

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

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

چکیده

سابقه و هدف : آرتیریت 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 نوکلئر است که با گرانولهای کراتوهیالن سلول‌های مخاطی دهان واکنش می‌دهد. بنابراین ابتدا کیت-APF را طراحی و سپس میزان آنتی بادی را در بیماران آرتیریت روماتوئید برسی نمودیم.

مواد و روش‌ها : طراحی کیت شامل: ۱- شناسایی کننده‌های مناسب؛ ۲- آماده‌سازی سوبسترای آنتی‌زنیک؛ 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 هیون مکلوبولین تام کونژوگه به ماده فلورستن می‌باشد. پس از کالیبراسیون کونژوگه، سنجش APF با رقت‌های $\frac{1}{5}$ و $\frac{1}{1280}$ سه گروه بیماران آرتیریت 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 ($1 \pm 16/9$)] انجام شد.

یافته‌ها : از ۵۲ بیمار آرتیریت 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 بخوردار 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 : با توجه به نتایج، بهترین حساسیت و اختصاصی بودن آزمایش برای بیماران آرتیریت روه ۱ بود، تیتر بود؛ $\frac{1}{5}$ رقت به عنوان Cut off یا حداقل تیتر معنی دار در تشخیص و تایید آرتیریت روماتوئید می‌باشد و با توجه به دقت ۹۸ درصدی کیت طراحی شده سنجش APF-IFFA دارای اعتبار تشخیصی متوسط و تأییدی بالا برای بیماری آرتیریت روماتوئید است. همچنین مقایسه بین گروه‌های مورد آزمایش نشان داد که بین غلظت APF و شدت بیماری ارتباط معنی دار وجود دارد ($P=0.05$)، در حالی که ارتباط معنی دار بین تیتر APF و ابتلای خارج مفصلی، ظرفیت عملی، جنسیت، سن، سن شروع بیماری و مدت بیماری دیده نشد.

واژه‌های کلیدی : آرتیریت روماتوئید، تکنیک آنتی بادی ایمنوفلورسانس

ساری-بلوار خزر-دانشکده پزشکی

* گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

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

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

*** عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

مقدمه

وجود APF در ارتباط با حضور فاکتور روماتویید (۱۷,۵) و ندoluهای روماتویید می‌باشد. این آنتی‌بادی همچنین در بیماران آرتربیت روماتویید 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 آرتربیت 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، مورد استفاده 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 گراتوهیالن نام دارند (۱۰).

این گرانولهای پری‌دویک اسید شیف (PAS)^۳ مثبت بوده و بازوپلیک، رنگ می‌شوند و نوعی پروتئین غیرقابل حل و حساس به انجام داده باشند که آنتی‌ژنیته آنها با روش‌های مختلف فیکس کردن (متانول 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 آرتربیت

بیماری آرتربیت روماتویید (RA)^۱ 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 آرتربیت روماتویید مفید خواهد بود و آن آنتی‌بادی ضد فاکتور پری‌نوکلئر (APF)^۲ 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 (۱۹۶۴) شرح داده شد و اختصاصی بودن آن نیز، برای آرتربیت روماتویید نشان داده شد (۱). این آنتی‌بادی غالباً از کلاس IgG می‌باشد (۲).

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

APF محدود به بیماری آرتربیت روماتویید نمی‌باشد و در بیماری‌های دیگر مانند لوپوس، آسکلرودرمای سیستمیک، سندرم شوگرن (۱۰,۹,۴) و در مونونوکلیوز عفونی (۱۱) و افراد سالم نیز دیده شده است. APF در تشخیص آرتربیت روماتویید اولیه مفید است (۱۲ تا ۱۶) و تست تشخیصی خوبی در معیار تقسیم‌بندی آرتربیت روماتویید 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- درجه‌سانتی گراد ذخیره شدند. و پس از کالیبراسیون آنتی‌هیومن کوئنزوگه به FITC تام، آزمایش بر روی سرمهای سه گروه مورد مطالعه انجام گردید.

ب) مراحل انجام تست *APF* به *IFA* .
۱- افودن رقت‌های مختلف سرم به مقدار ۱۰۱، ۲- انکوباسیون مرطوب (به مدت ۹۰ دقیقه)، ۳- شستشو با PBS (سه مرتبه)، ۴- افودن آنتی‌هیومن کوئنزوگه ۱۰۸، ۵- انکوباسیون در تاریکی (به مدت ۳۰ دقیقه)، ۶- شستشو با PBS (سه مرتبه)، و ۷- بررسی با میکروسکوپ ایمunoفلورست.

برای تعیین دقت کیت پایه‌ریزی شده برای سنجش *APF* به دو روش *intra assay* و *inter 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 ضربی همبستگی پیرسون استفاده شد. برای تعیین ارتباط ظهور *APF* با جنسیت و ظهور *RF*^۱ با بیماری آرتربیت روماتویید، آزمون آماری کایدو مورد استفاده قرار گرفت. در تمام آزمون‌های انجام شده ضربی اطمینان

روماتویید براساس معیار کالج روماتولوژی آمریکا (ACR)^۲ با میانگین سنی 48.0 ± 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-قلی، کلیوی، گوارشی، اسپلنوگالی 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 آرتربیت روماتویید) ۲۳ نفر با میانگین سنی 32.5 ± 16.9 و گروه کنترل سالم ۳۰ نفر با میانگین سنی 32.1 ± 16.9 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 جمع آوری کامل نمونه‌ها در فریزر ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

روش پایه ریزی آزمایش *APF-IFA* :
الف) تهیه سوبسترای آنتی‌ژنی.
بعد از شستشوی دهان، نمونه گیری از سلول‌های اپی‌تیال لایه میانی مخاط دهان از قسمت داخلی گونه‌های فرد دهنده انجام شد و پس از شستشو با بافر فسفات سالین (PBS)^۳ (دوبار)، محلول بافر PT (یکبار) و در آخر با PBS (یک بار)، لام جهت رنگ‌آمیزی PAS از نظر

3. Immuno fluorescent Assay
4. Rheumatoid factor

1. American college of rheumatology
2. Phosphate buffer salin

بین بروز APF و ابتلاء به آرتربیت روماتویید ارتباط معنی دار وجود دارد ($P<0.0001$).

در مقایسه حساسیت و اختصاصی بودن تست با APF برای تیترهای مختلف در بیماران آرتربیت روماتویید، در تیتر $\frac{1}{9}$ حساسیت آزمایش $71/2$ (درصد) و اختصاصی بودن آن $94/3$ (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 آرتربیت روماتویید (RA)

اختصاصی بودن	حساسیت	غلظت	موارد در APF+ بیماران RA	موارد در APF- گروههای کنترل
$94/3$	$71/2$	$\frac{1}{9}$	۳۷	۳
$94/3$	$57/7$	$\frac{1}{11}$	۳۰	۳
$98/1$	$34/6$	$\frac{1}{20}$	۱۸	۱
$98/1$	25	$\frac{1}{40}$	۱۳	۱
$98/1$	$15/4$	$\frac{1}{80}$	۸	۶
۱۰۰	$9/6$	$\frac{1}{160}$	۵	-
۱۰۰	$2/9$	$\frac{1}{320}$	۲	-
۱۰۰	$2/9$	$\frac{1}{640}$	۲	-
۱۰۰	$1/9$	$\frac{1}{1280}$	۱	-

آزمون‌های آماری نشان داد در بیماران آرتربیت روماتویید، بین غلظت سرمی APF و شدت بیماری، ارتباط معنی دار 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، شروع بیماری و طول مدت بیماری، رابطه معنی دار وجود ندارد.

۹۵ درصد در سطح معنی دار حداقل $\alpha=0.05$ مدنظر قرار گرفت.

یافته ها

در توزیع فراوانی افراد مورد مطالعه بر حسب جنسیت، در سه گروه بیماران آرتربیت روماتویید، گروه کنترل بیمار و گروه کنترل سالم، از 52 بیمار آرتربیت روماتویید 40 نفر مؤنث ($76/9$ درصد) و 12 نفر مذکور ($23/1$ درصد) بودند و در گروه کنترل بیمار از 23 نفر، 13 نفر مؤنث ($56/5$ درصد) و 10 نفر مذکور ($43/5$ درصد) و در گروه کنترل سالم از 30 بیمار 18 نفر مؤنث (60 درصد) و 12 نفر مذکور (40 درصد) بودند. براساس نتایج، بین گروه‌ها و جنسیت ارتباط معنی دار وجود ندارد. همچنین گروه‌ها از نظر جنسیت همگن می‌باشدند. همچنین میانگین سن بیماران آرتربیت روماتویید $48/0 \pm 10/8$ ، گروه کنترل بیمار $16/9 \pm 32/5$ و گروه کنترل سالم $16/9 \pm 32/1$ بوده که میانگین سنی در سه گروه با یکدیگر اختلاف معنی دار دارد ($P<0.05$). همچنین گروه‌ها به سه رده سنی کمتر از 30 سال، 30 تا 60 سال و بیشتر از 60 سال تقسیم شدند. در گروه بیمار آرتربیت روماتویید بیشترین افراد در رده سنی 30 تا 60 سال بودند ($61/5$ درصد) ولی در گروه‌های کنترل بیمار و سالم بیشترین افراد در رده سنی کمتر از 30 سال بودند که به ترتیب معادل $47/6$ و 60 درصد می‌باشدند. 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 52 بیمار آرتربیت روماتویید، گروه 37 نفر ($71/2$ درصد) APF+ و در گروه کنترل بیمار از 23 نفر، 2 نفر ($8/7$ درصد) APF+ و در گروه کنترل سالم از 30 نفر، 1 نفر ($3/3$ درصد) APF+ بودند. براساس نتایج،

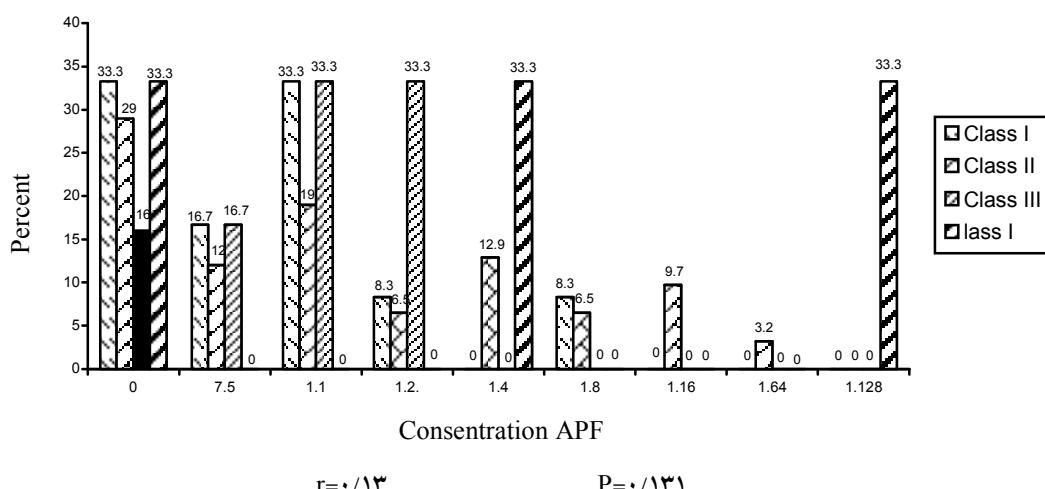
درارتباط ظهور APF با جنسیت در بیماران آرتربیت روماتویید، از ۳۷ بیمار⁺ APF⁺، ۳۰ مورد (۸۱ درصد) مؤنث و ۷ مورد (۱۹ درصد) مذکر بوده‌اند و از ۱۵ بیمار⁻ APF⁻، ۱۰ مورد (۶۶/۷) مؤنث و ۵ مورد (۳۳/۳) درصد مذکر بودند. براساس نتایج، بین ظهور APF و جنسیت، ارتباط معنی دار وجود ندارد.

در ارتباط ظهور RF با ابتلای به بیماری آرتربیت روماتویید، از ۵۲ بیمار مبتلا به آرتربیت روماتویید، 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.

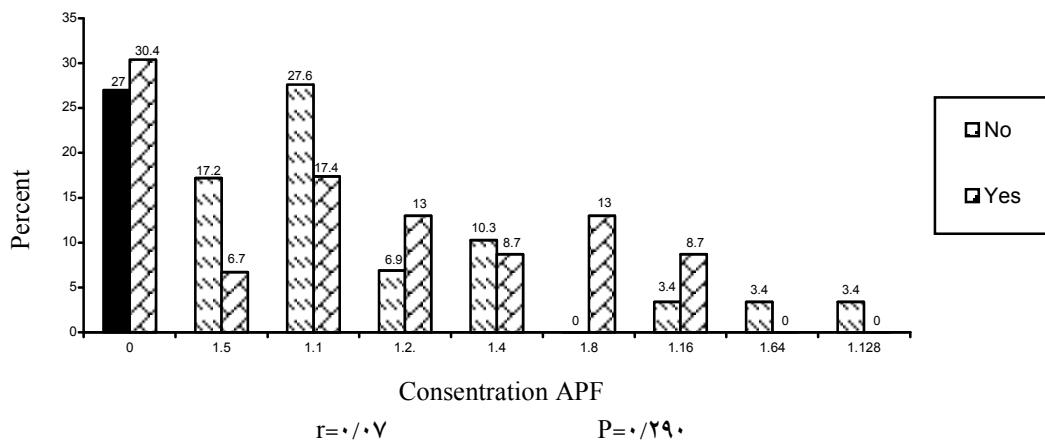
طبق نتایج، بین نتیجه آزمون RF و ابتلا به آرتربیت روماتویید ارتباط معنی دار وجود دارد ($P < 0.0001$) (جدول شماره ۳). در ارزیابی شاخص‌های مربوط به اعتبار آزمون‌های APF-IFA و RF-latex در تشخیص بیماری آرتربیت روماتویید، آزمون RF حساسیت بالاتری (۸۸/۵ درصد) در مقایسه با آزمون APF (۷۱/۲ درصد) نشان داد ولی اختصاصی بودن آن (۸۶/۸ درصد) کمتر از آزمون APF (۹۴/۳ درصد) می‌شدند.

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

شدت بیماری غلظت APF	جمع		خفیف	
	شدید تعداد	متوجه تعداد	شدید تعداد	
	(درصد)	(درصد)	(درصد)	
•	۱۵(۲۸/۸)	۳(۲۰)	۸ (۲۷/۶)	۴ (۵۰)
$\frac{1}{5}$	۷ (۱۳/۵)	۲ (۱۳/۳)	۴ (۱۳/۸)	۱ (۱۲/۵)
$\frac{1}{10}$	۱۲(۲۳/۱)	۳ (۲)	۶ (۲۰/۷)	۳ (۳۷/۵)
$\frac{1}{20}$	۵ (۹/۶)	۳ (۲۰)	۲ (۶/۹)	-(-)
$\frac{1}{40}$	۵ (۹/۶)	۲ (۱۳/۳)	۳ (۱۰/۳)	-(-)
$\frac{1}{80}$	۳ (۵/۸)	۱ (۶/۷)	۲ (۶/۹)	-(-)
$\frac{1}{160}$	۳ (۵/۸)	-(-)	۳ (۱۰/۳)	-(-)
$\frac{1}{320}$	۱ (۱/۹)	-(-)	۱ (۳/۴)	-(-)
$\frac{1}{640}$	۱ (۱/۹)	۱ (۶/۷)	-(-)	-(-)
$\frac{1}{1280}$	۵۲ (۱۰۰)	۱۵(۲۸/۸)	۲۹(۵۰/۸)	۸ (۱۰/۴)



نمودار شماره ۱: ارتباط غلظت APF با ظرفیت عملی بیمار آرتربیت روماتوید.



نمودار شماره ۲: ارتباط غلظت APF با ابتدای خارج مفصلی بیماران آرتربیت روماتوید.

سال بودند (۱۶/۵ درصد) که با نتایج بررسی‌های دیگر مطابقت می‌کند (۲۲).

برای تعیین دقیقیت کیت پایه‌ریزی شده برای سنجش APF، دو روش Inter assay، intra assay و درصد انجام شد که میزان دقیقیت ۹۸ درصد به دست آمد و این نشان دهنده دقیقیت 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 آرتربیت روماتوید، ماتییر $\frac{1}{\theta}$ را به عنوان cut off یا حداقل تیتر معنی‌دار، پیشنهاد می‌کیم. چون در تیتر $\frac{1}{\theta}$ حساسیت آزمایش $71/2$ درصد و اختصاصی بودن آن $94/3$ 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 آرتربیت روماتوید

	آرتربیت روماتوید			RF
	گروه	کنترل بیمار	کنترل سالم	
منفی	۶(۱۱/۵)	۱۸(۷۸/۳)	۲۷(۹۰)	۵۱(۴۸/۶)
+1	۴(۷/۷)	۳(۱۳/۰۴)	۲(۶/۷)	۹(۸/۶)
+2	۱۳(۲۵)	۱(۴/۳۴)	۱(۳/۳)	۱۵(۱۴/۳)
+3	۲۲(۴۲/۳)	۱(۴/۳۴)	۰(۰)	۲۳(۲۱/۹)
+4	۷(۱۳/۵)	۰(۰)	۰(۰)	۷(۶/۷)
کل	۵۲(۴۹/۵)	۲۳(۲۱/۹)	۲۰(۲۸/۶)	۱۰۵(100)

chi-square: $\lambda^2 = 65/3$ DF=8 P<0.0001

بحث

در بررسی انجام شده در گروه بیماران آرتربیت روماتوید مورد مطالعه، نسبت افراد مؤنث به مذکور 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 ۳۰-۶۰

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 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).

پیشنهادات

- ۱- بررسی روش مناسب برای پایداری سوبسترات آنژن سلول‌های مخاط دهانی (پایداری نمونه‌های تهیه شده در ۷۰° به مدت دو هفته می‌باشد).
- ۲- بررسی APF در آرتربیت روماتوید 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 آرتربیت روماتوید اولیه قابل شناسایی است (۱۲, ۱۳, ۱۴, ۱۵, ۱۶) و نشانگری برای بیماری‌های فعلی و شدیدتر می‌باشد. این مطالعه آینده‌نگر برای پی‌بردن آن است که آیا APF در بیماری حضور اولیه وجود دارد و آیا اولیه‌آن می‌تواند پیشرفت بیماری را پیش‌بینی کند.
- ۳- بررسی APF در مایع سینوفیال بیماران آرتربیت روماتوید.

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 (۳, ۴, ۵).

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 (۵/۸۸) در مقایسه با آزمون APF (۲/۷۱) داشته ولی اختصاصی بودن آن (۸/۸۶) درصد) کمتر از آزمون APF (۳/۹۴) درصد) می‌باشد. یعنی آزمون APF-IFA آزمون تأییدی مناسبتر و آزمون اختصاصی‌تری برای تشخیص بیماری است. در یک مطالعه آماری که بر روی ۳۰۸ بیمار RA

فهرست منابع

1. West geest A.A, Boerbooms A.M, Jongmans M, Vandebroucke 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 arthritis. *Rheumatol-Int.* 1995; 15(4): 145-9.
3. Henry JB. Rheumatoid arthritis. 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 techniques. Philadelphia-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, Cattaneo R. Clinical Heterogeneity of rheumatoid arthritis 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 antibody 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 polyarthrtis 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 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 May-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 Hematology. 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.