

ارزیابی آزمون VDRL در مبتلایان به آرتیریت روماتوئید

علیرضا صالحی نوده^{۱*}، دکتر کاملیا گودرزی^۲، پروین اختیاری^۳، دکتر عباس میر شفیعی^۴

چکیده

زمینه و هدف: روماتوئید آرتیریتس یک بیماری مزمن، التهابی، سیستمیک و مولتی فاکتوریال است که علامت مشخصه آن سینوویت مفاصل اندام فوقانی و تحتانی بطور قرینه است. عللت اصلی بروز آن شناخته نشده است. شیوع این بیماری در جوامع مختلف بین $0\text{--}3/15$ درصد متغیر است و زنان سه برابر بیشتر از مردان به آن مبتلا می‌شوند. آنچه که امروزه بیشتر توجهی کننده اتیولوژی بیماری تلقی می‌شود عوامل ایمونولوژیک و از جمله فاکتور روماتوئید یا RF است. این فاکتور عبارت است از آنتی بادیهای که به دلایل نامعلوم برعلیه ناحیه ثابت IgG خودی تولید می‌شود. این فاکتور در افراد سالم دیده نمی‌شود و احتمال ابتلاء به بیماری در افرادی که تست روماتوئید فاکتور آنها مثبت باشد به شدت افزایش می‌یابد. هدف از این تحقیق ارزیابی تست VDRL در بیماری آرتیریت روماتوئید است تا از این طریق شوان ارزش پاراکلینیکی این آزمون را در تشخیص این بیماری موردن بررسی قرار داد.

روش بررسی: برای تهیه نمونه سرم بیمار از ۷۰ بیمار مبتلا به آرتیریت روماتوئید بستری در بیمارستان لقمان الدوله نمونه گیری خون انجام شد، این بیماران از نظر سابقه ابتلاء به بیماری های دیگر مورد ارزیابی قرار گرفته بودند و برای تهیه نمونه سالم از ۷۰ نمونه خون اهلاء کننده گان خون مراجعت کننده به سازمان انتقال خون که سابقه هیچگونه بیماری قابل توجهی نداشتند نمونه گیری به عمل آمد. محل و مدت سنجاق افراد نرمال و مبتلا به بیماری بین ۱۹ تا ۶۵ سال در نظر گرفته شد. نمونه های سرم پس از جمع آوری در ویال های در پوش دار، با ذکر مشخصات در فریزر -20°C درجه نگهداری و حداکثر تا دو هفته تحت آزمون سرولوژیک VDRL قرار گرفت.

یافته ها: در طی انجام آزمون VDRL بر روی سرم مردان و زنان بیمار که جمماً ۷۰ نفر بودند (۴۹ زن، ۲۱ مرد)، مشخص گردید که در گروه زنان، از ۴۹ نفر، ۳۹ نفر (۷۹/۶٪) پاسخ منفی و ۱۰ نفر (۲۰/۴٪) پاسخ مثبت نسبت به آزمون VDRL نشان دادند و در گروه مردان بیمار، از ۲۱ نفر، ۱۴ نفر (۶۶/۷٪) پاسخ منفی و ۷ نفر (۳۳/۳٪) پاسخ مثبت داشتند که از این بررسی می توان نتیجه گرفت که با توجه به تعداد بیشتر زنان در مقایسه با مردان در جمعیت بیمار، پاسخ مثبت عملتاً در گروه مردان مشاهده گردید و نیز در مقایسه بین دو گروه نرمال و بیمار مشخص گردید که از ۷۰ نفر از گروه نرمال تنها ۴ نفر دارای تیتر مثبت VDRL بودند به عبارت دیگر $5/7\%$ پاسخ مثبت داشتند، (۹۴/۳٪ منفی) و در ۷۰ نفر از بیماران، ۱۷ نفر از بیماران، آزمون روماتوئید $75/7\%$ بودند یعنی $24/3\%$ پاسخ مثبت (۷۵/۷٪ منفی).

نتیجه گیری: نتایج بدست آمده از این تحقیق و نیز محاسبات آماری در دو گروه کنترل و بیمار، نشان می دهد که اختلاف بین دو گروه مذکور باستفاده از t -test و $p < 0.01$ از نظر آماری معنی دار بوده و نشان می دهد آزمون VDRL می تواند به عنوان تست کمکی در امر تشخیصی آرتیریت روماتوئید مفید واقع گردد.

واژه های کلیدی: ارزیابی، آزمون VDRL، آرتیریت روماتوئید

* نویسنده مسئول:

علیرضا صالحی نوده:

دانشکده بهداشت دانشگاه علوم

پزشکی تهران

Email: arsen 51 @ yahoo .com

- دریافت مقاله: دی ماه ۱۳۸۶ - پذیرش مقاله: اردیبهشت ماه ۱۳۸۷ -

مقدمه

آرتیریت روماتوئید یک بیماری سیستمیک با اتیولوژی نامعلوم است که در آن نسوج همبند سراسر بدن دچار التهاب می شوند. بیماران مبتلا در آغاز هیچ علامتی از

^۱ کارشناس ارشد ایمونولوژی گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۲ دکرای داروسازی دانشکده داروسازی دانشگاه آزاد اسلامی

^۳ کارشناس آزمایشگاه گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت پزشکی تهران

^۴ استاد گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

های یاد شده منجر به کاهش محسوس سطح سرمی جزء سوم کمپلمان در محل ضایعه و بروز التهاب می گردد (۳). از سوی دیگر بلعیده شدن کمپلکس های آنتی ژن و آنتی بادی و کمپلمان توسط فاگوسیت ها منجر به آزادشدن آنزیمهای لیزوژمی از سلولهای فوق شده و التهاب را تشدید می کند (۴). تشخیص روماتوئید آرتریایتیس براساس مشاهدات بالینی استوار است این بیماران عمدتاً از درد و سفتی به همراه تورم و حساسیت در مفاصل مختلف و بخصوص مفاصل کوچک دست و پا شکایت دارند. همچنین اریتم کف دست همراه با وریدهای واضح در پشت دست، محدودیت حرکات مفاصل، کاهش کارایی و قدرت عضلات وبالاخره ضعف و رنگ پریدگی از دیگر علائم مبتلایان به این بیماری است.

اصولاً وجود فاکتور روماتوئید یا آنتی بادی برعلیه اسیدهای نوکلئیک و یا سایر تستهای آزمایشگاهی نظری شمارش گلبولهای سفید، هیچیک مختص این بیماری نبوده و به تنها نمی توانند نشان دهنده ابتلا به آرتریت روماتوئید باشند. به همین دلیل وجود هیچ یافته پاتوگنومیک تشخیص بیماری در موارد غیرتیپیک ممکن است بسیار مشکل باشد (۱).

بدین منظور آزمون VDRL به عنوان یک روش نسبتاً ساده و کمی حساس در کنار سایر تستهای تشخیصی رایج CRP ، AntiSS-DNA ، Anti Ds - DNA ، ANA و ASO برای تشخیص بیماری مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی

الف) نمونه گیری :

برای تهیه نمونه سرم بیماران با همکاری بخش روماتولوژی بیمارستان لقمان حکیم از بیماران مراجعه کننده به این بخش ۵ میلی لیتر خون گرفته شد. برای تهیه نمونه سالم با همکاری پایگاه انتقال خون تهران از اهداء کنندگان خون مراجعه کننده به این پایگاه ۵ میلی لیتر

خود نشان نمی دهند و با پیشرفت بیماری علائمی نظیر خستگی، تب، کاهش وزن، تعزیق و سفتی صبحگاهی در آنها ظاهر می شود این بیماری تمايل به گرفتاری مفاصل کوچک دست و پا مانند مفاصل بند انگشتان پروکسیمال را دارد و معمولاً مفاصل را بصورت قرینه گرفتار می کند و به طرف مرکز بدن پیشرفت می کند. این بیماری در سراسر دنیا از شیوع نسبتاً یکسانی برخوردار است و بطور متوسط یک درصد برآورد می شود (۱).

احتمال ابتلای زنان به این بیماری معمولاً سه برابر مردان است و در سنین ۲۰ تا ۶۰ سالگی بروز می کند. درخصوص علل ابتلا به این بیماری تئوریهای متعددی از جمله ارتباط آن با برخی عوامل عفونی نظری استرپتوكوک بتاهمولیتیک A و برخی عفونت های ویروسی نظیر EBV و مایکوپلاسمایی ، عوامل متابولیک مانند هیپراوریسمی و عوامل ژنتیکی مانند ارتباط بیماری با آنتی ژنهای سازگاری نسجی نظری DR4 و HLA-D4 مطرح گردیده اما در این میان آنجه که امروزه بیشتر توجه دانشمندان را به خود جلب کرده عوامل ایمونولوژیک است که مهمترین آن فاکتور روماتوئید است که به آنتی بادیهایی گفته می شود که بدون علت بر علیه ناحیه ثابت ایمونوگلوبین G تولید و ترشح می شوند.

ابی توب آنتی ژنی روی بخش ثابت ملکول IgG که آنتی بادی برعلیه آن ساخته می شود در افراد سالم وجود ندارد و این موضوع امکان بروز تغییر اپی توب مذکور به دنبال برخورد با آنتی ژنهای دیگر را به خوبی نشان می دهد (۲).

تغییراتی که بدین ترتیب در ساختمان ایمونوگلوبین بوجود می آید منجر به تحییک سیستم ایمنی و تولید اتو آنتی بادی برعلیه IgG می شود. اتصال اتوآنتی بادی های یاد شده با ایمونوگلوبین های تغییر شکل یافته منجر به تشکیل کمپلکس های ایمنی و تثیت کمپلمان بر روی آنها می شود. برخورد پلی مورفونوکلئرها به کمپلکس

RPR (Rapid Plasma Reagins) دراین مطالعه از کیت استفاده شد که دارای سوسپانسیون آنتی ژنی و کنترل مثبت و منفی است. قبل از شروع کار بایستی ابتدا نمونه های سرم و محتويات کیت را به دمای اتاق رساند و سوسپانسیون آنتی ژنی را با حرکت ملايم مخلوط نمود سپس روی لامی که به سه قسمت تقسیم شده ۵۰ میکرولیتر از کنترل مثبت ، ۵۰ میکرولیتر از کنترل منفی و ۵۰ میکرولیتر از نمونه سرم رقيق نشده، ریخته شده و سپس به هریک از محیط های فوق ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون آنتی ژنی اضافه و بوسيله همزن پلاستیکی به آرامی مخلوط نمود تا در تمام سطوح دایره یکنواخت گردد. پس از ۶ تا ۸ دقیقه تکان دادن ، لام از نظر فلوكولاسیون مورد بررسی قرار گرفت. معمولاً در آزمون VDRL موارد مثبت بصورت توده های بزرگ و متوسط فلوكولاسیون در زیر میکروسکوپ و یا با چشم غیرمسلح دیده می شود و موارد منفی بصورت ذرات سوزنی شکل و با پراکندگی یکنواخت مشاهده می شوند و عملاً هیچگونه فلوكولاسیونی دیده نمی شود . روش یاد شده روشی کمی است بنابراین برای اندازه گیری تیتر VDRL (بالاترین رقت سرمی که فلوكولاسیون در آن قابل مشاهده است) از نمونه های سرمی رقت های متوالی بصورت ۱/۲ ، ۱/۴ ، ۱/۸ و تهیه و برای هریک از رقت های مزبور آزمون فوق تکرار گردید.

خون گرفته شد. برای جداسازی سرم از نمونه های یاد شده ابتدا نمونه خونی به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار داده شد تا لخته تشکیل شود. سپس لوله ها در دستگاه سانتریفوژ به مدت ۵ دقیقه و ۳۰۰۰ g سانتریفوژ گردید. بعد از جداسازی ، سرم در ویالهای کوچک دردار جمع آوری شده و در دمای ۲۰-۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری وحداکثر دو هفته پس از نمونه گیری مورد آزمایش قرار گرفت. از هر گروه یاد شده (بیمار و سالم) ۷۰ نمونه اخذ و مورد بررسی قرار گرفت.

ب) آزمون VDRL :

برای انجام آزمایش مذکور به آنتی ژن VDRL (شامل ۰/۰۳ درصد کاردیولیپین و ۰/۹ درصد کلسترول حل شده در الکل مطلق و حدوداً ۰/۲۱ درصد لیستین خالص که بصورت استاندارد تهیه شده و بصورت ویالهای آماده به بازار عرضه می گردد)، بافر نمکی VDRL (محلول ۰/۵ pH = ۶ میلی لیتر فرمالدهید، ۰/۰۳۷ گرم Na2HPo4 ، ۰/۰۱۷ گرم KH2Po4 به آن اضافه شده است)، سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد (۰/۹ گرم NaCl در یکصد میلی لیتر آب مقطر) و سرم بیمار که کمپلمان آن در حرارت ۵۶ در درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه غیرفعال شده است، نیاز داریم (۵)

یافته ها

نتایج حاصل از انجام آزمایشات یاد شده در دو گروه شاهد و بیمار در جداول شماره ۱ تا ۳ آمده است.

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی مطلق و نسبی تیتر VDRL در گروه شاهد به تفکیک منس و رقت سرمی

گروههای مورد آزمایش						
جمع		زنان		مردان		
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	تیتر
۹۴/۳	۶۶	۹۳	۴۰	۹۶/۳	۲۶	سرم منفی
۴/۲	۳	۴/۶	۲	۳/۷	۱	سرم مثبت رقيق نشده
۱/۵	۱	۲/۴	۱	۰	۰	سرم مثبت با رقت ۱/۲
۱۰۰	۷۰	۱۰۰	۴۳	۱۰۰	۲۷	جمع

جدول شماره ۲ : توزیع فراوانی مطلق و نسبی تیتر VDRL در گروه بیمار به تفکیک جنس و رقت سلامت

جمع						گروههای مورد آزمایش	
نیتر	تعداد	مردان	زنان	تعداد	درصد	درصد	تعداد
سرم منفی	۱۴	۶۶/۷	۷۹/۶	۳۹	۵۳	۷۰/۷	۷۰
سرم مثبت رقیق نشده	۲	۹/۵	۱۰/۲	۵	۷	۱۰	۷
سرم مثبت با رقت	۲	۹/۵	۶/۲	۳	۵	۷/۲	۵
سرم مثبت با رقت	۱	۴/۸	۲	۱	۲	۲/۸	۲
سرم مثبت با رقت	۲	۹/۵	۲	۱	۳	۴/۳	۳
جمع	۲۱	۱۰۰	۳۹	۱۰۰	۷۰	۷۰/۷	۱۰۰

بیمار مورد مطالعه ، ۴۹ نفر آنها زن و ۲۱ نفر آنها مرد بودند در گروه زنان ۷۹/۶ درصد پاسخ منفی و ۲۰/۴ درصد پاسخ مثبت به آزمون فوق نشان دادند، در گروه مردان ۶۶/۷ درصد پاسخ منفی و ۳۳/۷ درصد پاسخ مثبت داشتند. توزیع فراوانی مطلق و نسبی افراد دارای تیتر مثبت VDRL در دو گروه شاهد و بیمار در جدول شماره ۳ قابل مشاهده است.

همانطور که در جدول یک مشاهده می شود از ۷۰ فرد سالم مورد آزمایش ۲۷ نفر مرد و ۴۳ نفر زن بودند در گروه مردان ۹۶/۳ درصد پاسخ منفی و تنها ۳/۷ درصد به آزمون VDRL پاسخ مثبت نشان دادند. در گروه زنان ۹۳ درصد پاسخ منفی و تنها در ۷ درصد پاسخ مثبت به آزمون مورد نظر مشاهده شد که نشان دهنده حساسیت بالاتر این آزمون است . با مطالعه جدول ۲ در ۷۰ فرد

جدول شماره ۳ : توزیع فراوانی مطلق و نسبی افراد دارای تیتر مثبت VDRL در دو گروه شاهد و بیمار

گروه بیمار (شاهد)	گروه کنترل	گروههای مورد آزمایش افراد تحت مطالعه
۷۰	۷۰	تعداد افراد مورد مطالعه
۱۷	۴	تعداد افراد دارای تیتر مثبت
۲۴/۳	۵/۷	درصد فراوانی

مردان مشاهده گردید. با توجه به نتایج بدست آمده از میزان پاسخ مثبت در دو گروه کنترل و بیمار و نیز وجود اختلاف معنی دار بین دو گروه یاد شده نتیجه گیری می شود که آزمون VDRL می تواند به عنوان یک آزمون کمکی در تشخیص روماتوئید آرترایتیس مورد استفاده قرار گیرد.

در مطالعه حاضر تیتر VDRL بر روی سرم ۷۰ فرد سالم و بیمار که از لحاظ عدم سابقه ابتلاء به بیماریهای دیگر مورد ارزیابی قرار گرفته بودند، بصورت کمی و کیفی اندازه گیری شد. با بررسی نتایج بدست آمده مشخص گردید که علیرغم وجود تعداد بیشتر زنان در مقایسه با مردان در ابتلاء به بیماری عمدهاً پاسخ مثبت در گروه

بحث

منابع :

- 1.Babic-Naglic D. Early rheumatiod arthritis. Reumatizam. 2008;55(2):26-33.
2. keane A, Woods R, Dowding V, Roden D, Barry C. Anticardiolipin antibodies in rheumatiod arthritis. Br J Rhomatol. 1987 Oct; 26(5): 346-50.
3. Milgrom F., Development of Rheumatioid factor research through 50 years. Scand J Rheumatol Suppl. 1988;75:2-12.
4. Bridges SL. Update on autoantibodies in rheumatoid arthritis. Curr Rheumatol Rep. 2004 Oct;6(5):343-50.
5. Ravelli A, Angelo MD. Macrophage activation syndrome. Curr Opin Rheumatol. 2002 Sep; 14(5): 548- 52.