جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی تهران
سال ۶۲، شماره ۱۰، صفحات ۸۲۵ تا ۸۲۹، (۱۳۸۳)

ارتباط آهن قابل رنگ‌آمیزی پارانشیم کبد با غلظت آهن کبد خشک

دکتر سید محمود حبیب‌زاده*، دکتر فرید آزموده اردلان*، دکتر محسن نصیری طوسی، دکتر گیتی ایروانلو***

* بخش پاتولوژی، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
** بخش گوارش، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

مقدمه: روش معمول تعیین محتوای آهن در بیوپسی‌های کبد، تعیین درجه آهن قابل رنگ‌آمیزی بر روی مقاطع هیستولوژیک می‌باشد. در این مطالعه ارتباط بین درجه آهن قابل رنگ‌آمیزی با غلظت آهن کبد خشک (روش استاندارد) بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: بر روی ٦١ مورد بیوپسی کبد، غلظت آهن کبد به روش بیوشیمیایی تعیین شده با آهن قابل رنگ‌آمیزی کبد مقایسه گردید.

یافته‌ها: میانگین غلظت آهن کبد در درجات صفر، ۲، ۳ و ٤ بترتیب ٦٦/٦، ۱۱۵۳/۰، ۱۲۸۲/۵ و ۲۷۳۷/٤ میکروگرم در صد میلی‌گرم وزن خشک کبد بود. غلظت آهن کبد در درجات صفر و ٤ با بقیه اختلاف معنی‌داری داشت ولی در درجه ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری نشان نداد. سپس درجه‌بندی آهن به ۳ دسته Low (معادل درجه صفر و ۱)، intermediate (معادل درجه ۲ و ۳) و High (معادل درجه ٤) تقسیم شد که میانگین غلظت آهن در هر ۳ گروه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان می‌داد.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: بطور کلی ارتباط نسبتاً خوبی بین غلظت آهن کبد و آهن قابل رنگ‌امیزی کبد بخصوص در درجات بالا و پایین (و نه درجات حد واسط) وجود داشت.

مقدمه

بیماریهایی که سبب تجمع بیش از حد آهن در بدن می‌شوند متعدد بوده و شیوع بالایی دارند. از آنجا که کبد محل اصلی ذخیره آهن بوده (۱) از طرفی جهت بررسی دقیق ذخیره آهن بدن نسبتاً در دسترس می‌باشد (۲)، بیوپسی کبد اطلاعات دقیقی در مورد ذخیره آهن و شدت هرگونه بیماری همراه فراهم می‌نماید (۱). دو روش جهت بررسی آهن کبد در نمونه‌های بیوپسی کبد استفاده می‌شود:

۱- روش استاندارد، تعیین بیوشیمیایی غلظت آهن کبد (Hepatic iron concentration یا HIC) در بافت فیکس نشده و خشک می‌باشد (۳). این روش نیاز به هموژنیزه کردن و هضم کردن نمونه کبد بوسیله اسید، قبل از تعیین آهن به روش کالریمتریک و یا اسپکتروسکوپی جذب اتمی (Atomic absorption spectroscopy) دارد (٤). روش کالریمتریک و روش جذب اتمی همبستگی بسیار خوبی نشان می‌دهند (٥،٦،٧).

۲- روش شایعتر درجه‌بندی (grading) هیستولوژیک آهن قابل رنگ‌آمیزی با استفاده از واکنش آبی پروس (رنگ‌آمیزی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

پرل) می‌باشد (٤). اگرچه این روش ارزش اثبات شده‌ای دارد ولی یافته‌های آهن همواره براحتی قابل تفسیر نمی‌باشد خصوصاً در مورد میزان آهن قابل رنگ‌آمیزی طبیعی همواره اختلاف نظر وجود دارد. از طرفی ممکن است مقادیر قابل ملاحظه آهن قابل رنگ‌آمیزی وجود داشته باشد در حالیکه غلظت آهن کبد در حد طبیعی و یا مختصری افزایش یافته باشد (۸). نیز باید در نظر داشت که درجات ۲ و ۳ رسوب آهن بطور ضعیفی با محتوای آهن مرتبط است (۲). نکته دیگر آنست که در اکثر روش‌های درجه‌بندی هیستولوژیک تفسیر نتایج بسیار Subjective بوده تکرارپذیری نتایج پایین است. بنابراین تفسیر نتایج آهن قابل رنگ‌آمیزی باید در مقایسه با روش استاندارد ساده گردد. در این مطالعه ارتباط بین درجه آهن قابل رنگ‌آمیزی کبد با غلظت آهن کبد (روش استاندارد) بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

تعداد ٦١ مورد بیوپسی کبد انجام شده در مبتلایان به بیماریهای مختلف کبدی مورد مطالعه قرار گرفت. یک قسمت از نمونه بصورت خشک در ظرف عاری از آهن (iron free) ارسال شده جهت اندازه‌گیری HIC استفاده می‌شد. بدین منظور نمونه ابتدا ٤٨-٢٤ ساعت در فور $70^{\circ}C$ گذاشته می‌شد تا خشک گردد بطوریکه وزن نمونه دیگر کمتر نشود. پس از وزن کردن نمونه خشک شده، ۰/۲cc اسید نیتریک غلیظ بر روی نمونه ریخته شده بمدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری آب‌جوش قرار می‌گرفت تا محلول کاملاً شفاف گردد. قبل از اندازه‌گیری آهن نمونه، PH محلول توسط بافر استات‌سدیم در حد ٤/٥ تعدیل می‌شد و سپس آهن نمونه به روش ferene (روش کالریمتریک) تعیین می‌گردید.

قسمت دیگر نمونه در فرمالین ارسال شده مقاطع هیستولوژیک تهیه شده از آن به روش پرل رنگ‌آمیزی می‌شد و درجه سیدروز به روش Sindram and Marx (۱۹۸۸) تعیین می‌شد. در این روش عدم رسوب آهن معادل درجه صفر، رسوب آهن در Zone1 معادل درجه ۱، وجود آهن در Zone 1,2 معادل درجه ۲، رسوب آهن در Zone 1,2,3 معادل درجه ۳ و رسوب آهن در هر سه Zone و نیز اپی‌تلیوم مجاری صفراوی معادل درجه ٤ محسوب می‌شود.

در تعدادی از بیماران سطح فریتین سرم همزمان با انجام بیوپسی اندازه‌گیری شده میزان همبستگی آن با HIC محاسبه گردید.

یافته ها

از ٦١ بیمار مورد مطالعه ۱۷ نفر (۲۷/۹٪) زن و ٤٤ نفر (۷۲/۱٪) مرد بودند. حداقل و حداکثر سن بیماران مورد مطالعه بترتیب ۱۳ و ٥٩ سال و میانگین سنی بیماران ۳۱/۲ سال بود. در بیماران مورد مطالعه ۱۵ نفر مبتلا به هپاتیت C، ۱۲ نفر مبتلا به هپاتیت B، ٥ نفر مبتلا به تالاسمی ماژور و ۱۱ نفر بطور همزمان مبتلا به تالاسمی ماژور و هپاتیت C بوده، ۱۷ نفر سایر اختلالات کبدی داشتند.

در رنگ‌آمیزی پرل انجام شده ٤٥ مورد درجه صفر، ۳ مورد درجه ۲، ٤ مورد درجه ۳ و ۹ مورد درجه ٤ رسوب آهن را نشان دادند. هیچ موردی از درجه ۱ آهن وجود نداشت. در تمامی این بیماران HIC اندازه‌گیری شد که HIC در درجات مختلف سیدروز کبدی مطابق جدول شماره ۱ بود.

ضریب همبستگی میزان HIC و درجه سیدروز کبدی r=۰/۸۹ می‌باشد. در بررسی آماری داده‌های جدول شماره ۱، میزانHIC در درجه صفر سیدروز با درجات ۲، ۳، ٤ اختلاف معنی‌داری داشت. (بترتیب P=۰/۰۰٤، P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۰۰۰۰۳). همچنین میانگین HIC در درجه ٤ با درجات ۲ و ۳ اختلاف معنی‌دار نشان داد (بترتیب P=۰/۰٥ و P=۰/۰۳) ولی میانگین HIC در درجات ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری نداشت. (P=۰/٤٨). اگر درجه‌بندی آهن را به ۳ دسته Low (معادل درجه صفر و ۱)، intermediate (معادل درجه ۲ و ۳) و High (معادل درجه ٤) تقسیم نماییم میانگین HIC در هر یک از سه گروه بترتیب ٦٦/٦، ۱۲۲٦/۹ و ۲۷۳۷/٤ میکروگرم در صد میلی‌گرم کبد خشک می‌باشد. مقایسه

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

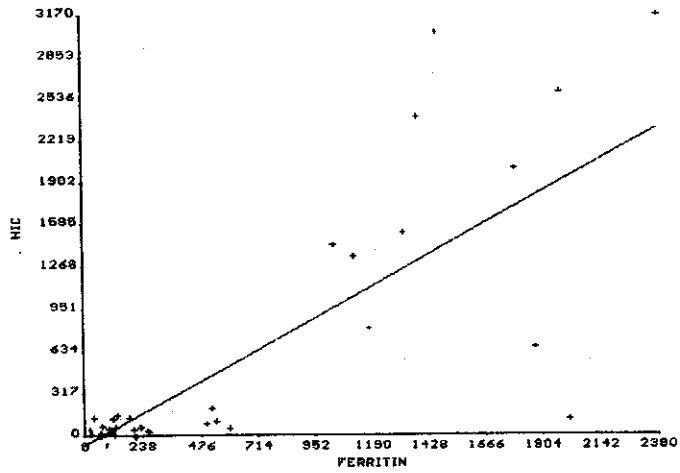
جدول شماره ١- مقادیر HIC در درجات مختلف آهن قابل رنگ‌آمیزی

Iron grade	Frequency	HIC* (mean)	HIC (median)	HIC (SD)**	HIC (min-max)
٠	٤٥	٦٦/٦	٥٣/٨	٤٨/٨	٠/٠-٢١٤/٤
٢	٣	١١٥٣/٠	١٣٥٠/٠	٤٢١/٦	٦٦٩/٠-١٤٤٠/٠
٣	٤	١٢٨٢/٥	١٢٦٧/٠	٤٥١/٨	٨٠٨/٢-١٧٨٦/١
٤	٩	٢٧٣٧/٤	٢٦٠٦/٩	١٢٠٥/٢	٣١٥/٣-٤٤٧٣/٧

* HIC : Hepatic iron concentration (microgram/100 mg dry weight)
**SD : Standard deviation

HIC در این درجات اختلاف معنی‌داری را بین هر سه درجه نشان می‌دهد. (درجه Low و High با P=٠/٠٠٠٠٠٣، درجه Low و intermediate با P=٠/٠٠٠٠٢٤ و درجه High با intermediate با P=٠/٠١٥).

بررسی همبستگی HIC و سطح فریتین سرم در ٣٦ بیمار (که سطح فریتین سرم آنها موجود بود) نشاندهنده ضریب همبستگی r=٠/٨٢ بود (شکل شماره ١) ولی با در نظر گرفتن مقادیر فریتین بالای ١٠٠٠ $\mu g / L$ و بررسی همبستگی آن با HIC، r=٠/٣١ بدست آمد.



شکل شماره ١- نمودار همبستگی مقادیر HIC و سطح فریتین سرم

بحث

صرف‌نظر از دو مورد بالاترین مقادیر HIC، حداکثر میزان HIC در درجه صفر سیدروز ١٥٧/٥ μg / ١٠٠mg dry weight بود که با در نظر گرفتن مقادیر پایین‌تر از ١٨٠ μg / ١٠٠ mg dry weight بعنوان مقادیر طبیعی تمامی این موارد در محدوده طبیعی قرار دارند. دو مورد بالاترین مقادیر HIC در این درجه (٢١٤/٤ و ٢٠٢/١ میکروگرم در صد میلی‌گرم کبد خشک) مربوط به مواردی بودند که در رنگ‌آمیزی پرل رسوب آهن در سلول‌های کوپفر وجود داشت ولی در هپاتوسیت رسوب آهن دیده نمی‌شد که این موضوع قبلاً نیز گزارش شده است (١). این شکل ناشی از اشکال در اغلب (و

نه همه) روش‌های درجه‌بندی آهن قابل رنگ‌آمیزی کبد است که در آنها ملاک فقط آهن رسوب کرده در سلول‌های کبدی بوده سلول‌های کوپفر در نظر گرفته نمی‌شود. میانگین HIC بدست آمده در این درجه مطابقت خوبی با مطالعات قبلی نشان می‌دهد (۱،۹).

میانگین HIC در درجه ۲ سیدروز mg dry weight /۱۰۰ ۱۱۵۳/۰ μg (۶۶۹/۰-۱۴۴۰/۰) بود. این مقدار در مطالعه M.Barry (۱)، ۲۳۶ و در مطالعه Ck Li و همکاران (۹)، ۶۷۰ میکروگرم در صد میلی‌گرم کبد خشک بود. این موضوع احتمالاً بدین دلیل است که در مطالعهٔ ما همه موارد سیدروز درجه ۲، بیماران تالاسمی ماژور (یکی از آنها همراه با هپاتیت C) بودند که ترانسفیوژن گرفته و هموسیدروز ثانویه در سلول‌های کوپفر وسیع بود ولی در مطالعه M.Barry تعدادی از موارد هموکروماتوز اولیه بودند. در تائید این مطلب مشاهده می‌گردد که در مطالعه Ck Li و همکاران که بر روی بیماران تالاسمی ماژور انجام گرفته است، میزان HIC به نسبت مطالعه M.Barry بالاتر است.

متوسط غلظت آهن کبد در درجه ۳ سیدروز، اختلاف معنی‌داری با درجه ۲ نشان نداد. در مطالعات مختلف مقادیر HIC در درجات حد واسط بطور متغیری همپوشانی داشته‌اند بطوریکه بعضاً بین درجه ۱ و ۲ و برخی دیگر بین درجات ۲ و ۳ همپوشانی ذکر نموده‌اند (۱،۲،۹). این موضوع می‌تواند دلایل مختلف داشته باشد از جمله تنوع روش‌های درجه‌بندی آهن قابل رنگ‌آمیزی کبد، عدم مرزبندی کاملاً دقیق و شفاف بین درجات مختلف در هر کدام از روش‌های درجه‌بندی، وابسته بودن درجه‌بندی به مهارت و تجربه پاتولوژیست و تفاوت در نوع بیماران مورد مطالعه. (زیرا در بیماران مبتلا به سیدروز ثانویه رسوب آهن از سلول های کوپفر شروع شده سپس در مراحل پیشرفته‌تر هپاتوسیت‌ها را نیز درگیر می‌کند ولی در مبتلایان هموکروماتوز اولیه از ابتدا درگیری هپاتوسیت‌ها وجود دارد). میانگین HIC در درجه ٤ بدون در نظر گرفتن پایین‌ترین مقدار، mg dry weight /۱۰۰ ۳۰٤۰/۲ μg (۲۰۱۱/۲-٤٤۷۳/۷) بود که با مطالعات قبلی مطابقت خوبی نشان می‌دهد (۱،۹). پایین‌ترین مقدار HIC در این درجه (mg dry weight /۱۰۰ ۳۱۵/۳ μg) مربوط به موردی بود که رسوب آهن به مقدار ناچیز در سلول‌های کوپفر و هپاتوسیت‌ها در هر سه Zone ولی به مقدار فراوان در اپی‌تلیوم مجاری صفراوی دیده شد. برای چنین وضعیتی در سیستم درجه‌بندی مورد استفاده ما (Sindram and Mar) توضیح مشخصی وجود ندارد ولی احتمالاً باید آن را در درجه ٤ قرار داد. این مورد نیز جزء اشکالات سیستم درجه‌بندی آهن قابل رنگ‌آمیزی کبد می‌باشد.

در صورت تقسیم‌بندی ۳ درجه‌ای سیدروز (High و intermediate, Low) نه تنها در هر ۳ درجه اختلاف معنی‌داری از نظر میانگین HIC وجود دارد بلکه تقریباً هیچگونه همپوشانی بین مقادیر HIC در درجات مختلف وجود نخواهد داشت. مشابه این کار البته بصورت دو درجه‌ای Low (معادل ۱ و۲)و High (معادل درجه ۳ و٤) قبلاً انجام شده است (۹).

اگرچه سطح فریتین سرم بطور کلی با HIC ارتباط خوبی نشان می‌دهد (r =۰/۸۲) ولی در مقادیر فریتین بالای ۱۰۰۰/L μg این ارتباط بسیار کاهش می‌یابد. (r=۰/۳۲) بنابراین به نظر می‌رسد که اگرچه بیماران دارای فریتین پایین را می‌توان با اندازه‌گیری سطح فریتین سرم و بدون بیوپسی پیگیری نمود ولی در افرادی که دارای فریتین‌های بالا هستند بیوپسی باید انجام شود و HIC محاسبه گردد.

این مطالعه نشان داد که بین درجه آهن قابل رنگ‌آمیزی کبد و غلظت آهن کبد بطور کلی ارتباط نسبتاً خوبی وجود دارد (r=۰/۸۹) اگرچه این ارتباط بیشتر در درجات بالا و پایین مشهود بوده در درجات حد واسط تا حدودی همپوشانی بین مقادیر HIC به چشم می‌خورد. با اینحال در مراکزی که امکان اندازه‌گیری HIC وجود ندارد درجه‌بندی هیستولوژیک هموسیدروز می‌تواند روش جایگزین خوبی باشد. در صورت استفاده از روش درجه‌بندی هیستولوژیک پیشنهاد می‌شود که از روش ۳ درجه‌ای (High و intermediate, Low) بجای روش ۵ درجه‌ای (از صفر تا ٤) استفاده شود. فریتین سرم اگرچه در مقادیر پایین می‌تواند جهت پیگیری درمان استفاده شود ولی در مقادیر بالا چندان کمک کننده نیست.

منابع

1. Barry M. Liver iron concentration, stainable iron and total body storage iron. Gut 1974; 15: 411-15.

2. Tavill AS. Diagnosis and management of hemochromatosis. Hepatology 2001 May: 1321-8.

3. Crawford JM. The Liver and the billiary tract. In: Cotran Rs, komar V, Collins T, editors. Robbins pathologic basis of disease. 6th ed. USA: W.B saunders; 1999. P: 845-901.

4. Beilby JP, prins AW, Swanson NR. Determination of hepatic iron concentration in fresh and paraffin- embedded tissue. Clinical chemistry 1999; 45 No.4: 573-4.

5. Searle J. leggete BA, Crawford DHG, powell FW. Iron storage disease. In: Macsween RNM, Burt AD, portman BC etal. Editors. Pathology of the liver. 2nd ed. USA: Churchill livingstone; 2002. P: 257-76.

6. Olynyk JK, O'neill R, Britton RS, Bacon BR. Determination of hepatic iron concentration in fresh and paraffin – embedded tissue: diagnostic implications. Gastroentrology 1994; 106: 674-7.

7. Emond MJ, Bronner MP, Carlson TH etal. Quantitative study of the variability of hepatic iron concentration. Clin chem 1999 mar; 45(3): 340-6.

8. Barry M, sherlock S. Measurement of liver-iron concentration in needle- biopsy specimens. The lancet 1971; January 16: 100-3.

9. Li CK, Lam CWK, To KF etal. Liver disease in transfusion dependent thalassemia major. Arch Dis child 2002; 86:344-7.