

تشخیص آزمایشگاهی بیماریهای خود ایمنی روماتیسمی

مقدمه:

بیماریهای خود ایمنی روماتیسمی را بطور کلی می‌توان به دو گروه دسته‌بندی نمود: بیماریهایی که طبیعت آنها سیستمیک و منتشر است (نظیر لوپوس اریتماتوس منتشر، سندروم شوگرن، اسکرودرما، آرتریت روماتوئید، واسکولیت اتوایمون، بیماری مختلط بافت همبند و انواع سندرومهای همپوشان). نوع دوم آنهایی هستند که یک بافت یا اندام مشخص درگیر بیماری هستند (نظیر بیماری تیروئید اتوایمون، میاستنی گراو و بیماریهای پوستی خاص مانند پمفیگوئید بولوس). تشخیص آزمایشگاهی این بیماریها بدلیل تولید انواع اتوانتی‌بادی‌ها که بعضاً بصورت مشترک در بیماریهای مختلف تولید می‌شوند کار ساده‌ای نیست و عدم اطلاع یا استفاده صحیح از تستهای تشخیصی اغلب باعث تشخیص اشتباه می‌گردد. امروزه در سیستم مراقبت‌های بهداشتی جاری دنیا، بسیار مهم است که تست مناسب برای تشخیص بیماریها درخواست و انجام گردد، نه فقط به منظور کاهش هزینه‌های بیماران بلکه از نقطه نظر آزمایشگاهی به منظور افزایش کارایی و کاهش بار کاری پرسنل آزمایشگاهها و جلوگیری از هدر رفتن مواد و کیتها. در این مقاله مروری داریم بر تستهای تشخیصی بیماریهای خود ایمنی روماتیسمی و الگوریتم تشخیصی آنها بعلاوه بحثی در مورد ارزش و کاربرد فناوریهای جدید آزمایشگاهی.

بیماری‌های سیستمیک:

تظاهرات بالینی بیماریهای خودایمن منتشر در عین حال که بسیار پیچیده هستند اما بر اساس رهنمودهای پذیرفته شده‌ای تقسیم‌بندی شده‌اند^(1,2). شایعترین بیماری‌های خودایمن منتشر عبارتند از لوپوس اریتماتوس منتشر، سندروم شوگرن، اسکرودرما، آرتریت روماتوئید، واسکولیت اتوایمون و بیماری مختلط بافت همبند. تظاهرات بالینی این بیماریها بشدت متغیر بوده ممکن است تشدید شده و در برخی موارد با سایر بیماریهای خودایمن تشابهاتی داشته باشد که در مورد اخیر از اصطلاح سندرومهای همپوشان (Overlap Syndromes) استفاده می‌شود⁽³⁾. همانگونه که انتظار می‌رود این سمپتومها طیف وسیعی را از نظر شدت شامل می‌شوند؛ ممکن است بسیار خفیف تا شدید و یا حتی کشنده باشند. درحالی‌که هیچ مکانیسم واحد پاتولوژیکی برای این بیماریها وجود ندارد اما از یک جنبه مشترک هستند و آن تولید اتوانتی‌بادی‌هایی است بر علیه آنتی‌ژنهایی که اختصاص به هیچ اندامی ندارند، این اتوانتی‌بادی‌ها ممکن است بر علیه آنتی‌ژنهای تغییر شکل‌یافته و یا دست نخورده سلول‌های هسته‌دار و یا بر علیه پروتئینهای سرم باشند. اینکه این اتوانتی‌بادی‌ها مولد بیماری هستند و یا متعاقب تخریب بافتی و انتشار عناصر درون سلولی به محیط و یا در اثر هر دو مکانیسم تولید می‌شوند کاملاً روشن نمی‌باشد^(4,5).

1. اتوانتی‌بادهای ضد هسته‌ای Anti Nuclear Antibodies

یکی از تستهای غربالگری اصلی آزمایشگاهی برای تشخیص بیماریهای روماتیسمی منتشر در 4 دهه گذشته آزمایش ANA بوده است (جدول 1). از آنجایی‌که در آزمایش ANA از سوبسترای سلولی نسبتاً کاملی استفاده می‌شود به‌گونه‌ای که بیشتر آنتی‌ژنهای هسته‌ای و سیتوپلاسمی را پوشش می‌دهد، لذا این تست می‌تواند اطلاعات مفیدی در مورد احتمال وجود انواع اتوانتی‌بادیهای دیگر بر علیه اجزاء سلولی به پزشک بدهد و اگر تست به روش ایمونوفلورسانس انجام شده باشد الگوی گزارش شده در تست FANA می‌تواند پزشک را در انتخاب سایر تستها و دستور انجام سایر اتوانتی‌بادی‌ها راهنمایی کند.

علیرغم اینکه ANA در اغلب بیماریهای بافت همبند مثبت است در برخی از بیماریهای غیر خودایمن نیز ممکن است مثبت شود، بیماریهای عفونی نظیر جذام، ایشتاین بار ویروس و هپاتیت ویروسی و یا بیماریهای بدخیمی نظیر لوسمی، لنفوم، ملانوم و سایر تومورهای بافت‌های توپر و بیماری‌هایی نظیر سیروز اولیه مجاری صفراوی از این دست بیماری‌ها هستند. در حقیقت تعداد قابل‌توجهی از افراد سالم نیز دارای تست ANA مثبت هستند، اما تیترا ANA در این افراد سالم و نیز در بیماران غیر بافت همبند به نسبت بیماران بافت همبند پایین‌تر است. تقریباً در 5% افراد طبیعی ANA مثبت است که با افزایش سن به 70 سالگی این عدد به 20% می‌رسد. مصرف داروهایی نظیر ایزونیازید، هیدرالازین، کلروپرومازین، سولفونامیدها، کاپتوپریل، گریزوفولون، کربنات لیتیم، پراکتولول، استازولامید، پنی‌سیلین استرپتومایسین، فنیل بوتازون و پریپیل تیواوراسیل منجر به مثبت شدن ANA می‌شوند. بنابراین وجود یک آزمایش ANA مثبت به تنهایی ارزش تشخیصی نداشته و باید با سایر علائم بالینی همخوانی داشته باشد (7). ضمناً ذکر داروهایی که بیمار در حال مصرف آن می‌باشد در کنار دستور انجام آزمایش ANA می‌تواند کمک شایانی به پزشک آزمایشگاه جهت تسهیل تفسیر تست و یافتن منابع خطا باشد.

تست مثبت قوی ANA در روش فلورسانس تیترا بیش از 180/1 و در روش الیزا اعداد بالای 3 IU/mL یا 30 AU/mL را نشان می‌دهد. طی روند موفق درمان و کاهش فعالیت بیماری‌های روماتیسمی تیترا ANA کاهش می‌یابد و حتی ممکن است منفی شود ولی منفی شدن آن تضمینی برای عدم عود بیماری و مثبت شدن مجدد نمی‌باشد.

جدول 1: درصد احتمال مثبت شدن ANA در انواع بیماریهای بافت همبند و غیر بافت همبند و فهرست آنتی بادی‌های یافت شده در هر بیماری

بیماری‌های بافت همبند	درصد احتمال مثبت شدن تست ANA	آنتی‌بادی‌های یافت شده در هر بیماری	درصد مثبت شدن هر آنتی‌بادی اختصاصی
Systemic Lupus Erythmatosis Active Inactive	95 - 100% 80 - 100%	Ds-DNA	60 - 90%
		ss-DNA	70 - 95%
		RNA	50%
		Histones	95%
		U1-snRNP	30 - 40%
		Sm	20 - 40%
		(SS-A (Ro	20 - 60%
		(SS-B (La	10 - 20%
		(Cyclin(PCNA	3%

		Ku	%10
		rRNP- ribosomal RNP	%10
		Hsp-90	%50
		Cardiolipin	%60 - 40
Medication Induced Lupus Erythmatosis	%100	Anti Histones	%95
		Anti ss-DNA	%60
Sjogren's Syndrome	or %85 - 50	(SS-A (Ro	%95 - 40
	%80 - 70	(SS-B (La	%95 - 40
		ss-DNA	%13
		RNA	%70
		RF	%80 - 60
Rheumatoid Arthritis	or %55 - 25	Histones	%50 - 10
	%40 - 20	ss-DNA	%8
		U1-snRNP	%3
		RNA	%95 - 90
		CCP	%75
		MCV	%80 - 60
		RF	
Cryoglobulinemia	%100 - 40		
Mixed Collagenosis (MCTD, Sharp Syndrome) or	%100	U1-snRNP	%100 - 95
Mixed Connective Tissue Disease		ss-DNA	%50 - 20
Progressive Systemic Sclerosis or	%95 - 85	Fibrillarlin	%10 - 5

Scleroderma		(PM-Scl (PM-1 Scl-70 RNA-Polymerase 1 (RNP (To-2-7 NOR-90 Centrioles or CENP-B	%70 - 50 %75 - 25 %4 Rare Rare only in %90- 80 limited form
Juvenile Arthritis	%22		
& Polymyositis dermatomyositis	%50 - 30	(PM-Scl (PM-1 Jo-1 (Histidyl-tRNA Synthetase Mi-1 Mi-2 Ku ss-DNA PL-7 (Threonyl- (tRNA Synthetase PL-12 (Alanyl- (tRNA Synthetase	%70 - 50 %35 - 25 %10 %5 %50 %50 - 40 %4 %3
Chronically active hepatitis	%40 - 30	ASMA AMA	%90-40 %60-25
Cholitis ulcerosa	%26	pANCA	
Overlap Syndromes	متغير *	Anti PM-Scl or (PM-1	%70-50
Wegner's Granulomatosis		cANCA pANCA	in Systemic %95 in local %65

			pulmonary b in Non %30 Active in local renal %50
--	--	--	---

* مثبت شدن تست در سندرومهای همپوشان بستگی شدید به نوع سندروم همپوشان و نوع بافتهای گرفتار دارد.

در جدول 2 فهرستی از انواع شرایط غیر روماتولوژیک که ممکن است همراه با تست ANA باشند را لیست کرده‌ایم.

جدول 2: شرایط غیر روماتولوژیک که ممکن است همراه با تست مثبت ANA باشند

شرایط غیر روماتولوژیک	انواع
سن بالا	-----
عفونت‌ها	bacterial endocarditis, liver disease, tuberculosis, syphilis, viral infections (especially mumps, rubella and influenza), parasitic diseases
بیماری‌های ریوی	sarcoidosis, interstitial pulmonary fibrosis, silicosis, asbestosis
بیماری‌های متفرقه	primary biliary cirrhosis, malignancy (especially leukemia and colon cancer)

در اسم‌گذاری اتوانتی‌بادی‌ها گاه از خواص بیوشیمیایی آنها استفاده می‌شود (DNA, histones, Ribonucleoproteins; RNP)

گاه از نام بیماری همراه با آن اتوانتی‌بادی استفاده می‌شود (SSA, SSB; Sjogren's syndrome) و یا PM-Scl در Polymyositis و Progressive Systemic Sclerosis

گاهی هم حتی از نام بیمارانی که اولین بار آنتی‌بادی مربوطه را در آنها کشف کرده‌اند استفاده می‌شود (Sm, Ro, La).

پروتئینهای خاص هسته را می‌توان از بافرهای فیزیولوژیک از تیموس و طحال و کشت‌های سلولی استخراج نمود. این دسته از آنتی‌ژن‌های قابل استخراج را ENA یا Extractable Nuclear Antigens می‌نامند. این گروه شامل SS-A, SS-B, Sm, U1-nRNP, ribonucleoproteins می‌باشد.

آنتی‌ژن‌های متعددی هم هستند که در تشخیص بیماری‌های خودایمنی کاربرد دارند اما نه فقط در هسته بلکه در سیتوپلاسم سلولها نیز دیده می‌شوند نظیر ریبونوکلوپروتئین SS-A. علاوه بر آن از سلولهای Hep-2 می‌توان برای تشخیص آنتی‌بادی‌های بر علیه آنتی‌ژنهای سیتوپلاسمیک یا آنتی‌بادی‌های بر علیه آنتی‌ژنهای خاص هنگام میتوز استفاده کرد.

روش‌های آزمایشگاهی موجود برای آزمایش ANA عمدتاً به دو روش فلورسانس غیرمستقیم IFA و ELISA می‌باشند، اینکه کدام روش مورد استفاده قرار بگیرد بسته به الگوی ارجاع پزشک یا مؤسسه پزشکی مربوطه دارد. در مؤسسه‌ای که تعداد زیادی ANA انجام می‌دهند و تعداد موارد مثبت کمی دارند روش ELISA مقرون به صرفه‌تر است و در مؤسسه‌ای که درصد موارد مثبت آنها بیشتر است مثلاً مؤسسات روماتولوژی روش IFA مقرون به صرفه‌تر می‌باشد گرچه اساساً روشهای ایمونوفلورسانس روشهایی هستند که اصطلاحاً سوئزکتیو بوده و تحت‌تأثیر تشخیص فرد گزارشگر می‌باشند لذا استفاده از تکنولوژیستهای بسیار ماهر و نیز انواع کنترل‌های مثبت قوی و ضعیف و منفی در هر سری کاری و گاهی گزارش لامها بطور مستقل توسط دو پرسنل متفاوت برای کاستن اثرات این نقیصه ضروری به نظر می‌رسد. اما روش الیزا این محدودیت‌ها را ندارد بخصوص اگر با استفاده از دستگاه‌های خودکار صورت پذیرد.

اگر ANA به روش ایمونوفلورسانس غیرمستقیم انجام شود به آن FANA می‌گویند و الگوهای رنگ‌آمیزی حاصله در تست‌های مثبت FANA می‌تواند تا حدودی نشان دهد که کدام اتوانتی‌بادی‌ها باعث مثبت شدن تست شده‌اند و لذا قدم بعدی برای انجام‌های تأییدی و تکمیلی کدام می‌باشد.

بعضی از الگوهای یافت شده در روش فلورسانس اختصاصی یک یا چند بیماری بوده ولی اغلب آنها غیر اختصاصی هستند.

رایج‌ترین الگوهای یافت شده شامل:

1. هوموژن یا یکنواخت: مرتبط با لوپوس و بیماری‌های بافت همبند
2. نقطه‌ای یا دانه‌دانه: در ارتباط با اسکرودرما، لوپوس، آرتریت روماتوئید، سندروم شوگرن و بیماری‌های بافت همبند
3. الگوی محیطی: مربوط به لوپوس
4. الگوی هسته‌ای: مربوط به اسکرودرما و پلی‌میوزیت
5. سانترومری: اختصاصی سندروم CREST یا Raynaud's, Calcinosis cutis, Telangiectasias, sclerodactyly and Esophageal dysmotility phenomenon

برای تعیین مقدار سایر آنتی‌بادی‌های یافت‌شده در بیماری‌های روماتیسمی روش ELISA بهترین روش می‌باشد اما بهنگام تهیه کیت باید به حساسیت و ویژگی کیت موردنظر توجه کرد زیرا اگر حساسیت کیت پایین باشد موارد منفی کاذب زیاد گزارش خواهد شد و اگر ویژگی (Specificity) کیت پایین باشد موارد مثبت کاذب زیاد خواهیم داشت. همچنین بکارگیری GLP یا Good Laboratory Practice در انجام آزمایش‌ها منجر به بدست آوردن نتایج مطمئن‌تر در دوره‌های زمانی مختلف خواهد شد و البته استفاده از تکنولوژی‌های روز مانند دستگاه‌های الیزا پرسور اتوماتیک نیز علاوه بر تسریع انجام آزمایشات بر روی یکنواخت شدن زمان‌بندی و انکوباسیون و در نهایت بدست آوردن جوابهای مطمئن‌تر کمک خواهد کرد. آزمایشگاهها برای بدست آوردن نتایج مشابه بهتر است برای هر یک از تست‌ها در نوبت‌های خرید مختلف از کیت‌های یک کمپانی مشخص استفاده کنند تا در صورت تکرار تست یک بیمار که تحت درمان قرار گرفته است تغییرات تیتراژ آنتی‌بادی برای پزشکان قابل تفسیر باشد. همین‌جا مشخص می‌شود که پزشکان نیز باید متوجه باشند که اگر تکرار تست یک بیمار مشخص را بخواهند در آزمایشگاه دیگری که به احتمال قوی با متدولوژی و نیز کیت

دیگری کار می‌کند، انجام دهند تفسیر و مقایسه دو تست مزبور بسیار دشوار و گاهی غیرممکن می‌شود. مثلاً در مورد کیت‌های الایزا برای تست ANA انواع مختلفی وجود دارد، برخی کیت‌ها برای تجسس ANA در سرم بیماران فقط 6 آنتی‌ژن را مورد استفاده قرار داده و برخی دیگر 8 و برخی نیز 10 آنتی‌ژن، بدیهی است که هر قدر تعداد آنتی‌ژن بکار رفته بیشتر باشد احتمال یافتن موارد مثبت ANA افزایش می‌یابد. لذا پیشنهاد می‌شود که آزمایشگاه‌هایی که از روش الایزا برای تجسس ANA استفاده می‌کنند نام آنتی‌ژن‌های موجود در کیت را در برگه گزارش مربوط به ANA هر بیمار قید کنند تا چنانچه پزشک دنبال یافتن آنتی‌بادی اختصاصی خاصی می‌باشد که در لیست مزبور وجود ندارد آن تست را بطور جداگانه درخواست نماید.

2. RF or Rheumatoid Factor and Anti CCP

در حالی‌که ANA را بعنوان تست غربالگری اولیه برای SLE و بیماری‌های مرتبط به آن در نظر می‌گیریم، تست RF یا روماتوئید فاکتور نیز بعنوان تست غربالگری اولیه برای آرتریت روماتوئید می‌باشد⁽²⁾ گرچه بدلیل حساسیت و ویژگی پایین تست، نتیجه منفی آن تشخیص آرتریت روماتوئید را رد نمی‌کند. البته استفاده از روش‌های کمی بخصوص روش حساس نفلومتری می‌تواند تا حدی بر این مشکل فائق آید اما در روش‌های سنتی با استفاده از آگلوتیناسیون لاتکس، 30% موارد آرتریت روماتوئید دارای نتیجه منفی در تست RF می‌باشند. تست جدیدتر Anti CCP یا آنتی‌بادی بر علیه پپتید سیتروولینه مارکری با ویژگی و اختصاصیت بالا برای آرتریت روماتوئید است که در کیت‌های جدید حدود 96% ویژگی و 75% حساسیت دارد. بدین ترتیب در تشخیص زودرس بیماری و هنگامی‌که هنوز RF مثبت نشده است کمک می‌کند. RF یک اتوآنتی‌بادی است که بر علیه ایمونوگلوبولین IgG عمل می‌کند و خودش عمدتاً از گروه IgM است اما کلاس IgG و IgA آن نیز یافت شده‌اند. البته RF را در بیماری‌های دیگری نظیر SLE، سندروم شوگرن، اسکرودرما و پلی‌میوزیت یافت نموده‌اند⁽¹²⁾.

3. Anti dsDNA

مقادیر بالای Anti dsDNA بخصوص اگر همراه با تست ANA مثبت باشد برای قطعی کردن تشخیص SLE اختصاصی می‌باشد، اما فقط 60% بیماران SLE تیترا بالایی از Anti dsDNA را نشان می‌دهند⁽¹⁰⁾. لذا منفی شدن این تست نمی‌تواند گواهی بر رد بیماری SLE باشد. در اغلب موارد مثبت بودن این تست در بیماران لوپوسی همراه است با نفریت لوپوسی و غلظت آن با شدت فعالیت بیماری همبستگی مستقیم دارد.

اندازمگیری Anti dsDNA همراه با C3 اطلاعات خوبی را در سیر پیشرفت بیماری بدست می‌دهد بگونه‌ای که افزایش Anti dsDNA به سطح دو برابر و کاهش C3 طی یک دوره 2 تا 3 ماهه نشانه پیشرفت لوپوس در فاز حاد می‌باشد.

آنتی‌بادی بر علیه DNA تکرشته‌ای یا Anti ssDNA غیر اختصاصی بوده و ارزش تشخیصی بسیار محدودی دارد.

4. Anti Histone

هیستونها پروتئین‌های همراه DNA هستند و نقش آنها تثبیت مارپیچ DNA بوده و گفته می‌شود که در تنظیم بیان ژن نیز ایفای نقش می‌کنند. 5 نوع مختلف هیستون به نام‌های H1, H2A, H2B, H3, H4 تشخیص داده شده‌اند و آنتی‌بادی‌های ضد هیستونها ممکن است بر علیه یک یا چند نوع از آنها باشند.

آنتی‌هیستونها برای لوپوس ناشی از دارو تستی حساس ولی غیر اختصاصی می‌باشند. ارزش این تست برای موافقی است که فرد تست ANA مثبت داشته و سابقه مصرف داروهایی را دارد که می‌تواند باعث لوپوس دارویی شوند نظیر پروکاینامید و ایزونیازید.

5. Anti Small Nuclear Ribonucleoprotein or Anti-snRNP

شامل Anti U3-nRNP/Fibrilarin و Anti-Sm و Anti U1-snRNP

چندین اتوآنتی بادی بر علیه sn-RNP یافت شده که از این بین Anti-Sm یا Anti-Smith اختصاصی برای SLE می‌باشد گرچه فقط در 20 تا 40% این بیماران مثبت می‌گردد⁽¹¹⁾

Anti-U1 snRNP در 30 تا 40% بیماران SLE یافت شده و متناسب با شدت بیماری و ظهور علائمی مانند میوزیت، کمی تحرک مری، اسکروداکتیلی، فنومن رینود، آرترالژی و آرتریت می‌باشد⁽¹¹⁾. علاوه بر آن این آنتی‌بادی را در بیماری مختلط بافت همبند در کسانی که علائم بیماری‌های خودایمن همپوشان را نشان می‌دهند یافت کرده‌اند⁽¹²⁾. آزمایش Anti-U1-snRNP را فقط باید برای کسانی که ANA آنها مثبت بوده ولی بین SLE و بیماری مختلط بافت همبند مشکوک هستیم انجام دهیم که اگر این تست هم مثبت باشد بیماری مختلط بافت همبند و اگر Anti-Sm مثبت باشد SLE خواهد بود. تاریخچه کشف این اتوآنتی‌بادی‌ها برمی‌گردد به سال 1972 که Sharp و همکارانش در بیمارانی که آنها را تحت عنوان Mixed Collagenosis یا Mixed Connective Tissue Diseases یا MCTD یا سندروم شارپ توصیف کردند یافت نموده و متوجه شدند که آنتی‌ژنی که بر علیه آن این آنتی‌بادی تولید می‌شود حاوی RNA و پروتئین است (ریبونوکلئوپروتئین یا RNP) و محل آن در هسته سلول است، بعدها آنتی‌بادی‌هایی که از بیماران SLE جدا شد و از نظر بیوشیمیایی با همان آنتی‌ژن‌ها واکنش می‌داد را Anti-Sm نام نهادند. از آنجایی که وزن مولکولی این RNAها کم بوده و در هسته قرار دارند به آنها Small Nuclear گفته و چون حاوی مقداری زیادی باز اوریدین هستند، آنها را بصورت U-RNA نشان می‌دهند و چون وزن مولکولی آنها از 9 تا 70 کیلودالتون متغیر بوده تاکنون به 6 دسته U1 تا U6 تقسیم نموده‌اند. علاوه بر اختلاف در وزن مولکولی، پروتئین غشایی این مولکولها نیز متفاوت می‌باشد و آنتی‌بادی‌ها اختصاصاً بر علیه اپی‌توپ‌های پروتئینی این مولکولها تولید می‌شوند⁽¹⁷⁾.

وجود و عملکرد این آنتی‌ژن‌ها تنها موقعی کشف شد که آنتی‌بادی‌های مربوطه را کشف نمودند، آنتی‌ژن‌های گروه Un-RNP در واقع pre-mRNA را قیچی کرده و توالی‌های غیر کدکننده (introns) را بیرون کشیده و باعث نمایان شدن قسمت‌های کدکننده (Exons) می‌شوند که در نهایت mRNA را بوجود می‌آورند. قسمت RNA مولکول sn-RNP احتمالاً توالی اختصاصی pre-mRNA را شناسایی کرده و بوسیله جفت شدن بازهای این دو، واکنش قیچی شدن کاتالیز می‌گردد⁽¹⁷⁾.

فیبریلارین پروتئین کوچکی به وزن 34kDa است که در ساختار رشته‌ای هستک قرار دارد که همراه با پنج پروتئین دیگر و U3-nRNA کمپلکسی را تشکیل می‌دهند که کارش تبدیل pre-rRNA به rRNA است. آنتی‌بادی بر علیه این کمپلکس را در 5 تا 10% افراد مبتلا به اسکروز منتشر پیشرونده یا همان اسکرودرما یافت نموده‌اند⁽¹⁷⁾.

6. (Anti SS-B (La & (Anti-SS-A (Ro

هر دو آنتی ژن فوق از گروه آنتی ژن های قابل استخراج هسته ای (ENA) می باشند. نقش SS-A در فعال کردن mRNA جهت روند ترجمه می باشد. در حالی که نقش SS-B بعنوان پروتئین کمکی برای آنزیم RNA polymerase III شناخته شده است، در حین فرآیند رونویسی، SS-B به RNA حاصل چسبیده و بعد از اتمام فرآیند جدا می گردد.

نام این دو آنتی ژن را از بیماری مربوطه به آن یعنی سندروم شوگرن (Sjogren Syndrome) اخذ کرده اند تحت عنوان آنتی ژن های A و B سندروم شوگرن و حروف La و Ro را نیز از نام اولین بیمارانی که این دو آنتی ژن ابتدا در آنها یافت شده گرفته اند.

Anti SS-A را در 40 تا 95% موارد سندروم شوگرن و 20 تا 60% موارد SLE و 20% موارد سیروز اولیه صفراوی و همچنین در هیپاتیت مزمن فعال یافت کرده اند. در موارد SLE وجود این اتوآنتی بادی همراه است با علائم بالینی نظیر راش های پوستی حساس به نور، بیماری ریوی و لنفوپنی در این بیماران⁽¹³⁾.

Anti SS-B را عمدتاً در زنان مبتلا به سندروم شوگرن (40 تا 95%) و 10 تا 20% SLE یافت می کنند. نسبت یافت شدن این آنتی بادی در زنان به مردان 29 به 1 می باشد⁽¹⁶⁾.

از علائم سندروم شوگرن، تخریب پیشرونده غدد اشکی و بزاقی است که منجر به خشکی مخاط و ملتحمه چشم می شود و اگر به تنهایی دیده شود سندروم شوگرن اولیه و اگر همراه با SLE یا سایر بیماری های خودایمن دیده شود سندروم شوگرن ثانویه نام دارد که البته حالت دوم شایع تر است.

7. Anti Ribosome

اگرچه این آنتی بادی فقط در 10 تا 20% موارد SLE مثبت می شود اما برای این بیماری بسیار اختصاصی است. وجود این اتوآنتی بادی همراه است با پسیکوز لوپوسی⁽¹⁵⁾.

8. Anti Centromer or CENP-B or Kinetochores

درست قبل از تقسیم سلول، هر کروموزم شامل دو نیمه شبیه به هم است که کروماتید نامیده می شوند که از ناحیه سانترومر به هم متصل می باشند. هر سانترومر دارای یک kinetochore است که آن را به رشته دوکی که در جریان میتوز تشکیل شده متصل نگاه می دارد و در نهایت هر کروماتید را به طرف سانتریول مربوط به خودش در سلولهای جدید در حال تشکیل می کشد. آنتی ژن هدف آنتی بادی های ضد سانترومر سه دسته هستند که به نامهای Centromer Protein A,B,C نام گذاری می شوند که از همه مهمتر CENP-B است که با تمام سرم های بیمارانی که حاوی Anti Centromer است واکنش می دهد⁽¹⁷⁾.

این آنتی بادی را در 80 تا 95% بیماران مبتلا به اسکلرودرما (نوع محدود) یافت کرده اند⁽¹¹⁾. وجود آن همراه است با علائمی نظیر فنومن رینود، سندروم CREST و درگیری های محدود پوستی⁽⁸⁾. همچنین در برخی موارد سیروز اولیه صفراوی نیز این آنتی بادی را یافت کرده اند. بیماری Systemic Scleroderma یا Progressive Systemic Sclerosis به دو فرم که اغلب به درستی قابل تمایز از یکدیگر نیستند ظاهر می کند. در فرم محدود ابتدا انتهاها درگیر شده و بعد اندامهای داخلی بشدت گرفتار می شوند، که شامل سندروم CREST، کلسینوزیس کوتیس، بیماری رینود، سختی مری، اسکلروداکتیلی و تلانژیکتازی می شود. در فرم منتشر، بیماری ابتدا در دست ها، ساق های پا و تنه بروز می کند. بعد اندامهای داخلی بشدت گرفتار شده و بیماری به سرعت پیشرفت می کند بگونه ای که پروگنوز بیماری ضعیف است⁽¹⁶⁾.

9. Anti Topoisomerase 1 or Anti-Scl-70

آنزیم توپوایزومراز-1 در نوکلئوپلاسم و در غلظت بالاتر در هستک دیده می‌شود. این آنزیم در مراحل همانندسازی و رونویسی مارپیچ DNA نقش بازی می‌کند، بگونه‌ای که زنجیر DNA را قطع می‌کند و خودش به انتهای آزاد آن می‌چسبد و آن قسمتی از DNA که قرار است همانندسازی یا رونویسی شود را چرخانده و به محض اتمام کار از DNA جدا شده و دو رشته به هم متصل می‌شوند⁽¹⁷⁾.

آنتی‌بادی بر علیه این آنزیم را در حدود 25 تا 75% بیماران مبتلا به اسکلروderمی یا Progressive Systemic Sclerosis یافت کرده‌اند. هرچه تیتراژ این آنتی‌بادی بیشتر باشد پروگنوز بیمار ضعیف‌تر است گرچه منفی بودن تست تشخیص این بیماری را رد نمی‌کند⁽¹⁶⁾.

10. Anti RNA Polymerase-1

یک کمپلکس آنزیمی داخل هستک است که نقش آن رونویسی ژنهای کدکننده RNA ریپوزومی S45 در داخل هستک می‌باشد. آنتی‌بادی ضد آن را فقط در 4% بیماران اسکلروderمی یافت کرده‌اند⁽¹⁷⁾.

11. Anti PM-Scl (PM-1)

کمپلکسی است مشتمل بر 16 پلی‌پپتید که عمدتاً در هستک قرار گرفته و نقش آن دقیقاً روشن نشده است. آنتی‌بادی ضد آن را در بیماران مبتلا به سندروم همپوشان (Overlap Syndrome) می‌توان یافت که ترکیبی است از علائم پلی‌میوزیت (Polymyositis or PM)، درماتومیوزیت (dermatomyositis) و اسکلروderمی (Scl)⁽¹⁰⁾.

12. Anti Cyclin (PCNA) or Proliferating Cells' Nuclear Ag

سیکلین یک پروتئین کمکی برای DNA پلی‌مراز دلتاست و نقش کلیدی در سیکل سلولی بازی می‌کند. غلظت آن در فاز G1 افزایش یافته و به محض اینکه از یک حد مشخص بیشتر شود، سنتز DNA شروع می‌گردد. غلظت سیکلین در فاز G2 به حد اولیه برمی‌گردد. آنتی‌بادی بر علیه این پروتئین را فقط در 3% موارد مبتلا به SLE یافت می‌کنیم^(10 و 17).

13. Anti Jo-1 or Anti histidyl-tRNA synthetase

فقط در 30% موارد پلی‌میوزیت یا درماتومیوزیت یافت می‌کنیم⁽¹¹⁾. وجود آن همراه است با فیبروز ریوی و فنومن رینود^(10 و 17).

14. (pANCA (MPO & cANCA (PR-3 & (Anti Neutrophil Cytoplasmic Ab (ANCA

گروه آنتی‌بادی‌های ضد سیتوپلاسم نوتروفیل‌ها یا ANCA بر علیه چندین آنتی‌ژن در سیتوپلاسم نوتروفیل‌ها تولید می‌شوند. در حال حاضر دو گروه مهم cANCA (PR-3) یعنی ANCA سیتوپلاسمی و pANCA (MPO) یعنی ANCA اطراف هسته‌ای (perinuclear) وجود دارد. مثبت شدن تست cANCA به معنی وجود آنتی‌بادی بر علیه آنزیم پروتئیناز-3 است⁽³⁾. تست cANCA حساسیت و ویژگی بالایی برای تشخیص بیماری گرانولوماتوز وگنر (Wegner's granulomatosis) دارد⁽¹⁶⁾، اما از آنجایی‌که شیوع این بیماری

زیاد نیست درخواست این تست نیز بندرت انجام می‌شود و فقط بایستی برای بیمارانی که بشدت مشکوک به این بیماری هستیم درخواست نماییم^(12و10).

مثبت شدن تست pANCA به معنی وجود آنتی‌بادی بر ضد میلوپراکسیداز است، که در پلی‌آنژیت میکروسکوپی و گلومرولونفریت نکروزان و گرانولوماتوز و گنر لوکال (محدود) کلیوی (50%) پدید می‌آید⁽¹⁶⁾، اما حساسیت تست برای نیل به تشخیص این بیماریها بسیار کم است. البته pANCA را در برخی بیماری‌های روماتولوژیک دیگر نیز یافت کرده‌اند مانند کلانژیت اسکروزان و کولیت اولسراتیو ولی هیچکدام از حساسیت و ویژگی کافی بعنوان تست تشخیصی برخوردار نیست. یادآوری می‌شود که تشخیص قطعی گرانولوماتوز و گنر از طریق بیوپسی بافت گرفتار (کلیه، ریه یا مجاری تنفسی فوقانی) صورت می‌پذیرد و تست ANCA جهت کمک بیشتر به تشخیص و یا بررسی سیر درمان و یا کشف سریع عود بیماری انجام می‌گیرد⁽¹⁰⁾.

15. HLA B27

وجود آلل آنتی‌ژن لکوسیتی B-27 معمولاً همراه است با اسپوندیلیت آرتريت بخصوص اسپوندیلیت انکیلوزان (Ankylosing Spondylitis). مثبت شدن این تست برای این بیماری حساسیتی معادل 95% و برای سندروم رایتز (Reiter's Syndrome) حساسیت 80% و برای اسپوندیلیت پسوریاتیک 70% و برای اسپوندیلیت همراه بیماریهای التهابی روده و دستگاه گوارش حساسیتی معادل 50% دارد⁽⁵⁾، اما از آنجایی که شیوع این آنتی‌ژن در نژاد سفید فقط 6 تا 10% است لذا کارایی تست بسیار محدود است.

16. (Anti Mitochondrial Ab AMA (M2

تولید آنتی‌بادی بر علیه لیوپروتئینهای غشاء میتوکندری بخصوص از نوع M2 را می‌توان در 60 تا 95% سیروز اولیه صفراوی پیدا کرد. این بیماری یک بیماری خود ایمن در میان زنان جوان یا میانسال است که سیر کند ولی پیشرونده‌ای داشته و همراه است با افزایش آنزیمهای کبدی خصوصاً Alk-P و GGT و مثبت شدن AMA. گرچه تشخیص نهایی از طریق بیوپسی کبد صورت می‌پذیرد^(10و16و17).

AMA را در 20 تا 50% هپاتیت مزمن فعال، 25 تا 30% سیروز ایدیوپاتیک و کمتر از 1% افراد سالم نیز می‌توان یافت. این آنتی‌بادی جهت تشخیص سیروز اولیه صفراوی اختصاصی نبوده و در بیماری‌های دیگری نظیر هپاتیت خودایمن ناشی از لوپوس و اسکرودرما و انسداد خارج کبدی و کلستاز القایی می‌توان یافت. معمولاً از AMA و ASMA بطور همزمان جهت تشخیص افتراقی هپاتیت مزمن فعال خودایمن از سیروز اولیه صفراوی استفاده می‌شود. در سیروز اولیه صفراوی AMA مثبت و ASMA منفی یا با تیترا پایین است. اما در هپاتیت مزمن فعال خود ایمن ASMA مثبت و AMA منفی یا با تیترا پایین دیده می‌شود. AMA را در سیروز کبدی و الکلی نمی‌توان یافت⁽¹²⁾.

گرچه AMA دارای 9 نوع می‌باشد از M1 تا M9 ولی نوع M2 آن پرکاربردتر است⁽¹⁷⁾.

17. Anti Myocardial Ab

این آنتی‌بادی را در برخی بیماریهای خودایمنی همراه با آسیب میوکارد قلب یافت می‌کنیم، مانند بیماری روماتیسمی قلب، سندروم پس از جراحی توراکس و پس از جراحی قلب⁽¹²⁾.

18• Anti Smooth Muscle Ab (ASMA)

همانگونه که از نامش پیداست آنتی‌بادی است بر علیه عضلات صاف، که در 40 تا 90% هیپاتیت‌های مزمن فعال و 30 تا 70% سیروز اولیه صفراوی و 20 تا 30% سیروز ایدیوپاتیک و بیش از 80% هیپاتیت‌های ویروسی مثبت می‌گردد. تیترهای بسیار بالای ASMA را در بیش از 95% هیپاتیت مزمن فعال اتوایمیون می‌توان یافت گرچه به ندرت در هیپاتیت حاد و مونونوکلئوز عفونی نیز یافت می‌شود⁽¹²⁾.

19• Anti Phospholipid Ab

این آنتی‌بادی در بیماری‌های دسته ترومبوفیلی شامل اختلالات سیستم وریدی یا شریانی، ترومبوزها، سقط‌های سه ماهه اول، SLE و در کلاژنوز مثبت می‌شود. مثبت شدن این آنتی‌بادی در بیماری لوپوس از آنجایی که همراه است با مهار فعالیت انعقادی وابسته به پلاکت باعث انتساب نام Lupus Anti Coagulant به این آنتی‌بادی شده است. نوع خاصی از آنتی‌فسفولیپید با اتصال به کاردیولیپین در داخل گردش خون به نام Anti Cardiolipin نامیده می‌شود. آنتی‌کاردیولیپین را در SLE و بیماری‌های بافت همبند یافت می‌کنیم⁽¹²⁾.

20• سایر آنتی‌بادی‌ها

گرچه آنتی‌بادی‌های مهم یافت شده در بیماری‌های روماتولوژیک در بالا مرور گردید ولی آنتی‌بادی‌های دیگری نیز تاکنون کشف شده‌اند، اما از آنجایی که ارزش تشخیصی چندان ندارند فقط به ذکر نام آنها اکتفا می‌شود. در جدول 1 نیز درصد مثبت شدن بعضی از آنها را در بیماری‌های مختلف ذکر کرده‌ایم. این آنتی‌بادی‌ها شامل Anti Ku, Anti Golgi apparatus, Anti lysosomes, Anti PL-7, Anti PL-12, Anti EJ, Anti OJ, Anti RANA, Anti SRP و چند آنتی‌بادی دیگر می‌شوند.

پیشنهاد آخر:

با توجه به حساسیت و ویژگی متفاوت و گاه اندک این تست‌ها در بیماری‌های روماتولوژیک مختلف، درخواست انجام این آزمایشات باید با هشیاری لازم و با در نظر گرفتن شرایط و سوابق بالینی بیماران انجام پذیرد تا از به بیراهه کشاندن پزشکان جلوگیری گردد.

اگر پزشکان با مفاهیم ارزش پیش‌بینی‌کننده تست مثبت (PPV) و ارزش پیش‌بینی‌کننده تست منفی (NPV) هر تست آشنایی کافی داشته و به نحوه تفسیر آزمایشات روماتولوژیک به خوبی مسلط شوند، می‌توانند به خوبی از این تست‌ها جهت تأیید تشخیص بالینی و یا پیش‌بینی پروگنوز بیماری استفاده نمایند.

مجدداً به آزمایشگاهها توصیه می‌شود که موقع خرید کیت‌ها به میزان حساسیت و ویژگی کیت دقت نموده و در دفعات مختلف خرید تا حد امکان از یک مارک و سازنده خرید نمایند، در هنگام گزارش آزمایش ANA توصیه می‌شود که آزمایشگاهها نام تکتک آنتی‌ژنهای بکار رفته در ساختار کیت را در برگه جواب قید نمایند تا پزشکان بتوانند به‌هنگام رؤیت جواب مثبت یا منفی تصمیم صحیح‌تری برای درخواست تست بعدی بنمایند.

علاوه بر این تست‌های تخصصی، آزمایشات روتینی مانند آزمایش کامل ادرار، CBC، ESR، آنالیز مایع مفصل و نیز در تشخیص و پیگیری درمان بیماران روماتولوژیک کاربرد فراوان دارد.

جدول 3: انواع اتوآنتی‌ژن‌ها و ارگانل مربوطه و نیز الگوی فلورسانس ایجاد شده در تست مثبت ANA

گروه بندی	Autoantibody/Antigens	الگوی فلورسانس
آنتی ژن های موجود در هسته سلول		
Polynucleotides	Double-Stranded DNA	Homogenous
	Single-Stranded DNA	Homogenous
	RNA	Partly Nucleolar
Histones	H1, H2A, H2B, H3, H4, H2A-H2B complex	Homogenous
Ribonucleoproteins of the (Nucleoplasm (ENA	U1-nRNP	Coarse-granular, Nucleoli Negative
	(Sm (Smith	Coarse-granular, Nucleoli Negative
	(SS-A (Ro	Granular
	(SS-B (La	Granular
Antigens of the Nucleolus	U3-nRNP/Fibrillarin	Nucleoli granular
	RNA-Polymerase 1	Nucleoli granular
	(PM-Scl (PM-1	Nucleoli homogenous
	(RNP (To-2-7	Nucleoli homogenous
	S-RNA-6-4	Nucleoli homogenous
	Nucleolus Organiser	Nucleoli 1-2dots
Centromeres	Kinetochore proteins	Typical granular
Other Proteins	Scl-70	Almost homogenous,nucleoli enhanced
	(Cyclin (PCNA	Granular, 50% 10times brighter
	Nuclear Granula	Nuclear dots
	Ku	Reticular
	Mi-1	Fine granular
	Mi-2	Fine granular
	Lamins	Nuclear membrane
آنتی ژن های غیر اختصاصی سیتوپلاسم		

Cell organelles	Mitochondria	Granular, compact
	Ribosomes	Fine granular, compact
	Golgi apparatus	Paranuclear, latticed granular
	Lysosomes	Fine to coarse droplet-like
Cytoskeletal	Actin	Fiber bundle
	Vimentin	Fine fiber construction
	Cytokeratin	Filaments
Other Proteins	Jo-1	Granular, compact
	PL-7	Fine granular, almost homogenous
	PL-12	Fine granular, almost homogenous
آنتی‌ژن‌های خاص دوران میتوز		
Mitosis Structure	Centriols	dots: directed towards poles 2-1
	Spindle fibers	Fibers on centriole
	Separation zone	Florescence in median level
	Chromosome-associated (antigens (MSA-3	Perichromosomal

جدول 4: کارایی اتوآنتی‌بادی‌های یافت شده در بیماری‌های بافت همبند و درصد احتمال مثبت شدن هریک از آنها

Autoantibody	(Disease (frequency of autoantibody	Comments
RF	Rheumatoid arthritis (80%), other connective tissue diseases	Sensitive but not specific for rheumatoid arthritis; correlates with prognosis of disease severity ((not disease activity
ANA	Systemic lupus erythematosus (99%), drug-induced lupus (100%), other connective tissue diseases	Sensitive but not specific for connective tissue diseases; correlates poorly with disease activity

Anti-dsDNA	Systemic lupus erythematosus (60-90%)	Specific but not sensitive for systemic lupus erythematosus; correlates with lupus nephritis and disease activity
Anti-ssDNA	Infrequent	Nonspecific and of little clinical utility
Anti-histone	Drug-induced lupus (90%), systemic lupus erythematosus ((50%	Sensitive but not specific for drug-induced lupus
Anti-Sm	Systemic lupus erythematosus (20 to 40%)	Specific but not sensitive for systemic lupus erythematosus
Anti-U1 snRNP	Systemic lupus erythematosus (30 to 40%), mixed connective tissue disease (95-100%) (Overlap Syndrome (3% & RA	Associated with disease activity in systemic lupus erythematosus
Anti-Ro (anti-SS-A)	Sjogren's syndrome (40-95%), systemic lupus erythematosus (20-60%), Neonatal Lupus Syndrome ((100%	Associated with photosensitive skin rash, pulmonary disease and lymphopenia in systemic lupus erythematosus
Anti-La (anti-SS-B)	Sjogren's syndrome (40-95%), systemic lupus erythematosus (10 to 20%)	Associated with late-onset systemic lupus erythematosus, secondary Sjogren's syndrome and neonatal lupus syndrome
Anti-ribosome	Systemic lupus erythematosus (10 to 20%)	Highly specific but not sensitive for systemic lupus erythematosus; associated with lupus psychosis
Anti-centromere or CENP-B	(Scleroderma (22 to 36%) (Limited Form of PSS (80-95%	Associated with CREST syndrome and Raynaud's phenomenon
Anti-topoisomerase I ((anti-Scl-70	(Scleroderma (25 to 75%)	Highly specific but not sensitive for scleroderma
Anti-Jo1	Polymyositis and dermatomyositis ((30%	Associated with pulmonary fibrosis and Raynaud's phenomenon
(c-ANCA (PR-3	(%90<) Wegener's granulomatosis	Highly specific and sensitive for Wegener's granulomatosis; correlates with disease activity
(p-ANCA (MPO	Wegener's granulomatosis (10%),	Sensitivity and specificity quite

References

- (1.) Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*;25:271-5, 1982.
- (2.) Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*; 31:315-324. II-II r-II II, 1987.
- (3.) Jury EC, D'Cruz D, and Morrow WJW. Autoantibodies and overlap syndromes in autoimmune rheumatic disease. *J Clin Path* 54:340-347, 2001.
- (4.) Steinman L. Escape from "horror autotoxicus": Pathogenesis and treatment of autoimmune disease. *Cell*. 80(1):7-10, 1995.
- (5.) Radic MZ, Weigert M. Origins of anti-DNA antibodies and their implications for B-cell tolerance. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 764:384-96, 1995.
- (6.) Breen C. and Golightly M. " Autoimmune and Rheumatic Diseases" in *Saunders Manual of Clinical Laboratory Science*. pp 295-384. Ed. by C. Lehmann. W.B. Saunders Co., Philadelphia, Pa. 1998.
- (7.) Callegari PE. Williams WV. Laboratory tests for rheumatic diseases. When are they useful?. *Postgraduate Medicine*, 97(4):65-8, 71-4, 1995.
- (8.) Elicha Gussin HA, Ignat GP, Varga J, and Teodorescu M. Anti-topoisomerase I (anti-Scl-70) antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism*. 44(21):376-383, 2001.
- (9.) Tan EM. Smolen JS, McDougal JS, Fritzler MJ, Gordon T, Hardin JA, Kalden JR. Lahita RG. Maini RN, Reeves WH, Rothfield NF, Takasaki Y. Wilk A, Wilson M, and Koziol JA. A critical evaluation of enzyme immunoassay kits for detection of antinuclear autoantibodies of defined specificities. II. Potential for quantitation of antibody content. *J of Rheumatology*. 29(1):68-74, 2002.

- (10.) Griesmacher A, and Peichi P. Autoantibodies associated with rheumatic diseases. *Clinical Chemistry & Laboratory Medicine*. 39(3):189-208, 2001.
- (11.) Margaux J, Hayem G, Palazzo E. et al. Clinical usefulness of autoantibodies to U I snRNP proteins in mixed connective tissue disease and systemic lupus erythematosus. *Rev Rhum Engl Ed*. 65:378-86. 1998.
- (12.) Fye K. and Sack K. Rheumatic Diseases in Basic and Clinical Immunology. Eds Stites, D, Terr, Al. and TG Parslow. Eighth edition. Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut. 1994.
- (13.) Hamasaki K. Mimura T, Kanda H. et al. Development of systemic lupus erythematosus in a rheumatoid arthritis patient with anti-ribosomal P protein antibody. *Lupus*, 6:734-736. 1997.
- (14.) Cervera R. Khamashta MA, and Hughes GVR. Overlap syndromes. *Ann Rheum Dis*; 49:947-948, 1990
- (15.) Bach JF, Organ-specific autoimmunity. *Immunology Today*. 16(71:353-5, 1995.
- (16.) Golightly Marc, Health Technology end Management. Laboratory diagnosis of autoimmune diseases - Cover Story - rheumatic diseases. 21 - 25, 2004.
- (17.) Schlumberger, W, Olbrich S.,et al, Laboratory for Exprimental Immunology, EUROIMMUN. 2003.