اندازه گیری غلظت لاکتات مایع سینوویال مفصل زانو و سرم در بیماران آرتریتی

علی شریفی خطیر[۱]- دردی قوجق[۲]- بهناز یوسف قهاری[۳]

چکیده

زمینه و هدف: مارکر مناسبی برای بررسی میزان ترقیق در آنالیز بیومارکرهای مایع مفصلی معرفی نشده است. تا کنون در روش بررسی بیومارکرهای مایع مفصلی از معرف رنگ استفاده می شد که همراه با خطا است. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تغییرات نسبت غلظت لاکتات در مایع مفصلی و سرم به عنوان بیومارکر ترقیق مایع مفصلی در بیماران آرتریتی است.

روش تحقیق: این تحقیق بصورت موردی – مقطعی بود. نمونه مایع سینوویال از تعداد ۳۰ بیمار آرتریتی از طریق آسپیراسیون مستقیم تهیه شد. همچنین از این بیماران نمونه سرم تهیه گردید. مقدار لاکتات مایع سینوویال و سرم توسط روش استاندارد بیوشیمیایی اندازه گیری شد. برای مقایسه بین نتایج گروههای آزمایش از روش آماری student t-test با $p<۰/۰۵$ استفاده گردید.

یافته ها: غلظت لاکتات در مایع سینوویال (۲/۳±۱۴/۱ میلی گرم در دسی لیتر) نسبت به غلظت آن در سرم (۲/۱±۱۲/۹ میلی گرم در دسی لیتر) بیشتر است ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نیست ($p>۰/۰۵$).

نتیجه گیری: تفاوت غلظت لاکتات بین مایع سینوویال و سرم از نظر آماری معنی دار نیست و نسبت تغییرات غلظت لاکتات در مایع سینوویال و سرم ثابت است.

کلیدواژه ها: لاکتات؛ بیو مارکر؛ آرتریتی؛ مایع سینوویال

افق دانش؛ فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد (دوره ۱۵؛ شماره ۱؛ بهار سال ۱۳۸۸)

دریافت: ۱۳۸۷/۳/۱۹ اصلاح نهایی: ۱۳۸۸/۲/۲۲ پذیرش: ۱۳۸۸/۳/۱۳

۱- پزشک عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

۲- **نویسنده مسؤول؛** دانشیار، بخش بیوشیمی بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

آدرس: بابل- خیابان گنج افروز – دانشگاه علوم پزشکی بابل- دانشکده پزشکی- بخش بیوشیمی

تلفن: ۲۲۲۹۵۹۱ -۰۱۱۱ نمابر: ۲۲۲۶۱۰۹-۰۱۱۱ پست الکترونیکی: dqujeq@hotmail.com

۳- استادیار، بخش داخلی، بیمارستان یحیی نژاد بابل، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

مایع سینوویال غیرالتهابی شفاف، چسبنده و به رنگ زرد است. اما مایع سینوویال در شرایط التهابی کدر و زرد رنگ است (۱). ترکیباتی که در نتیجه متابولیسم غضروف و یا مفصل به مایع سینوویال اضافه می شوند، می توانند وضعیت متابولیسمی غضروف را نشان دهند (۲,۳). کنترل مفصل توسط آنالیز مایع مفصلی انجام می شود، در این موارد مکش مستقیم مایع مفصلی خصوصاً در مفاصل غیر پاتولوژیک که مایع مفصلی کم و بسیار چسبناک است، به سختی انجام می شود (۴,۵). در روش شستشوی مفصلی، مقدار ۵-۳ میلی لیتر از املاح در مفصل تزریق می شود و بعد از حرکت مفصل از طریق مکش مایع مفصلی تهیه می شود (۴,۵). آنالیز بیومارکرها در این رابطه به دلیل عدم اطلاع از میزان ترقیق آن همراه با اشتباهات است (۶,۷). روش دیگر برای بررسی مایع مفصلی استفاده از رنگ ها مانند آبی ایوانز (۶) و سبز ایندوسیانین (۷,۸) است ولی به دلیل جذب و متابولیسم این رنگ ها در مایع مفصلی و انجام واکنش های مختلف در مایع سینوویال این روش کاربرد چندانی ندارد. اما اوره، ترکیبی است که بین خون و مایع سینوویال به روش انتشار ساده جریان می یابد و در مایع سینوویال تجزیه و تولید و بطور کلی متابولیزه نمی شود و بنابراین می تواند مارکر مناسبی برای بررسی میزان ترقیق در روش شستشوی مفصل باشد (۹). در مطالعات قبلی گلوکز و لاکتات به عنوان مارکرهای التهاب سینوویال در آرتریت روماتوئید و استئوآرتریت گزارش شده است (۱۲-۱۰). در یک پژوهش، اسیدلاکتیک در مایع سینوویال برای بررسی سینوویت باکتریال مورد استفاده قرار گرفته است و نتایج این تحقیق نشان داده مقدار اسید لاکتیک در مقایسه با گروه کنترل که از بین تعداد ۹۹ نفر که به عفونت آرتریت مبتلا نبوده اند و ۹۰ نفر آنها التهابی بودند، افزایش می یابد(۱۵-۱۳). فاکتورهای بیوشیمیایی مایع سینوویال و سرم مورد آنالیز قرار گرفته و نتایج نشان داد که مقدار پروتئین، گلوکز، اسیداوریک، فسفر، کلسیم، سدیم، پتاسیم، منیزیم و فعالیت آنزیمهای لاکتات دهیدروژناز، کراتین کیناز، آسپارتات آمنیوترانسفراز مایع سینوویال نسبت به سرم کمتر است (۱۶). چرخه اوره در موش های مبتلا به آرتریت مورد بررسی قرار گرفته و یافته های این تحقیق نشان داد که مقدار اوره خون در موش های آرتریتی بالاتر از گروه کنترل است، بطوریکه مقدار اوره در آرتریت ها ۲۵/۶٪ درصد افزایش می یابد (۱۷). فاکتورهای بیوشیمیایی مانند کلسیم، فسفر، گلوکز، کلسترول، اوره، اسید اوریک، پروتئین ها و آلبومین در مایع سینوویال در تعداد ۱۰۰ مورد پس از مرگ مورد بررسی قرار گرفته و یافته ها نشان دادند که غلظت فاکتورهای بیوشیمیایی مورد بحث نسبت به شرایط طبیعی کاهش می یابد (۱۸). توسط توران و همکاران در تعداد ۳۵ نفر بیمار مبتلا به بهجت همراه با آرتریت و بدون آرتریت، رسپتورهای فاکتور نکروزه تومور به عنوان مارکر آرتریتی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۹). آنالیز بیوشیمیایی مایع سینوویال در تشخیص افیوژن مفصل بسیار مهم است و ترکیبات آن نشان دهنده شرایط متابولیک بافت سینوویال است (۲۰). بکار گیری غلظت اوره برای تعیین حجم مایع سینوویال توسط کراوس و همکاران مورد بررسی قرار گرفته است (۲۱). با توجه به اینکه آنالیز بیومارکرهای موجود، به دلیل عدم اطلاع از میزان ترقیق آن همراه با خطا است، همچنین استفاده از رنگ ها مانند آبی ایوانز و سبز ایندوسیانین به دلیل جذب و متابولیسم این رنگ ها در مایع مفصلی و واکنش های مختلف این رنگ ها با مایع سینوویال دقت لازم را ندارد، بنابر این ضرورت دارد بیومارکرهای جدید یافت شود که بین خون و مایع سینوویال به روش انتشار ساده جریان یابند و در مایع سینوویال تجزیه و تولید نشوند، لذا هدف از انجام پژوهش حاضر، بکار گیری و کاربرد تغییرات غلظت لاکتات به عنوان بیومارکر در بررسی شرایط مایع سینوویال مفصل زانو و اندازه گیری میزان ترقیق مایع مفصلی بیماران آرتریتی است.

روش بررسی

نوع مطالعه: بصورت تحقیق بصورت موردی – مقطعی بود. انتخاب تعداد۳۰ بیمار با توجه به مقدار میانگین فاکتورهای اندازه گیری، با اطمینان ۹۵٪، توان آزمون ۸۰٪ و تعداد

Archive of SID

www.SID.ir

بیماران مراجعه کننده به بخش داخلی در سالهای ۱۳۸۴-۱۳۸۳ و همکاری آنان در طول بررسی و انجام آزمایش بود.

از این ۳۰ نفر بیمار تعداد ۲۲ زن با متوسط سنی ۴/۷ ± ۴۳/۸ سال تعداد ۲۰ مورد مبتلا به آرتریت التهابی و ۲ مورد مبتلا به آرتریت غیر التهابی بودند و نیز ۸ مرد که ۵ مورد مبتلا به آرتریت التهابی و ۳ مورد مبتلا به آرتریت غیر التهابی با متوسط سنی ۴/۲ ± ۴۵/۹ سال بودند. بیماران با رضایت و با اطلاع کامل از روش آزمایش با پژوهش حاضر همکاری کردند.

طرز تهیه مایع سینوویال و سرم: تعداد ۳۰ نفر از بیماران آرتریتی صرف نظر از جنس توسط پزشک متخصص روماتولوژی در مطب و یا بیمارستان شهید یحیی نژاد بابل از طریق علائم بالینی و آزمایشگاهی تشخیص و انتخاب انجام شد. سپس به میزان ۱ تا ۳ میلی لیتر مایع مفصلی زانو با تکنیک آسپیراسیون، آسپیره نموده و در لوله آزمایش ۵ میلی لیتری جمع آوری نموده و همزمان ۳ تا ۵ میلی لیتر از خون همین بیماران تهیه کرده، سپس مستقیماً به آزمایشگاه بیمارستان شهید یحیی نژاد و یا شهید بهشتی انتقال داده و پس از آن مایع سینوویال و سرم به دانشگاه انتقال داده شد و غلظت لاکتات پس از آماده سازی نمونه ها به روش استاندارد و اسپکتروفتومتری و کیت آزمایشگاهی اندازه گیری شد.

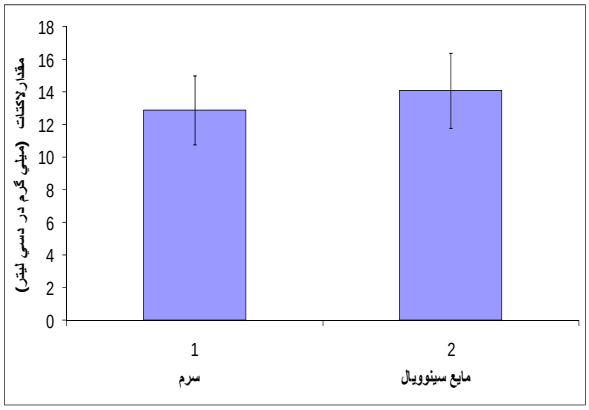
روش اندازه گیری لاکتات: مقدار لاکتات سرم و مایع سینوویال پس از آماده سازی نمونه ها براساس روش کیت استاندارد راندوکس H.W ۱۵۳۰ اندازه گیری شد.

نمونه ها از بین افرادی که از درد مفاصل شکایت داشتند انتخاب و افرادی که بیماری زمینه ای (دیابت، قلبی) و مصرف دارو داشتند و همچنین افرادی که همکاری لازم در طول مطالعه نداشتند از مطالعه خارج شدند.

مقادیر برحسب Mean ± SD ارایه شدند. برای مقایسه نتایج گروههای آزمایش از روش آماری student t-test استفاده شد. معنی دار بودن نتایج در مقایسه با کنترل با $p<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

در نمودار ۱ مقادیر میانگین غلظت لاکتات سرم و مایع سینوویال آورده شده است. غلظت لاکتات در مایع سینوویال بیماران آرتریت التهابی نسبت به سرم بیشتر است ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نمی باشد.



نمودار ۱: میانگین غلظت لاکتات سرم و مایع سینوویال در بیماران آرتریتی. مقادیر برحسب Mean ± SD ارائه شده است.

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که نسبت تغییرات لاکتات در مایع سینوویال و سرم با ضریب ثابت و بصورت مستقیم است، این یافته ها نشان می دهند که غلظت لاکتات به همراه سایر شاخص های بیوشیمایی مانند اوره و گلوکز در مایع سینوویال به عنوان بیومارکر در بررسی میزان ترقیق مایع مفصلی در بیماران آرتریتی قابل استفاده هستند. با توجه به اینکه مایع سینوویال یک فیلتر ساده خون می باشد. بنابراین باید رابطه ثابت بین مایع سینوویال و غلظت مولکولهای کوچک موجود باشد و مطالعات قبلی نیز نشان داده است که رابطه ثابت بین غلظت لاکتات سرم و مایع سینوویال وجود دارد (۳,۱۱,۱۲). کنترل مفصل توسط آنالیز مایع مفصلی انجام می شود و در این موارد مکش مستقیم مایع مفصلی خصوصاً در مفاصل غیر پاتولوژیک که مایع مفصلی کم و بسیار چسبناک است، به سختی انجام می شود (۴,۵). در بررسی مفصل زانو با روش شستشوی مفصلی، مقدار ۵-۳ میلی لیتر از املاح در مفصل تزریق می شود و بعد از حرکت مفصل از طریق مکش با مایع

Archive of SID
www.SID.ir

مفصلی تهیه می شود (۴,۵). آنالیز بیومارکرها در این رابطه به دلیل عدم اطلاع از میزان ترقیق آن همراه با اشتباهات است (۶,۷). روش دیگر برای بررسی مایع مفصلی استفاده از رنگ ها است، به دلیل جذب و متابولیسم این رنگ ها در مایع مفصلی و انجام واکنش های مختلف در مایع سینوویال این روش کاربرد چندانی ندارد. با توجه به نمودار ۱ یافته های پژوهش حاضر نشان داد که غلظت لاکتات در مایع سینوویال بیماران آرتریت التهابی تفاوت قابل توجهی با مقدار آن در سرم ندارد و اختلاف از نظر آماری معنی دار نمی باشد. این عدم تغییر غلظت لاکتات ممکن است به دلیل تغییر جریان آب بین خون و مایع سینوویال و تغییر سنتز لاکتات در مایع سینوویال باشد که اثرات این دو فاکتور همدیگر را خنثی کرده و تغییر چندانی در غلظت لاکتات مشاهده نمی شود. لذا با توجه به عدم تغییر غلظت لاکتات مایع سینوویال و سرم برای بررسی و اندازه گیری میزان ترقیق مایع مفصلی در بررسی بیومارکرهای مفصل زانو در بیماران آرتریت التهابی قابل استفاده است.

اهمیت و کاربرد بررسی تغییرات لاکتات در مایع سینوویال و سرم در بررسی مفصل زانو روش شستشوی مفصلی است، زیرا مقدار ۵-۳ میلی لیتر از املاح در مفصل تزریق می شود و بعد از حرکت مفصل از طریق مکش، مایع مفصلی تهیه می شود. آنالیز بیومارکرها در این رابطه به دلیل عدم اطلاع از میزان ترقیق آن همراه با اشتباهات است. با توجه به اینکه نسبت تغییرات لاکتات در مایع سینوویال و سرم با ضریب ثابت و بصورت مستقیم است، لذا برای تصحیح میزان ترقیق از این نسبت می توان استفاده کرد.

نتیجه گیری

تفاوت غلظت لاکتات بین مایع سینوویال و سرم از نظر آماری معنی دار نیست، نسبت تغییرات غلظت لاکتات در مایع سینوویال و سرم ثابت است و این نسبت ثابت نشان می دهند که این ترکیب به عنوان بیومارکر در بررسی شرایط مایع سینوویال و اندازه گیری میزان ترقیق مایع مفصلی بیماران آرتریتی مناسب است.

تشکر و قدردانی

از کلیه بیمارانی که در تهیه نمونه مایع سینوویال همیاری و همکاری داشتند نهایت تشکر و امتنان را داریم. از پرسنل بیمارستان شهید یحیی نژاد و شهید بهشتی که در تهیه نمونه مایع سینوویال و سرم در اجرای این پژوهش همکاری داشتند، تشکر می نماییم. از مدیریت محترم پژوهشی و معاونت محترم پژوهشی دانشکده پزشکی که نهایت همکاری را داشتند، قدردانی می نماییم.

References:

1- Khalvat A, Montazary S. The principle of Harrison Internal Medicine. Chapter32. Tehran: Arjomand Publication 2001: 176-188 .

2- Lohmander LS. Auricular cartilage and osteoarthritis, The role of molecular markers to monitor breakdown. Repair and disease. J Anat 1994; 184: 477-92.

3- Lindhorst E, Vail TP, Guilak F, Wang H, Setton LA, Vilim V. Longitudinal characterization of synovial fluid biomarkers in the canine meniscectomy model of osteoarthritis. J Orthop Res 2000; 18: 269-80.

4- Lohmander LS, Dahkberg L, Eyre D, Lark M, Thonar EJ, Ryd L. Longitudinal and cross-sectional variability in markers of joint metabolism in patients with knee pain and particular cartilage abnormalities. Osteoarthritis Cartilage, 1998; 6: 351-61.

5- Vaatainen U, Lohmander LS, Thonar E, Hongisto T, Agren U, Ronkko S. Markers of cartilage and synovial metabolism in joint fluid and serum of patients with chondromalacia of the patella. Osteoarthritis Cartilage, 1998; 6: 115-24.

Archive of SID

www.SID.ir

6- EI-Sayed H, Goodall SR, Hainsworth R. Re-evaluation of Evans blue dye dilution method of plasma volume measurement. Clin Lab Haematol 1995; 17: 189-94.

7- Busse MW, Zisowsky S, Henschen S, Panning B, Piepenbrock S. Plasma volume estimation using indocyanine green: a single intravenous injection method. Anaesthesia 1993; 48: 41-3.

8- Haller M, Akbulut C, Brechtelsbauer H, Fett W, Briegel J, Haller M, Akbulut C. Determination of plasma volume with indicyanine green in man. Life Sci. 1993; 53: 1597-604.

9- Simkin PA, Pizzorno JE. Transynovial exchange of small molecules in normal human subjects. J Apple Physiol 1974; 36: 581-7.

10- Pejovic M, Stankovic A, Mitrovic DR. Lactate dehydrogenase activity and its isoenzymes in serum and synovial fluid of patients with theumatoid arthritis and osteoarthritis. J Rheumatol 1992; 19: 529-33.

11- Ropes M, Bennett G, Bauer W. The origin and nature of normal synovial fluid. J Clin Invest 1939; 19: 351-72.

12- White A, Handler P, Smith E, Hill R, Lehman I. Principles of biochemistry. 6th ed. New York: McGraw- Hill 1978: 699-700.

13- Levick J. Determinants of volume turnover and material concentration. In: Kuettner K, Schleyerbach R, Peyron J, Hascall V, editors. Articular cartilage and osteoarthritis. New York: Raven Press 1992: 529-41.

14- Myers SL, Brandt KD, Eilam O. Even low-grade synovitis significantly accelerates the clearance of protein from the canine knee: implications for measurement of synovial fluid markers of osteoarthritis. Arthiritis Rheum 1995; 38: 1085-91.

15- Gratacos J, Vila J, Moya F, Marcos MA. D-lactic acid in synovial fluid. A rapid diagnostic test for bacterial synovitis. J Rheumatol 1995; 22(8): 1504-8.

16- Nazifi S, Rezakhani A, Gheisari HR. Physical, biochemical and cytoligic properties of blood and synovial fluid in clinically normal adult camel (Camelus dromedaries). Zentrable Veterinamed A. 1998; 45(3): 155-60.

17- Yassuda Filho P, Bracht A, Lshii-Iwamoto EL, Lousano SH. The urea cycle in the liver of arthritic rats. Mol. Cell. Biochem. 2003; 243(1-2): 97-106.

18- More DS, Arroyo MC. Biochemical changes of the synovial liquid in corpses with regard to the cause of death. 1: Calcium, inorganic phosphorus, glucose, cholesterol, urea nitrogen, uric acid, proteins, and albumin. J Forensic Sci. 1985; 30(2): 541-6.

19- Turan B, Pfister K, Diener PA, Hell M, Moller B, Boyvat A. Soluble tumor necrosis factor receptors sTNFR1and sTNFR2 are produced at sites of inflammation and are markers of arthritis activity in Behcets disease. Scand J Rheumatol 2008, 37(2): 135-141.

20- Ciurtin C, Cojocaru VM, Miron IM, Preda F, Milicescu M. Bojinca M, Costan O. Correlation between different components of synovial fluid and pathogenesis of rheumatic disease. Rom J Intern Med. 2006, 44(2): 171-181.

21- Krass VB, Stabler TV, Kong SY, Varju G, McDaniel G. Measurement of synovial fluid volume using urea. Osteoarthritis Cartilage 2007, 15910: 1217-12.

Archive of SID

www.SID.ir

Determination of lactate level in Serum and joint knee Synovial Fluid in patients with Arthritis

A. Sharifi Kh.[1], D. Qujeq [2], B. Yousef Ghahhary[3]

Abstract

Background and Aim: There is not a suitable marker in dilution method in analysis of biomarker in joint fluid. In past, dye dilution method was used for joint fluid, but there were some errors. The aim of this work is the use of rate change lactate level in serum and synovial fluid of patients with arthritis by application of dilution method and direct aspiration as a biomarker.

Materials and Methods: In this cross-sectional study synovial fluid were obtained from 30 arthritis patients by direct aspiration. Also, serum sample were obtained from these patients. Serum and synovial fluid Lactate level was measured by standard biochemical methods. For analysis results Students t-test was used and P was less than 0.05.

Results: Lactate concentration increases in synovial fluid (14.1 ±2.3 mg/dl) in compare with serum (12.9 ± 2.1 mg/dl), but the differences were not significant.($p>0.05$).

Conclusion: The difference between lactate concentration in synovial fluid and serum is not significant. The rate change of lactate concentrations in synovial fluid and serum was stable.

Key words: Lactate; Biomarker; Arthritis; Synovial Fluid

Archive of SID

Ofogh-e-Danesh. GMUHS Journal. 2009; Vol. 15, No. 2

1- General Physician, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.
2- **Corresponding Author;** Associate Professor, Department of Biochemistry and Biophysics, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.
Tel: +98-111-2229591 **Fax:** +98-111-2226109 **Email:** dqujeq@hotmail.com
3-Assistant Professor, Internal Medicine, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.

www.SID.ir