

ارزیابی آزمون VDRL در مبتلایان به آرتریت روماتوئید

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

چکیده

زمینه و هدف: روماتوئید آرترایتس یک بیماری مزمن، التهابی، سیستمیک و مولتی فاکتوریال است که علامت مشخصه آن سینوویت مفاصل اندام فوقانی و تحتانی بطور قرینه است. علت اصلی بروز آن شناخته نشده است. شیوع این بیماری در جوامع مختلف بین ۰/۳ تا ۱/۵ درصد متغیر است و زنان سه برابر بیشتر از مردان به آن مبتلا می شوند. آنچه که امروزه بیشتر توجه کننده اتیولوژی بیماری تلقی می شود عوامل ایمنولوژیک و از جمله فاکتور روماتوئید یا RF است. این فاکتور عبارتست از آنتی بادی‌هایی که به دلایل نامعلوم بر علیه ناحیه ثابت IgG خودی تولید می شود. این فاکتور در افراد سالم دیده نمی شود و احتمال ابتلا به بیماری در افرادی که تست روماتوئید فاکتور آنها مثبت باشد به شدت افزایش می یابد. هدف از این تحقیق ارزیابی تست VDRL در بیماری آرتریت روماتوئید است تا از این طریق بتوان ارزش پاراکلینیکی این آزمون را در تشخیص این بیماری مورد بررسی قرار داد.

روش بررسی: برای تهیه نمونه سرم بیمار از ۷۰ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید بستری در بیمارستان لقمان الدوله نمونه گیری خون انجام شد، این بیماران از نظر سابقه ابتلا به بیماری های دیگر مورد ارزیابی قرار گرفته بودند و برای تهیه نمونه سالم از ۷۰ نمونه خون اهداءکنندگان خون مراجعه کننده به سازمان انتقال خون که سابقه هیچگونه بیماری قابل توجهی نداشتند نمونه گیری به عمل آمد. محلوله سنی 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 درپوش دار، با ذکر مشخصات در فریزر ۲۰- درجه نگهداری و حداکثر تا دوهفته تحت آزمون سرولوژیک VDRL قرار گرفت.

یافته ها: در طی انجام آزمون VDRL بر روی سرم مردان و زنان بیمار که جمعاً 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 باتوجه به تعداد بیشتر زنان در مقایسه با مردان در جمعیت بیمار، پاسخ مثبت عمدتاً 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 تیتیر مثبت VDRL بودند به عبارت دیگر ۵/۷٪ پاسخ مثبت داشتند، و در ۷۰ نفر از بیماران، ۱۷ نفر واجد تیتیر مثبت نسبت به VDRL بودند یعنی ۲۴/۳٪ 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 با استفاده 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 آرتریت روماتوئید مفید واقع گردد.

واژه های کلیدی: ارزیابی، آزمون VDRL، آرتریت 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

آرتریت 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 ایمنولوژی گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۲ دکترای 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

خود نشان نمی دهند و با پیشرفت بیماری علائمی نظیر خستگی، تب، کاهش وزن، تعریق و سفتی صبحگاهی در آنها ظاهر می شود این بیماری تمایل 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 نظیر استرپتوکوک 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 نظیر HLA-D4 و HLA-DR4 مطرح گردیده اما در این میان آنچه که امروزه بیشتر توجه دانشمندان را به خود جلب کرده عوامل ایمنولوژیک 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.

اپی توپ آنتی ژنی روی بخش ثابت ملکول IgG که آنتی بادی بر علیه آن ساخته می شود در افراد سالم وجود ندارد و این موضوع امکان بروز تغییر اپی توپ 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 تحریک سیستم ایمنی و تولید اتو آنتی بادی بر علیه IgG می شود. اتصال اتوآنتی بادی های یاد شده با ایمونوگلوبین های تغییر شکل یافته منجر به تشکیل کمپلکس های ایمنی و تثبیت کمپلمان بر روی آنها می شود. برخورد پلی مورفونوکلترها به کمپلکس

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 آزاد شدن آنزیمهای لیزوزمی از سلولهای فوق شده و التهاب را تشدید می کنند (۴). تشخیص روماتوئید آرترایتیس 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 و بالاخره ضعف و رنگ پریدگی از دیگر علائم مبتلایان به این بیماری است.

اصولاً وجود فاکتور روماتوئید یا آنتی بادی بر علیه اسیدهای نوکلئیک و یا سایر تستهای آزمایشگاهی نظیر شمارش گلبولهای سفید، هیچیک مختص این بیماری نبوده و به تنهایی نمی توانند نشان دهنده ابتلا به آرتریت روماتوئید باشند. به همین دلیل و به دلیل وجود هیچ یافته پاتوگنومینیک 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 نظیر ANA، Anti Ds - DNA، Anti SS-DNA، CRP 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

در این مطالعه از کیت RPR (Rapid Plasma Reagin) استفاده شد که دارای سوسپانسیون آنتی ژنی و کنترل مثبت و منفی است. قبل از شروع کار بایستی ابتدا نمونه های سرم و محتویات کیت را به دمای اتاق رساند و سوسپانسیون آنتی ژنی را با حرکت ملایم 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 رقیق نشده، ریخته شده و سپس به هریک از محیط های فوق ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون آنتی ژنی اضافه و بوسیله همزن پلاستیکی به آرامی مخلوط نمود تا در تمام سطوح دایره یکنواخت گردد. پس از ۶ تا ۸ دقیقه تکان دادن، لام از نظر فلوکولاسیون مورد بررسی قرار گرفت. معمولاً در آزمون VDRL موارد مثبت بصورت توده های بزرگ و متوسط فلوکولاسیون در زیر میکروسکوپ و یا با چشم غیر مسلح دیده می شود و موارد منفی بصورت ذرات سوزنی شکل و با پراکندگی یکنواخت مشاهده می شوند و عملاً هیچگونه فلوکولاسیونی دیده نمی شود. روش یاد شده روشی کمی است بنابراین برای اندازه گیری تیتراژ VDRL (بالاترین رقت سرمی که فلوکولاسیون 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 سانتریفوژ گردید. بعد از جداسازی، سرم در ویالهای کوچک دردار جمع آوری شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری و حداکثر 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 لسیتین خالص که بصورت استاندارد تهیه شده و بصورت ویالهای آماده به بازار عرضه می گردد)، بافر نمکی VDRL (محلول یک درصد کلروسدیم با ۰/۱ pH = ۶ است که ۰/۵ میلی لیتر فرمالدهید، ۰/۳۷ گرم Na₂HPO₄، ۰/۱۷ 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 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 تیتراژ VDRL در گروه شاهد به تفکیک جنس و رقت سرمی

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

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

گروه‌های مورد آزمایش تیتزر	مردان		زنان		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
سرم منفی	۱۴	۶۶/۷	۳۹	۷۹/۶	۵۳	۷۵/۷
سرم مثبت رقیق نشده	۲	۹/۵	۵	۱۰/۲	۷	۱۰
سرم مثبت با رقت ۱/۲	۲	۹/۵	۳	۶/۲	۵	۷/۲
سرم مثبت با رقت ۱/۴	۱	۴/۸	۱	۲	۲	۲/۸
سرم مثبت با رقت ۱/۸	۲	۹/۵	۱	۲	۳	۴/۳
جمع	۲۱	۱۰۰	۳۹	۱۰۰	۷۰	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 تیتزر 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 تیتزر مثبت VDRL در دو گروه شاهد و بیمار

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

بحث

مردان مشاهده گردید. باتوجه 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 تیتزر VDRL بر روی سرم ۷۰ فرد سالم و بیمار که از لحاظ عدم سابقه ابتلا 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 عمدتاً پاسخ مثبت در گروه

منابع :

1. Babic-Nagic D. Early rheumatoid arthritis. *Reumatizam*. 2008;55(2):26-33.
2. Keane A, Woods R, Dowding V, Roden D, Barry C. Anticardiolipin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol*. 1987 Oct; 26(5): 346-50.
3. Milgrom F., Development of Rheumatoid 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.