. O. Palazzo. E. Diagnostic Value of Anti – RA 33 antibody, Antiperinuclear Factor, Antinuclear Antibody in carly 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. *Zhonghua Yi Xue za zhi.* 80 (1): 20 – 4.
16. Genevay.S, Hayem. G, Verpillat. P, Meyer. O. An eight year prospective study of outcome prediction by antiperinuclear Factor and antikeratin antibodies at onset of Rheumatoid arthritis. *Ann – Rheum, Dis.* 2002 Aug; 61 (8): 734 – 6.
17. Vencovsky. J, Machacek. S, Sedova. L, Kafkova. J, Gotterova. J, Pesko Rouzickova. S, Auto antibodies can be prognostic markers of an erosive disease early rheumatoid arthritis. *Ann – Rheum – Dis.* 2003 may; 62 (5): 427 – 30.
18. Kristein. H, H Jarvard. K, Hansen. T. M. Antikeratin Antibody in synovial Fluid in Rheumatoid Arthritis. *A PMIS.* 1985 feb 97 (2): 185- 9.
19. Vasiliauskiene. L, Wiik. A, Hoier – madsen. M. pervalence and clinical significance of Antikeratin antibodies serological markers in Lithuanian patients with Rheumatoid Arthritis. *Ann – Rheum– Dis.* 2001 May; 60 (5):459 – 66.
20. Steiner. G, Smolen. J. Auto antibodies in rheumatoid arthriths and their cilinical significance. *Arthritis Res* 2002 April; 4 (2): S₁ – S₅.
21. S. Bas, T.V.Perneger, M.Seitz , J.M.Tiercy, P.Roux-Lombard , P.A.Guerne . Diagnostic tests for rheumatoid arthritis: comparison of anti-cyclic cirullinated Peptide antibodies , antikeratin antibodies and IgM. Rheumatoid factors. *Rhoumatology.* 2002; 41: 809-814.
22. Harris. Clinical Features of Rheumatoid Arthritis in kelley WN, et al (eds) text book of Rheumatology. *Fifthed. Sanders, philadel phia .* 1997. 898 – 932.
23. Hochberg. MC, Chang. R.W, Dwosh. I, lindsey. S, pincus. T, wolfe. F. The American college of Rheumatology 1991 revised criteria for the classification of global. Functional status in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis and Rheumatism.* 1992 May; 35 (5): 498 – 502.
24. Paul. W.E. Auto Immunity and Auto Immune diseases. *Fundamental Immunology.* 1993 (Third edition): 1065. Chapter 30.