بررسی اندازه‌گیری آنتی‌بادی ضد سیترولین در تشخیص بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و مقایسه با سایر بیماری‌های روماتیسمی و افراد به ظاهر سالم

*** دکتر هادی پورمقیم**I

دکتر مهدی شکرآبیII

دکتر پدرام گلناریIII

دکتر ندا یزدی‌پورIII

دکتر بهناز نوذریIII

دکتر آرزو فرجام‌نیاIII

رضا فلکIV

چکیده

زمینه و هدف: آرتریت روماتوئید(Rheumatoid Arthritis-RA)، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های خود ایمن است که در آن تشخیص بالینی با تائید آزمایش‌های تخصصی همراه است و تا امروز آزمایش‌های اختصاصی و قابل اجرا جهت تأئید تشخیص آن معرفی نگردیده است. این مطالعه به منظور دستیابی به ارزش های آنتی سیترولین آنتی بادی (Anti-cyclic Citrullinated Peptide Antibody-Anti-CCP) به عنوان یکی از آزمون‌هایی که در تشخیص، پیش‌آگهی و پی بردن به شدت بیماری می‌تواند مؤثر باشد، انجام شد.

روش بررسی: به منظور اندازه‌گیری و ارزیابی ارزش تشخیصی Anti-CCP، مطالعه‌ای به‌صورت مقطعی- تحلیلی صورت گرفت که در آن ۱۴۰ مورد شامل ۸۲ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید، ۲۸ مورد از بیماران مبتلا به بیماری‌های روماتیسمی دیگر و ۳۰ فرد به ظاهر سالم انتخاب و نمونه‌برداری انجام گردید. Anti-CCP در نمونه سرم بیماران به کمک روش الیزا، فاکتور روماتوئید از کلاس‌های IgA, IgM و IgG به روش الیزا و آنتی‌بادی ضدهسته به کمک روش ایمونوفلورسانس به‌دست آمد و نتایج حاصله در این سه گروه مقایسه گردیدند.

جهت بررسی تفاوت‌ها در دو گروه، متغیرهای کمی با روش t-test و متغییرهای کیفی به‌وسیله آزمون Chi-square، مورد بررسی قرار گرفتند. جهت بررسی ارتباط بین غلظت IgM-RF و Anti-CCP، از آزمون Pearson correlation coefficient استفاده شد. همچنین از سطح زیرمنحنی ROC جهت مقایسه حساسیت و اختصاصی بودن آزمایش‌ها استفاده شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS V. 15 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: میانگین غلظت Anti-CCP در بیمارانی RA که Anti-CCP بالاتر از حد طبیعی داشتند، ۹۵/۱ واحد در میلی‌لیتر (محدوده ۲۴۹-۷/۱ واحد در میلی‌لیتر ـ IU/ml) و در گروه بیماران RA که Anti-CCP کمتر از مقدار طبیعی داشتند، ۲/۱ واحد در میلی‌لیتر (محدوده IU/ml ۴/۹-۱/۲) گزارش گردید.

میانگین مقدار Anti-CCP در گروه شاهد IU/ml ۷/۳۵ (محدوده IU/ml ۱۳/۲۶-۲/۴۴) بوده و حساسیت تشخیص RF در بیماران ۸۱/۷٪ و ویژگی ۴۴/۶٪ گزارش می‌شود.

نتیجه‌گیری: به‌عنوان یک روش غربالگری در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید، اندازه‌گیری IgM-RF و Anti-CCP بر اندازه‌گیری سایر ایزوتوپ‌های فاکتور روماتوئید ارجح می‌باشند. تست Anti-CCP اختصاصی‌تر می‌باشد و ابزار تشخیصی قدرتمندی جهت تشخیص است؛ خصوصاً در بیمارانی که آرتریت روماتوئید آن‌ها هنوز کاملاً تشخیص داده نشده است.

کلیدواژه‌ها: ۱ـ آنتی‌بادی ضد سیترولین ۲ـ آرتریت روماتوئید ۳ـ روماتوئید فاکتور

مقدمه

آرتریت روماتوئید (Rheumatoid Arthritis – RA) بیماری خود ایمن سیستمیک با منشاء نامعلوم است که برای جلوگیری از پیشرفت بیماری و تخریب مفاصل، تشخیص زودرس آن بسیار تعیین‌کننده است. تشخیص بالینی بیماری، براساس معیار کالج آمریکائی روماتولوژی (American College of Rheumatology-ACR) مشخص می‌شود؛ ولی این معیارها کمکی به تشخیص زودرس نمی‌کند. لذا به‌کارگیری مجموعه‌ای از آزمون‌های تشخیصی پاراکینیکی الزامی است. برای تأئید تشخیص، اندازه‌گیری اتوآنتی‌بادی‌های مختلفی ازجمله فاکتور روماتوئید (Rheumatoid Factor-RF)، آنتی‌بادی پری نوکلئاز، آنتی‌بادی ضدکراتین و آنتی‌بادی ضدفیلاگرین در این

I) دانشیار و متخصص روماتولوژی، بیمارستان فیروزگر، تقاطع بزرگراه‌های شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، تهران، ایران (*مؤلف مسؤول)

II) دانشیار و متخصص ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، تهران، ایران

III) پزشک عمومی

IV) کارشناس ارشد ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، تهران، ایران

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

بیماران مطرح شده است.

از نظر سابقه بالینی و تشخیصی استفاده از فاکتور روماتوئید، به‌عنوان یک ابزار تشخیصی در بیماری آرتریت روماتوئید، متداول بوده است. زمانی‌که مشخص شد IgG-RF با تیتر بالا در سرم بیماران RA وجود دارد، تست تعیین RF به کمک گلبول‌های قرمز حساس شده گوسفند (Sensitized Sheep RBC-SSRBC) جهت اندازه‌گیری ابداع و توسعه یافت.[۱] این تست در ۶۰٪ بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید مثبت و به‌طور غیرمتداول در گروهی از افراد سالم نیز مثبت شده است.[۲] این آنتی بادی تحت عنوان فاکتور روماتوئید نامگذاری شد. براساس این تست بیماران مبتلا به آرتریت به دو دسته سروپوزیتیو (Seropositive) و سرونگاتیو (Seronegative) طبقه‌بندی شدند.

به علت نواقصی که در تست SSRBC وجود داشت، آزمون براساس خاصیت آگلوتیناسیون در لاتکس پوشیده با فاکتور روماتوئید از نوع IgG متداول شد. فیکساسیون لاتکس که انجام آن سهل و قابلیت تکرار پذیری آن نیز آسان‌تر بود، به‌صورت وسیع در تشخیص مورد استفاده قرار گرفت. حساسیت این تست جهت غربالگری بیماران آرتریت روماتوئید ۹۰-۷۰٪ بوده است. متأسفانه، فیکساسیون لاتکس از حساسیت مناسب برخوردار نمی‌باشد و در بسیاری از بیمارانی که مبتلا به بیماری‌های مزمن می‌باشند، نیز مثبت می‌شود.[۳-۶]

اگرچه به‌وسیله تست نفلومتری (Nephelometry) نیز می‌توان فاکتور روماتوئید از کلاسIgM، IgG و IgA را در سرم بیمار اندازه‌گیری نمود و از نظر تکنیکی هم تکرارپذیری قابل قبولی دارد، ولی این تست حساسیت و ویژگی بیش از تست لاتکس آگلوتیناسیون ندارد.[۷] این محدودیت‌ها در تست فاکتور روماتوئید انگیزه‌ای جهت ابداع تست‌های آزمایشگاهی جدید گردید.[۸]

مطالعات بعدی نشان دادند که اجسام کراتینوهیالین (Keratinohyaline bodies) که در سلول‌های مخاط انسان وجود دارند، دارای فیلاگرین (Fillagrin) می‌باشد. فیلاگرین یک پروتئین می‌باشد که توسط آنتی‌بادی‌های (Antikeratin Antibody-AKA) و(Antiperinuclear Factor-APF) که در سرم بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید موجود است، شناخته می‌شود.[۸-۱۰] واکنش نسبت به این آنتی‌ژن‌ها و تولید آنتی‌بادی AKA، به علت وجود ناحیه حاوی سیترولین در پروتئین‌های القاءکننده است.[۱۰] سیترولین، نوعی اسید آمینه غیرمعمول است که در اثر واکنش آنزیماتیک آرژنین تولید می‌شود و جزئی از ساختمان بعضی از پروتئین‌ها مانند فیلاگرین و پروفیلاگرین است. پروفیلاگرین، در گرانول‌های کراتینوهیالین سلول‌های مخاطی دهان انسان وجود دارند که در طی تمایز سلولی در طی یک روند پروتئولیتیک به زیرواحدهای متعددی تبدیل می‌شود. در طی این مراحل این پروتئین فسفریله شده و بعضی از باقیمانده‌های آرژنین به‌وسیله آنزیم پپتیدیل آرژیتین دامیناز به سیترولین تبدیل می‌شود. در طی روند بیماری RA علیه این پروتئین غیرمعمول، آنتی‌بادی سنتز می‌شود (Anti-CCP) که اندازه‌گیری آن در سال‌های اخیر برای تشخیص و پیش‌آگهی بیماران مورد توجه قرار گرفته است.

اگرچه مطالعات بسیاری در مورد Anti-CCP به‌عمل آمده است، اما در بسیاری از این موارد گروه کنترل از افراد سالم انتخاب شده بود؛ بنابراین عملکرد تفکیک نمایی (Discrimination) این تست چندان مشخص نبود. در این مطالعه، سرم گروهی از بیماران روماتیسمی که مبتلا به آرتریت روماتوئید نبوده‌اند، علاوه بر افراد سالم به‌عنوان گروه کنترل انتخاب شده و به بررسی حساسیت، اختصاصی بودن و ارزش پیشگویی تست آنتی‌سیترولین در بین بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید پرداخته شده است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

روش بررسی

این مطالعه به‌صورت مقطعی و تحلیلی بوده است (Descriptive cross sectional study). ۸۲ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید (گروه بیماران) شامل ٦٤ زن و ۱۸ مرد با میانگین سنی ٤۸/٥ سال (محدوده ۷۰-۳۰ سال) که براساس طبقه‌بندی کالج آمریکائی روماتولوژی ۱۹۹۷ (ACR) به‌عنوان مبتلا به آرتریت روماتوئید تائید شده بودند و به‌صورت سرپائی به کلینیک روماتولوژی مرکز آموزشی درمانی فیروزگر مراجعه نموده بودند، انتخاب شدند.

۵۸ مورد بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید و ۲۸ بیمار مبتلا به سایر بیماری‌های بافت همبند به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. گروه شاهد شامل ۹ فرد مبتلا به لوپوس سیستمیک، ۷ مورد اسکلرودرمی، ۱ مورد پلی‌میوزیت، ٤ مورد آرتروپاتی سرونگاتیو، ٤ مورد آرتریت مزمن جوانان و ۲ مورد واسکولیت بودند. وجه مشترک کلیه بیماران گروه شاهد این بود که جزء بیماری‌های خود ایمیون تلقی می‌شدند و از نظر فیزیوپاتولوژی، همراه با تولید آنتی‌بادی در این بیماری‌ها بوده است. سی نفر از افراد سالم در محدوده سنی ۳۰ تا ٦۰ سال که براساس معاینه بالینی و سوابق آزمایشگاهی بیماری خاصی در آن‌ها تشخیص داده نشده، به‌عنوان گروه به ظاهر سالم انتخاب شدند. از کلیه بیماران و افراد سالم بعد از تنظیم پرسشنامه و ثبت اطلاعات عمومی و دموگرافیک، خون‌گیری به عمل آمد. از هر فرد ۱۰ سی‌سی خون گرفته شد و نمونه سرم آن‌ها جدا و برای انجام آزمایش‌ها، نمونه‌ها به صورت یخزده به آزمایشگاه ایمونولوژی دانشکده پزشکی منتقل گردید.

آزمایش تعیین آنتی‌بادی ضد هسته (Antinuclear Antibody-ANA) با روش ایمونوفلورسانس غیرمستقیم (Indirect Flourescent Immuno Assay-IFA) براساس روش Coons efal با استفاده از رده سلول Hep-۲ (Human Epitheloid cell line-type 2- Hep-2) انجام شد. سرم بیماران با رقت غربالی ۱/۲۰ با سلول Hep-2 همراه شد. بعد از انکوباسیون و شستشو با بافر فسفاته، مجموعه آنتی‌ژن و آنتی‌بادی با آنتی‌هیومن گلوبولین کونژوگه که با FITC (Flourescent Iso Thiocyanate-FITC) رقیق شده بود (کمپانی ®DAkO) رنگ‌آمیزی شد. بعد از شستشو، لام‌های حاوی سلول‌های رنگ‌آمیزی شده با محلول مونتانت پوشانیده شد و نتایج به کمک دو نفر میکروسکوپیست متبحر به صورت یک سوکور، مطالعه و بعد از تطبیق نتایج با هم ثبت گردیدند. نمونه‌های کنترلی مثبت با تیتر معین و منفی به صورت موازی با نمونه‌های بیماران، تحت آزمایش قرار گرفت. در گزارش نتایج علاوه بر تیتر واکنش‌های مثبت، پاترن (Pattern) مشاهده شده نیز درج گردیده است. فاکتور روماتوئید از کلاس M، A و G به‌صورت مجزا به کمک روش الیزا (تجارتی) با استفاده از کیت تجارتی کمپانی ® Genesis مورد آزمایش قرار گرفت.

روش‌های فوق براساس استفاده از میکروپلیت‌های پوشیده شده از IgG خرگوش و با استفاده از آنتی‌بادی کونژوگه با آنزیم پراکسیداز و سوبسترای TMB (Tetra Methyl Benzedine) طراحی گردیده است. نتایج حاصله از سنجش رنگ تولید شده در طول موج ٤٥ درجه ثبت شد و با مقایسه یا جذب نوری حاصله از نتایج محلول‌های استاندارد، نتیجه غلظت پارامترهای فوق در سرم بیماران و افراد شاهد تعیین گردیدند. مقادیر این پارامترها برحسب واحد بین‌المللی در هر میلی‌لیتر (IU/ml) گزارش می‌گردد.

Anti-CCP نیز با استفاده از کیت تجارتی ® Genesis که آنتی‌بادی CCP از کلاس IgG را اندازه‌گیری می‌نماید، اجرا گردیده که در این روش نیز میکروپلیت‌های روش الیزا با فیلاگرین سیترولینه شده ریکامبینانت پوشیده شده است. کونژوگه پراکسیداز و سوبسترای TMB نیز به‌عنوان سیستم رنگ‌سنجی، مورد استفاده قرار گرفته و نتایج در طول موج ٤٥ درجه با مقایسه منحنی استاندارد

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

خوانده شد. نمونه‌های کنترلی با غلظت معین در تمام روش‌ها به‌عنوان کنترل صحت و تکرارپذیری به صورت موازی با نمونه‌های بیماران و شاهد، اندازه‌گیری و نتایج آن‌ها نیز ثبت می‌گشت.

نتایج حاصله از پارامترهای فوق به کمک آزمون آماری با نرم‌افزار SPSS V. 15 تجزیه و تحلیل شد و میانگین، خطای معیار و حدود اطمینان اندازه‌گیری گردید. با استفاده از تست‌های آماری Student T test و Chi square، نتایج حاصله در بیماران و گروه‌های کنترل با هم مقایسه و میزان P value کمتر از ۰/۰۵ نیز به‌عنوان شاخص با اهمیت آماری منظور گردید. برای ارتباط بین غلظت Anti-CCP و IgM-RF از آزمون Pearson correlation coefficient استفاده شد.

یافته‌ها

بیماران مورد مطالعه ۸۲ نفر بودند که از این تعداد ٦٤ نفر زن (۷۸٪) و ۱۸ نفر مرد بودند. در گروه کنترل، ٤۷ بیمار زن و ۱۲ (۷۹٪) مرد بودند. میانگین سنی در گروه بیماران RA، ٤۸/۵ سال (۷٦-۳۰ سال) که از شروع بیماری آن‌ها حدود ٦ ماه گذشته بود (٦ ماه تا ۲۷ ماه) و در گروه کنترل ۳۷ سال (۷۸-٤۰ سال) بود.

از بیماران مبتلا به RA، ٤۵ نفر MTX (Methothrxate)، ۱۱ نفر AZA (Azathioprine)، ۲٤ نفر سولفاسالازین، ۲۵ نفر کلروکوئین، ٦۲ نفر پردنیزولون (زیر ۵۰ میلی‌گرم) و ۱ نفر پالس سیکلوفسفامید (۱۰۰۰ میلی‌گرم) یک نوبت دریافت نموده بودند. بعضی از بیماران روی ۲ الی ۳ رژیم درمانی بوده‌اند.

تعداد مفاصل متورم در بیماران ۷/۵ مفصل، تعداد مفاصل دردناک ۱۱/۳ مفصل و مدت خشکی صبحگاهی ۷۱ دقیقه بود. نمره ارزیابی بیماران از وضعیت خودشان (Patient Assessment) با میانگین ۵/۷ (بین ۱۰-۰) بود. مدت زمان بیماری در بیماران گروه کنترل از ٦ تا ۱۷ ماه بود.

از میان ۸۲ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید، ٤۵ بیمار غلظت Anti-CCP بالاتر از ٦/۲۵ IU/ml داشتند و از میان ۵۸ نمونه شاهد (افراد مبتلا به سایر بیماری‌های بافت همبند) ۵ مورد مثبت (بالاتر از ٦/۲۵ IU/ml) مشاهده شد در کلیه افراد به ظاهر سالم مقدار Anti-CCP طبیعی بود. از ۵ مورد مثبت در گروه کنترلی شاهد، ۲ بیمار غلظت آنتی‌بادی بالاتر از ۱۰۰ و ۳ مورد مقادیر بین ٦/۲۵ IU/ml و ۲۵ IU/ml داشتند؛ مابقی بیماران گروه کنترل (شاهد) و افراد سالم مقادیر آنتی CCP طبیعی داشتند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱ـ مقادیر Anti-CCP بالاتر و پائین‌تر از حد طبیعی در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید (RA) و گروه کنترل بیمار و افراد سالم.

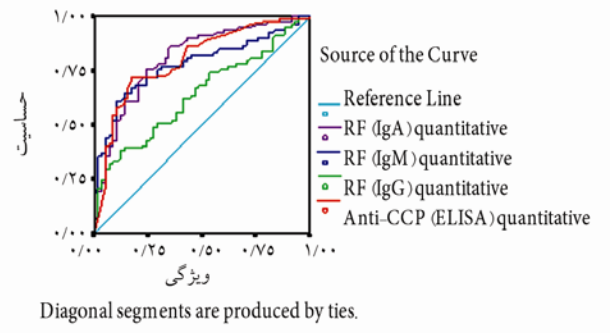
گروه های مورد مطالعه		تعداد	Anti-CCP	
			Anti-CCP(+) بالاتر از ۶/۲۵ واحد در میلی‌لیتر (IU/ml)	Anti-CCP(-) کمتر از ۶/۲۵ واحد در میلی‌لیتر (IU/ml)
بیمار RA		۸۲	٤۵	۳۷
کنترل بیمار	آرتریت روماتوئید جوانان	٤	٤	۰
	لوپوس	۹	۰	۹
	اسکلرودرمی	۸	۱	۷
	پلی میوزیت	۱	۰	۱
	آرتروپاتی سرونگاتیو	٤	۰	٤
	واسکولیت	۲	۰	۲
کنترل سالم		۳۰	۰	۳۰

تعداد بیمارانی که فاکتور روماتوئید IgM-RF مثبت داشته‌اند، ٦۵ نفر بوده است و در ۱۷ بیمار فاکتور روماتوئید IgM-RF منفی گزارش شده است. همچنین در ۳۷ بیمار مبتلا به روماتوئید که آرتریت آنتی‌سیترولین آن‌ها منفی بوده، در ۱۷ مورد IgM-RF منفی و در ۲۲ مورد فاکتور روماتوئید مثبت بود. بیمارانی که آنتی‌سیترولین آن‌ها مثبت گزارش شده مجموعاً ٤۵ بیمار بوده‌اند که در ۲ نفر آن‌ها فاکتور روماتوئیدی IgM-RF منفی و در ٤۳ نفر مثبت گزارش شده بود.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

میانگین غلظت Anti-CCP در گروه مبتلا بـه آرتریـت روماتوئید (۹/۳۲ ± ۳۶/۴۶ Ul/ml) با میانگین Anti-CCP در گروه کنترل (۵/۹۱ ± ۷/۳۵ Ul/ml) اخـتلاف معنـی‌دار دارد (P< ۰/۰۰۱).

بـرای ارزیـابی ارزش‌هـای تشخیـصی Anti-CC، آنـالیز ROC (Receiver Operating Characteristic) انجـام و سـطح زیر منحنی (Area Under Curve-AUC) اندازه‌گیری شد. ایـن مقدار برای Anti-CCP ۰/۸۰، بـرای IgA-RF ۰/۸۱، IgM-RF ۰/۷۸ و IgG-RF ۰/٦٤ گزارش می‌گردد. (نمودار شماره ۱)



نمودار شماره ۱- منحنی ROC (Receiver operating characteristic) و پارامترهای آزمایشگاهی در بیماران RA و مقایسه آن با افراد گروه کنترل

IgM-RF در ۷۹٪ بیمـاران (٦۵ نفـر از ۸۲ بیمـار) و در ۵۷٪ (۳۳ نفر از ۵۸ مورد) گروه کنترل مثبت شـد. بنـابراین برای IgM-RF حساسیت تشخیصی ۸۱/۷٪ و ویژگی ٤٤/۸٪ تعیین گردید. IgA-RF و IgG-RF به ترتیـب در ٦۰٪ و ۲٦٪ بیماران مثبت شد و حساسیت و ویژگی IgA-RF بـه ترتیـب ٦۰٪ و ۱٦٪ و IgG-RF به ترتیب ۲٦٪ و ۵۰٪ گزارش شد.

در بیماران RA ارتباط معنی‌داری بین غلظتAnti-CCP و IgM-RF مشاهده شد. (P=۰/۰۲ و r=۰/۲۵). همچنـین ارتبـاط معنـی‌داری بـین غلظـت Anti-CCP و IgA-RF مـشاهده شـد (P=۰/۰۰۱ و r=۰/۳۹) ارتباط بین غلظت آنتی‌بادی Anti-CCP و IgG-RF الگوی trend را نشان می‌دهد (P=۰/۰۷ و r=۰/۱۹).

نتایج مطالعه نشان می‌دهد که در ٤۵ بیمار و ۵ مـورد شـاهد، غلظـت Anti-CCP بـالاتر از حـد طبیعـی بـود. درحالیکه IgM-RF در ٦۵ بیمار و ۲۵ نمونه شاهد بـالاتر از حد طبیعی بود. در ۳۷ مورد بیمـار و ۵۳ نمونـه شـاهد غلظت Anti-CCP کمتر از حد طبیعـی بـود؛ درحالیکـه در ۱۷ مورد بیمار و ۳۳ نمونه افراد شاهد IgM-RF کمتـر از حد طبیعی بوده است (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲- ارتباط بیماران IgM-RF مثبت و منفی بـا مقـادیر Anti-CCP بالاتر از حد طبیعی و مقادیر نرمال

آزمایش‌های افراد مورد مطالعه	IgM RF		Anti CCP	
	مثبت تعداد (٪)	منفی تعداد (٪)	مثبت تعداد (٪)	منفی تعداد (٪)
بیمار (تعداد= ۸۲)	٦۵ (٪۷۹/۳)	۱۷ (٪۷/۲۰)	٤۵ (٪۵٤/۹)	۳۷ (٪٤۵/۱)
کنترل (تعداد= ۵۸)	۳۳ (٪۵٦/۹)	۲۵ (٪٤۳/۱)	۵ (٪۸/٦)	۵۳ (٪۹٤/۱)

آنتی‌بادی ضـد هـسته (Antinuclear Antibody-ANA) در ۳۰ بیمـار (٪۳٦/۵) مبـتلا بـه RA و ۱۱ بیمـار کنترلـی (٪۱۸/٦) مثبت شد. به منظور تأیید ارزش‌های تشخیـصی انـدازه‌گیـری تـوأم IgM-RF و Anti-CCP، حـساسیت تشخیصی اندازه‌گیری IgM-RF و Anti-CCP بـه تنهـائی و مجزا مقایسه شد (جدول شماره ۳). گروه کنترل شامل تمام موارد کنترل بیمار و سالم بوده است.

جدول شماره ۳- حساسیت و ویژگی اندازه‌گیری Anti-CCP همراه و یا بدون همراهی IgM-RF در تشخیص RA

آزمایش‌ها	حساسیت (٪)	ویژگی (٪)
Anti-CCP	٥٤/۹	۹۱/٤
IgM-RF	۸۱/۷	٤٤/۸
Anti-CCP یا IgM-RF	۸۱/۷	٤٤/۸
Anti-CCP و IgM-RF	٥٤/۱	۹۱/٤

چنانچه در جدول شماره ۳ نیز مشاهده شد، IgM-RF در مقایسه با Anti-CCP از حساسیت بیشتر و از ویژگی کمتری برخوردار است؛ درحالیکه Anti-CCP از ویژگی قابـل قبـولی برخوردار می‌باشد. لذا، تلفیق اندازه‌گیـری همزمـان IgM-RF حساسیت را کاهش و ویژگی را افزایش خواهد داد.

جهـت بررسـی حـساسیت، تـست آنـالیز Subgroup انجام شد و در این بررسی به مقایسه میزان مثبت شـدن آنتی‌سیترولین آنتی‌بادی در گروه بیماران مبتلا به RA با گروه کنترل بیمار پرداخته شـد کـه نتیجـه آن در جـدول شماره ٤ خلاصه شده است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

جدول شماره ۴- مقایسه بیماران و گروه کنترل بیمار با مقادیر Anti-CCP مثبت و منفی

گروه‌های مورد مطالعه آزمایش	مبتلا به RA	کنترل بیمار	مجموع
Anti-CCP+	٤٥	٥	٥٠
Anti-CCP-	٣٧	٢٣	١١٠

براساس جدول شماره ٤ حساسیت تست ٥٥/٩٪ و اختصاصی بودن آن ٨٢/١٪ می‌باشد. ارزش پیشگویی مثبت (Positive Predictive Value) آزمایش ٩٠٪ و ارزش پیشگویی منفی (Negative Predictive Value) آن ٣٨/٣٪ می‌باشد.

مقایسه بیماران با گروه کنترل سالم، بیانگر حساسیت ٥٥/٩٪ و اختصاصی بودن ١٠٠٪ بوده است. ارزش پیشگویی مثبت تست در این مورد ١٠٠٪ و ارزش پیشگویی منفی آن ٣٨/٣٪ بوده است. در گروه بیماران، RA ٤٧ نفر Anti-CCP مثبت داشتند درحالیکه هیچکدام از افراد سالم، Anti-CCP مثبت نداشتند (جدول شماره ٥).

جدول شماره ٥- مقایسه نتایج Anti-CCP در گروه بیماران و مقایسه با گروه کنترل سالم

گروه‌های مورد مطالعه آزمایش	مبتلا به RA	کنترل سالم	مجموع
Anti-CCP+	٤٥	٠	٤٥
Anti-CCP-	٣٧	٣٠	٦٧

بحث

براساس مطالعه اخیر IgM-RF از حساسیت و اختصاصی بودن بالاتری نسبت به IgG-RF و IgA-RF برخوردار بوده است. در مقایسه IgM-RF با آنتی‌سیترولین آنتی‌بادی، حساسیت IgM-RF بالاتر بوده است (٨١/٧٪ و ٥٥/٩٪)، اما ویژگی Anti-CCP بیش از IgM-RF می‌باشد (٩١/٤٪ و ٤٤/٨٪).

در مطالعات انجام شده حساسیت تست آنتی‌سیترولین پایین گزارش شده است.[١١، ١٢ و ١٨] علت حساسیت پایین Anti-CCP این است که آنتی‌بادی‌های علیه سیترولین هتروژن می‌باشند و علیه اپی‌توپ‌های متفاوتی از مولکول‌های سیترولین تولید می‌شوند، و در هر بیمار می‌تواند آنتی‌بادی متفاوتی با افینیتی مختلف تولید شده باشد. پپتید مصنوعی که به‌عنوان آنتی‌ژن در این آزمایش استفاده می‌شود شامل مجموعه محدودی از آنتی‌ژن‌ها است[١٣].

ویژگی تست آنتی‌سیترولین در مطالعه اخیر همچون سایر مطالعات انجام شده[١٢ و ١٤] بالا بوده است. به‌طوری‌که می‌توان تست آنتی‌سیترولین را یکی از مهم‌ترین تست‌های آزمایشگاهی در تشخیص افتراقی قلمداد نمود.

در مطالعه‌ای که توسط Bizzaro و همکارانش صورت گرفته است آنتی‌سیترولین آنتی‌بادی از حساسیت ٤١٪ و اختصاصی بودن ٩٧/٨٪ برخوردار بوده است و فاکتور روماتوئید IgM-RF از حساسیت ٦٢٪ و اختصاصی بودن ٨٤٪ برخوردار بوده است.[١٢]

در مطالعه‌ای که توسط Vallbracht و همکارانش به‌عمل آمده است، حساسیت IgM-RF ٦٦/٤٪ و آنتی‌سیترولین آنتی‌بادی ٦٦/٤٪ بوده است. در همین مطالعه اختصاصی بودن Anti-CCP ٩٧/١٪ و در این مطالعه IgM-RF از اختصاصی بودن ٨٢/١٪ برخوردار بوده است.[١٤]

در مطالعه حاضر، IgM-RF از حساسیت ٨١/٧٪ و ویژگی ٤٤/٨٪ برخوردار بوده است و Anti-CCP از حساسیت ٥٥/٩٪ و اختصاصی بودن ٩١/٤٪ برخوردار بوده است. این نتایج بسیار مشابه مطالعات پیشین می‌باشد.

میانگین غلظت آنتی‌سیترولین در این مطالعه در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید ٣٦/٥±٩/٣٢ IU/ml و در گروه کنترل ٧/٣٥±٥/٩١ IU/ml گزارش شده است. در مطالعه‌ای که توسط Bizarro و همکاران[١٢] منتشر شده است، میانگین و دامنه تیتر آنتی‌بادی در گروه بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید که آنتی‌سیترولین مثبت در آن‌ها گزارش شده است ١١٠٠±٧٤٦ IU/ml (دامنه ٣٤١٩-٥٧ IU/ml) و در بیماران گروه کنترل ٦/٨±٥/١ IU/ml (دامنه ٣٩-١ IU/ml) بوده است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

تفاوت در غلظت آنتی‌بادی در دو مطالعه به‌علت تفاوت‌های تکنیکی بوده است. به‌طوری‌که در مطالعه حاضر نقطه تشخیصی (Cut-off point) کیت‌ها ٦/٢٥ واحد بوده و در مطالعه Bizarro این نقطه ٥٠ واحد در نظر گرفته شده است. حتی اگر به واحد تشخیصی مطالعه حاضر ضریب ٨ بدهید (تا نقطه تشخیصی تقریباً برابر شود) مشاهده می‌شود که میانگین تشخیص آنتی‌سیترولین در بیماران مطالعه حاضر پایین‌تر می‌باشد. این تفاوت می‌تواند به‌علت تفاوت در نوع بیماران جمع‌آوری شده باشد.

در گروه کنترل، ٤ بیمار مبتلا به روماتیسم مفصلی کودکان بودند که سرم این افراد جهت آنتی‌سیترولین در تمامی موارد مثبت بوده است.

مثبت شدن آنتی‌سیترولین (تیتر بالای ٦/٢٥ IU/ml) در این گروه از بیماران مشخص نیست که تصادفاً به علت حجم کم نمونه به‌دست آمده و یا واقعاً در این گروه از بیماران روماتیسمی، تیتر آنتی‌بادی علیه سیترولین مثبت خواهد بود که این مطلب نیاز به بررسی بیشتری دارد.

در مطالعه حاضر، تعداد بیمارانی که مبتلا به آرتریت روماتوئید بودند برحسب وضعیت آنتی‌سیترولین و فاکتور روماتوئید از نوع IgM مورد بررسی قرار گرفتند. در ٢ بیمار از ١٧ بیماری که فاکتور روماتوئیدی منفی داشته‌اند، آنتی‌سیترولین مثبت گزارش شده است. یعنی در ١١/٧٪ از بیمارانی که سرولوژی آن‌ها جهت فاکتور روماتوئید IgM-RF منفی بوده، تست آنتی‌سیترولین مثبت بوده است. به‌عبارتی این تست در ١١٪ بیمارانی که آرتریت روماتوئید دارند و فاکتور روماتوئید آن‌ها منفی است؛ ارزش تشخیصی اضافی خواهد داشت.

در مطالعه‌ای که توسط Lee و همکاران[٨] انجام شده است، در ١٥٪ بیمارانی که فاکتور روماتوئیدی IgM-RF آن‌ها منفی بوده است، نسبت آنتی‌سیترولین مثبت شده است؛ در مطالعه Bizarro و همکاران[١٢] این مقدار ٥٪ گزارش شده است. تفاوت در مطالعات مختلف می‌تواند مربوط به نحوه جمع‌آوری بیماران باشد. در مطالعه Bizarro، ٣٦/٧٪ بیماران به‌عنوان آرتریت روماتوئید مراحل اولیه (یعنی بیمارانی که از شروع آرتریت روماتوئید آن‌ها کمتر از ١ سال می‌گذرد) وارد مطالعه شده‌اند؛ در ارائه نتایج مطالعه حاضر این تقسیم‌بندی صورت نگرفته و این از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌باشد.

در این مطالعه بین غلظت آنتی‌بادی علیه سیترولین و روماتوئید فاکتور از نوع IgM و IgA همبستگی و ارتباط وجود داشته است، ولی با تیتر ایزوتوپ IgG ارتباط از نوع ضعیف بوده و روند trend را نشان می‌داده است و نشان می‌دهد. در مطالعه‌ای توسط Lee و همکاران صورت گرفته بود،[٨] این ارتباط نشان داده شده است و دلیلی نیز جهت عدم ارتباط ارائه نشده است. ولی نتیجه مطالعه، ارتباط منطقی‌تری با اساس پاتوفیزیولوژی بیماری آرتریت روماتوئید و فعال شدن سلول‌های B لنفوسیت به‌صورت الیگوکلونال دارد.

در مطالعه حاضر میزان اختصاصی بودن آنتی‌سیترولین آنتی‌بادی ٩١/٤٪، IgM-RF ٨١/٧٪ و IgG-RF ٢٦٪ گزارش می‌شود. در مطالعه‌ای Vallbracht و همکاران[١٤]، میزان حساسیت آنتی‌سیترولین ٩٧/١٪ بوده و IgG-RF حساس‌تر از ایزوتوپ‌های IgM و IgA بوده است. حساسیت IgG-RF ٩١/٥٪، IgM-RF ٨٢/١٪ و IgA-RF ٥٠/٩٪ گزارش شده است. در هر دو مطالعه، آنتی‌سیترولین آنتی‌بادی حساسیت بیشتری نشان داده است. اما از نظر ایزوتوپ‌های مختلف فاکتور روماتوئید، تفاوت‌هایی در گروه بیماران مطالعه حاضر با مطالعه Vallbracht وجود داشته است. ایزوتوپ IgA در گروه بیماران ایرانی از حساسیت بالاتر و اختصاصی بودن کمتری برخوردار بوده است. IgG-RF در مطالعه حاضر حساسیت پائین‌تر و اختصاصی بودن بیشتری داشته است. این اختلاف می‌تواند مربوط به تفاوت نژادی و قومی بیماران در مطالعه و یا تفاوت در روش‌های آزمایشگاهی و یا کمیت‌های به‌کار رفته باشد.

جهت بررسی بیشتر ارزش تشخیصی ایزوتوپ‌های فاکتور روماتوئید و آنتی‌سیترولین، به مقایسه منحنی‌های

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

Roc صرف‌نظر از نقطه تشخیصی یا (Cut-off point) پرداختیم و سطح زیرمنحنی AUC (Area Under the Curve) را در هر مورد بررسی نموده. سطح زیر منحنی جهت آنتی‌سیترولین ۸۰٪، IgM-RF ۸۱٪، IgG-RF ۷۸٪ و IgA-RF ٦٤٪ می‌باشد. این نشان می‌دهد که ارزش تشخیصی فاکتور IgM بالاتر است و از حساسیت بیشتری نیز برخوردار است. در مطالعه Vallbracht و همکاران[١٤] نتایج بسیار نزدیک مطالعه حاضر بوده است و سطح زیرمنحنی جهت آنتی‌سیترولین ٨٤٪، برای IgM-RF ٨٣٪ و جهت IgA-RF ٧٤٪ بوده است.

اگرچه هنوز در گزارش‌های منتشر شده توسط معیارهای ACR (American College of Rheumatology) پذیرفته نشده است، اما اطلاعات این مطالعه متاآنالیزی که توسط Nishimura و همکاران به‌عمل آمده، پیشنهادکننده این است که انجام تست Anti-CCP همراه با RF در موارد مشکوک به آرتریت روماتوئید باید به‌عمل آید[١٥].

نتیجه‌گیری

براساس مطالعات فعلی و سایر مطالعات پیشنهاد می‌شود جهت بیمارانی که به‌صورت سرپایی به کلینیک‌های روماتولوژی مراجعه می‌نمایند، به‌صورت موازی می‌توان دو تست فوق را همزمان درخواست نمود. همچنین پیشنهاد می‌شود در سایر بیماری‌های روماتیسمی، غلظت آنتی‌سیترولین اندازه‌گیری و میزان مثبت شدن آن مشخص شود.

باتوجه به بالابودن غلظت آنتی سیترولین در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید جوانان، شاید اولین گروهی که انجام مطالعات جدیدی در مورد آن‌ها منطقی باشد این گروه از بیماران باشند. چون نتیجه مطالعه فوق با نتایج مطالعاتی که از حجم نمونه بالاتر و قدرت (Power) برخوردار بوده‌اند تطبیق دارد، لذا نتایج ارائه شده قابل اتکا و استناد هستند.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله بر خود واجب می‌دانند که از سرکار خانم دکتر فاطمه خسروجردی، کارشناس علوم آزمایشگاهی بیمارستان فیروزگر، که در تهیه نمونه‌های بیماران همکاری نموده‌اند؛ سرکار خانم فاطمه دانش که در ذخیره‌سازی سرم‌ها و نظارت در اجرای آزمایش‌ها همکاری نموده‌اند؛ سرکار خانم‌ها سوفیا افشاری و مریم ماجد و جناب آقایان مهدی بختیاری و محمد محمدی، دانشجویان کمیته پژوهشی که در پر نمودن فرم‌های پژوهش بالینی همکاری نمودند؛ جناب آقای دکتر مازیار مرادی لاکه، استادیار بخش پزشکی اجتماعی، که در آنالیز اطلاعات همفکری نموده‌اند و سرکار خانم مهری سیف همدانی، منشی درمانگاه روماتولوژی بیمارستان فیروزگر، تشکر نمایند.

فهرست منابع

1- Rose HM, Ragan C, Pearce E, Lipman MO. Differential agglutination of normal and sensitized sheep erythrocytes by sera of patients with rheumatoid arthritis. Proc Soc Exp Biol Med 1949; 68: 1–6.

2- Bartfeld H. Incidence and significance of seropositive tests for rheumatoid factor in non-rheumatoid disease. Ann Intern Med 1960; 52: 1059-66.

3- Mikkelsen WM, Dodge HJ, Duff IF, Kato H. Estimates of the prevalence of rheumatic diseases in the population of Tecumseh, Michigan, 1959–1960. J Chronic Dis 1967; 20: 351–69.

4- Meltzer M, Franklin EC, Elias K, McCluskey RT, Cooper N. Cryoglobulinemia—a clinical and laboratory study. Am J Med 1966; 40: 837–56.

5- Shmerling RH, Delbanco TL. The rheumatoid factor: an analysis of clinical utility. Am J Med 1991; 91: 528–34.

6- Carson DA. Rheumatoid factor. In: Kelley WN, Ruddy S, Harris ED, Sledge CB, editors. Textbook of Rheumatology.6th ed. Philadelphia: Saunders; 1997. P. 155–63.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

7- Kroot E, de Jong BAW, van de Putte LBA, van Venrooij WJ, van Riel PLCM. Serum anti cyclic citrullinated peptide antibody (anti-CCP) levels in patients with rheumatoid arthritis: correlation with disease activity during five years of follow-up. Arthritis Rheum 2000; 43: S156.

8- Lee D M, Schur P H. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. Ann Rheumatic Dis 2003; 62: 870-874.

9- Saraux A, Berthelot JM, Chales G, Le Henaff C, Mary JY, Thorel V,et al. Value of laboratory tests in early prediction of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2002; 47: 155-65.

10- schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de putte LB, van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinant recognized by rheumatoid arthritis-specific antibodies. J Clin Invest 1998; 101: 273-81.

11- Kroot E, de Jong BAW, van Leeuwen MA, Swinkels H, van den Hoogen FH, van't Hof M, et al. The prognostic value of the anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent onset rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2000; 43: 1831-5.

12- Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. Clin Chem 2001; 47: 1089–93.

13- Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, vanVenrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. J Clin Invest 1998; 101: 273–81.

14- Vallbracht I, Rieber J, Oppermann M, Forger F, Siebert U, Helmke K. Diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotype in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2004; 63: 1079-84.

15- Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Seiji K, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and Rheumatoid factor for rheumatoid arthritis.Ann Intern Med 2007 Jun 5; 146(11): 797-808. (Review).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

Evaluation of the Diagnostic Accuracy of Anti-Citrulline Antibody in Rheumatoid Arthritis Patients and its Comparison with other Rheumatic Disorders and Normal Individuals

***H. Poormoghim, MD[I] M. Shekarabi, PhD[II] P. Golnari, MD[III]**
N. Yazdipoor, MD[III] M. Nozari, MD[III] A. Farjam Nia, MD[III]
R. Falak, MSc[IV]

Abstract

Background and Aim: Rheumatoid arthritis (RA) is the most common autoimmune rheumatic disease, which requires specific diagnostic tests for it's' diagnosis. However specific and practical tests for its diagnosis are lacking. We evaluated the diagnostic accuracy of Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (Anti-CCP) in the diagnosis, prognosis and determination of the severity of RA.

Materials and Methods: In a descriptive-cross sectional study Anti-CCP antibodies were determined in 140 serum samples: 82 from RA patients and 58 from controls, including samples of 30 healthy individuals and 28 patients with connective tissue diseases. Anti-CCP was detected by ELISA in the serum samples of patients, Rheumatoid factor of IgA, IgM and IgG classes was determined by ELISA and Anti-Nuclear Antibody was detected by Immunoflourescent method; results were compared in the three groups. For comparison of differences between groups t (quantitative variables) and chi-square tests (qualititative variable) tests were used. Correlation between titer of IgM-RF and Anti-CCP was assessed by Pearson's Correlation test. In addition, Receiver Operating Characteristics (ROC) analysis was carried out to compare sensitivity and specificity of various tests. For data analysis SPSS V. 15 was used.

Results: Mean concentration of Anti-CCP in RA patients that had Anti-CCP levels greater than normal was 95.1 IU/ml (range: 7.1-249 IU/ml). While mean concentration of Anti-CCP in RA patients that had Anti-CCP levels less than normal was 2.1 IU/m; (range: 1.2-4.9 IU/ml).
Controls had a mean Anti-CCP level of 7.35 IU/ml (range: 2.44-13.26 IU/ml)
Diagnostic sensitivity and specificity of RF was reported as 81.7% and 44.6% respectively in the patients.

Conclusion: As a screening method for rheumatoid arthritis IgM-RF, Anti-CCP antibody assays are superior to other RF isotypes assessments. Anti-CCP proved to be a powerful and specific diagnostic tool, especially in patients with undiagnosed rheumatoid arthritis.

Key Words: 1) Anti-Citrulline Antibody 2) Rheumatoid arthritis 3) Rheumatoid factor

I) *Associate Professor of Rheumatology, Crossing of Shaheed Chamran and Hemmat Expressways, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran (*Corresponding Author)*
II) *Associate Professor of Immunology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran*
III) *General Physician*
IV) *MSc in Immunology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]