

بررسی NAG ادرار و عوامل مرتبط با آن در مبتلایان به تالاسمی ماژور مراجعه کننده به بیمارستان مفید تهران، ۱۳۸۳

دکتر معصومه مکم*، دکتر شاهین نریمان^۱، دکتر شهین شمسیان^۲، دکتر تقی ارزانیان^۳، دکتر لطیف گمکار^۴

چکیده

سابقه و هدف: در مورد درگیری کلیوی در مبتلایان به تالاسمی ماژور اطلاعات محدودی در دسترس می باشد و علت وقوع اختلال توبولار کلیه در این بیماران ناشناخته مانده است. اما احتمال می رود که افزایش بار آهن موجب اختلال در پراکسیداسیون چربی ها شده که با افزایش سطح مالون دی آلدئید و NAG (N-Acetyl Glucosaminidase) ادرار نشان داده می شود. NAG یکی از پروتئین های توبول پروکسیمال کلیه می باشد که سطح ادراری آن در آسیبهای توبولار کلیوی افزایش نشان می دهد. با توجه به محدودیت مطالعات در این زمینه و فقدان مطالعه مشابه در ایران این مطالعه با هدف تعیین عملکرد کلیوی، وقوع اختلالات کلیوی و عوامل همراه در بیماران تالاسمی ماژور مراجعه کننده به مرکز آموزشی درمانی کودکان مفید وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در طی سال ۱۳۸۳ انجام شد.

مواد و روش ها: این مطالعه به روش توصیفی - مقطعی روی ۱۰۳ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور انجام گردید. روش نمونه گیری به صورت نمونه گیری مستمر بوده و تشخیص تالاسمی بر اساس تعاریف استاندارد گذاشته شد. پس از ثبت مشخصات دموگرافیک هر بیمار، با اخذ ۴ سی سی خون و یک نوبت نمونه ادرار ناشتا، الکترولیت ها و کروماتوگرافی اسیدهای آمینه خون و ادرار و اوره و قند خون و پروتئین و NAG ادرار به روش کلریمتریکی و با کیت Diazyme USA اندازه گیری شد سپس ارتباط بین پارامترهای مذکور، سن و جنس بیماران و طول مدت تزریق خون و مصرف دسفرال ارزیابی گردید. اطلاعات به نرم افزار آماری منتقل شد و شیوع NAG غیر طبیعی و حدود اطمینان آن و عوامل مرتبط با آزمون های Spearman و t.Chi-square مورد آزمون قرار گرفت.

یافته ها: میانگین سن بیماران $12/5 \pm 5/53$ سال بود و ۵۳٪ بیماران مونث و مابقی مذکر بودند. شیوع موارد غیر طبیعی U-NAG (۴۵٪-۲۶٪)، $FE-Na$ (۲۹/۱٪)، $FE-K$ (۷/۸٪)، $FE-UA$ (۵۲/۴٪)، Upr/Ucr (۸۹/۳٪)، Uca/Ucr (۲۲/۳٪) و کروماتوگرافی اسیدهای آمینه ادرار (۱۲/۶٪) بود. متوسط سن در گروه با U-NAG غیر طبیعی ۱۵/۲ سال و در گروه با U-NAG طبیعی ۱۰/۹ سال بود ($P < 0/001$). U-NAG غیر طبیعی با سن بیماران ($r = 0/35$ ، $p < 0/001$) و مدت تزریق دسفرال ($r = 0/31$ ، $p < 0/001$) و مدت دریافت خون ($r = 0/34$ ، $p < 0/001$) و قند خون ناشتای بیماران ($r = 0/2$ ، $p < 0/043$) همبستگی مستقیم و معنی داری داشت. U-NAG غیر طبیعی با سایر متغیرها و نسبتهای ادراری همبستگی معنی داری نشان نداد.

نتیجه گیری: اختلال عملکرد کلیوی از عوارض بیماری بتا تالاسمی ماژور می باشد که شیوع آن با افزایش سن، طح قند خون ناشتا و همچنین افزایش طول مدت تزریق خون و مصرف دسفرال بالا می رود. لذا توصیه می شود که قبل از آسیب شدیدتر کلیوی بیماران به وسیله تستهای حساس و اختصاصی مورد بررسی قرار گیرند و همچنین با توجه به این که از ارقام طبیعی سطح NAG ادراری در جامعه خود اطلاع کافی نداریم و عوامل متعددی از جمله نژاد و سایر متغیرها در این آزمایش دخیل می باشند، بهتر است نقطه برش این پارامتر در کشور ما تعیین گردد.

واژگان کلیدی: NAG ادراری، اختلال توبول کلیوی، تالاسمی ماژور

* نویسنده مسؤول: فوق تخصص کلیه کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، آدرس برای مکاتبه: تهران - خیابان شریعی - روبروی حسینیه ارشاد - بیمارستان کودکان مفید

E-mail: mohkamm@yahoo.com

^۱ دستیار کودکان، بیمارستان کودکان مفید - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

^۲ فوق تخصص خون کودکان، بیمارستان کودکان مفید - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

^۳ متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشیار مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

مقدمه

روش نمونه‌گیری مستمر و در طی مدت یکسال انجام گردید. با مراجعه به بخش تالاسمی بیمارستان کودکان مفید، کلیه افرادی که دارای تشخیص قطعی تالاسمی ماژور، بر اساس تعریف استاندارد (۴)، بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا مشخصات دموگرافیک هر بیمار ثبت گردید. سپس با اخذ ۴ سی‌سی خون و یک نوبت نمونه ادرار ناشتا، آزمایشات زیر در آزمایشگاه بیمارستان مفید و توسط تکنسین واحد با نظارت پاتولوژیست و متخصص علوم آزمایشگاهی به عمل آمد.

به جهت اختصاصی بودن آزمایش NAG این تست منحصراً توسط متخصص علوم آزمایشگاهی و از طریق ارسال نمونه‌های سانتیفوژ شده ادرار به مرکز تحقیقات غدد بیمارستان طالقانی انجام شد. سدیم و پتاسیم ادرار به روش اسپکتروفوتومتری و و با دستگاه اپندورف، کلسیم، فسفر، اسید اوریک خون و ادرار و اوره و قند خون همگی به روش اسپکتروفوتومتری و با کیت پارس آزمون، کروماتوگرافی اسیدهای آمینه به روش TLC و با کیت Manual، پروتئین ادرار به روش سولفوسالیسیلیک اسید و با کیت Manual، بررسی NAG ادرار به روش کلریمتریک و با کیت Diazyme USA و شمارش کامل سلولی با دستگاه Sysmaex انجام گردید. جهت افزایش دقت کار برای بررسی میزان دفع الکترولیت‌های ادراری، کسر دفعی سدیم، پتاسیم، اسیداوریک و نسبت کلسیم به کراتینین و همچنین نسبت پروتئین به کراتینین محاسبه گردید. سن، جنس، طول مدت تزریق خون و دسفرال بیماران نیز جهت تعیین وجود یا عدم وجود ارتباط با سطح NAG ادراری بررسی شد. اطلاعات به نرم افزار آماری SPSS منتقل شد و تجزیه و تحلیل آماری بر اساس آزمونهای t، Chi-square و Spearman انجام و حدود اطمینان محاسبه شد.

سطح طبیعی در نظر گرفته شده (Cut-off point) در آزمایشات به شرح زیر است:

Hbg \geq 9gr/dl
 FE-Na \leq 1% (FE-Na=UNa/UCr \times PCr/PNa \times 100)
 FE-K \leq 20% (FE-K = UK/UCr \times PCr/PK \times 100)
 FE-Uric Acid \leq 10% (FE-UA=UUA/UCr \times PCr/PUA \times 100)
 UCa/UCr < 0.2
 UPr/UCr < 0.2
 U-NAG=0.3-12 IU/L

طبق مطالعات انجام شده حدود ۱۰۰۰۰۰ مورد بیمار هموزیگوت تالاسمی در دنیا (۱) و بر اساس بررسی مرکز بیماران تالاسمی در سال ۱۳۷۹ حدود ۲۰۰۰۰ مورد بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور در ایران وجود دارد (۲). وقوع کم خونی شدید، رسوب آهن در بافت‌ها و ارگانهای مختلف بدن به دلیل تزریق مکرر خون، موجب اختلال عملکرد ارگانهای مختلف به ویژه سیستم غددی، قلبی و کبدی می‌شود و یکی از علل عمده مرگ و میر این بیماران نقص عملکرد ارگانها است (۳،۴). در مورد درگیری کلیوی در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور اطلاعات محدودی در دسترس می‌باشد. علت وقوع اختلال توبولار کلیه در بیماران تالاسمی ماژور ناشناخته مانده است (۵-۱). اما احتمال می‌رود که افزایش بار آهن موجب اختلال در پراکسیداسیون چربی‌ها شده که با افزایش سطح مالون دی آلدئید و NAG (N-Acetyl Glucosaminidase) ادرار نشان داده می‌شود (۶-۹). NAG یکی از پروتئین‌های توبول پروکسیمال کلیه است که در جریان آسیب‌های کلیوی در ادرار دفع می‌گردد. تحقیقات نشان می‌دهد که آسیب گلوبولار کلیه نیز در بیماران تالاسمی ممکن است به وقوع بپیوندد (۳) که علت این نوع آسیب کلیوی را عفونت راجع به عدم توانایی در پاک کردن کمپلکس‌های ایمنی در اثر عفونت و استفاده مکرر از دسفرال می‌دانند (۱۰).

به نظر می‌رسد که هر چه مدت زمان بیماری بیشتر باشد عوارض کلیوی آن نیز مشابه سایر عوارض افزایش می‌یابد (۸) اما در این مورد اتفاق نظر وجود ندارد و در سایر مطالعات این مساله به اثبات نرسیده است (۳،۱۰) لذا میزان شیوع مشکلات کلیوی این بیماران و نیز عامل خطر آن دقیقاً معلوم نیست. با توجه به محدودیت مطالعات در این زمینه و فقدان مطالعه مشابه در ایران در این تحقیق عملکرد کلیوی، شیوع اختلالات کلیوی و عوامل مرتبط در بیماران تالاسمی ماژور مراجعه کننده به مرکز آموزشی درمانی کودکان مفید در طی سال ۱۳۸۳ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش توصیفی - مقطعی روی ۱۰۳ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور مراجعه کننده به بخش هماتولوژی بیمارستان کودکان مفید به

یافته‌ها

میانگین سنی ۱۰۳ بیمار مورد مطالعه $12/5 \pm 5/53$ سال (حداقل ۱ و حداکثر ۲۴ سال)، از نظر طیف سنی، $7/66$ ، $20/4$ ٪ و $13/6$ ٪ آنان به ترتیب ۱۱ سال و بیشتر، ۶-۱۰ سال و ۵-۱ سال داشتند. $53/4$ ٪ بیماران مونث و مابقی ($46/4$ ٪) مذکر بودند. مدت مصرف دسفرال $9/3 \pm 5/06$ سال، مدت دریافت خون $10/7 \pm 5/38$ سال، فشارخون سیستولیک $97 \pm 10/92$ mmHg و فشار خون دیاستولیک $66/9 \pm 8/89$ mmHg، سطح هموگلوبین $9/23 \pm 0/95$ gr/dl، سطح فریتین 1976 ± 1389 ng/dl، سطح اوره سرم $19/8 \pm 8/93$ mg/dl، سطح کراتی نین سرم $0/55 \pm 0/13$ mg/dl بود.

میزان سدیم $139/3 \pm 3/58$ و پتاسیم $4/36 \pm 0/37$ میلی اکی والان بر لیتر، کلسیم $9/54 \pm 0/51$ ، فسفر $4/87 \pm 0/83$ ، اسیداوریک سرم $4/52 \pm 1/29$ و قند خون ناشتای $105/4 \pm 33/78$ میلی گرم بر دسی لیتر بود. سطح بیکربنات در نمونه وریدی $24/7 \pm 2/75$ میلی اکی والان بر لیتر بود. کروماتوگرافی اسید آمینه‌های خون در تمام بیماران از الگوی طبیعی تبعیت می کرد. در بررسی نمونه ادراری، متوسط الکترولیتهای ادراری و انحراف معیار آنها عبارت بودند از سدیم ادرار $146/6 \pm 68/24$ میلی اکی والان بر لیتر، پتاسیم ادرار $59/7 \pm 37/24$ میلی اکی والان بر لیتر، کلسیم ادرار $10/7 \pm 6/8$ mg/dl، کراتی نین ادرار $85/7 \pm 54/9$ mg/dl، اسید اوریک $73/7 \pm 27/1$ mg/dl مقدار NAG ادرار $13/5 \pm 13/69$ Iu/l (حداقل $0/5$ و حداکثر $86/6$ با میانه $8/7$ واحد بین المللی) بود. بر اساس کیت آزمایشگاهی استفاده شده، طیف طبیعی برای NAG ادرار از $0/3$ تا 12 Iu/l می باشد. سطح پروتئین ادرار $46/2 \pm 35/9$ mg/dl بود.

با توجه به Cut-off point ذکر شده، شیوع موارد غیر طبیعی پارامترهای مورد بررسی تعیین که در جدول ۱، ذکر شده است. مقدار U-NAG در جامعه هدف این مطالعه با حدود اطمینان 95 ٪ بین 26 تا 45 درصد محاسبه شد.

متوسط سن در گروه با U-NAG غیرطبیعی $15/2$ سال و در گروه با U-NAG طبیعی $10/9$ سال بود ($p < 0/001$). U-NAG غیرطبیعی با سن بیماران ($p < 0/001$ ، $r = 0/35$)، مدت تزریق دسفرال ($p < 0/001$)، $r = 0/31$)، مدت دریافت خون ($p < 0/001$ ، $r = 0/34$) و قند خون ناشتا ($p < 0/043$ ، $r = 0/2$) همبستگی مستقیم و معنی داری داشت.

جدول ۱ - توزیع فراوانی وضعیت نرمال و غیر نرمال به تفکیک شافصهای

مورد مطالعه				
غیر نرمال		نرمال		متغیر مورد بررسی
درصد	شیوع	درصد	شیوع	
35/9	37	64/1	66	U NAG
29/1	30	69/9	72	FE Na
7/8	8	91/3	94	FE K
52/4	54	45/6	47	FE UA
89/3	92	9/7	10	U Pr/Cr
22/3	23	76/7	79	U Ca/Cr
12/6	13	87/4	90	U CHR

هیچ ارتباط معنی دار آماری بین جنس بیماران با سایر متغیرها و بین وضعیت U-NAG (طبیعی یا غیرطبیعی) با سایر متغیرها و نسبتهای ادراری مشاهده نشد.

بحث

Leena و همکاران با اذعان به کمبود اطلاعات در این زمینه در سال ۱۹۹۸ در تایلند در ۹۵ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور، میزان پروتئینوری و آمینواسیداوروی، اسمولالیتهی ادرار و الکتروفورز پروتئینهای ادرار را بررسی نمودند و نتیجه گرفتند که اسمولالیته ادرار در این بیماران به صورت بارزی پایین تر از سطح کنترل بوده است و دفع NAG و $\beta 2$ -microglobulin نیز نسبت به گروه کنترل افزایش قابل توجهی داشته است. همچنین سطح پلاسمایی و ادراری مالونیل دی آلدئید (MDA) نیز بالاتر از حد طبیعی بوده است (۳).

Cianciulli P و همکاران در سال ۱۹۹۴ در ایتالیا عملکرد کلیه را در ۱۹ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که در ۱۳ بیمار، صدمات توبولار کلیوی دیده می شود که در ۱۱ بیمار (85 ٪) سطح $\beta 2$ -microglobulin و هورمون رشد بیش از حد طبیعی بوده است (۷). Sumboonnanonda و همکاران در سال ۲۰۰۳ در تایلند در ۳۴ بیمار مبتلا به تالاسمی آلفا در گروه سنی کودکان، عملکرد کلیوی را بررسی نموده و مشاهده کردند که سطح ادراری $\beta 2$ -microglobulin -MDA, NAG در گروه مطالعه نسبت به گروه

با مقایسه مطالعه حاضر با سایر موارد ذکر شده می‌بینیم که اغلب مطالعات بر تعداد محدودی از بیماران انجام گردیده‌اند و در موارد نادری به شیوع مشکلات کلیوی اشاره گردیده است اما با توجه به تعداد قابل توجه بیماران در مطالعه ما بررسی شیوع و CI حائز اهمیت می‌باشند. به علاوه ارتباط الکترولیت‌های ادراری با سایر متغیرهای بیماران مثل سن و طول مدت تزریق خون و دسفرال نیز کمتر مورد توجه بوده است و تنها در مطالعه Aldudak این عوامل بررسی شده که نتایج مشابه مطالعه مذکور می‌باشد (۸).

لذا با توجه به آنکه در حدود ۲۰/۰۰۰ بیمار تالاسمی ماژور در کشور جمهوری اسلامی ایران تحت حمایت انجمن بیماران تالاسمی هستند (۲) و از طرف دیگر طبق آمار این انجمن سالانه ۵۰/۰۰۰/۰۰۰ ریال صرف هزینه‌های درمانی و بستری این بیماران می‌گردد. منطقی به نظر می‌رسد که قبل از آسیب شدیدتر کلیوی بیماران به وسیله تستهای حساس و اختصاصی مورد بررسی قرار گیرند تا هزینه‌های سنگین‌تر درمانی به سیستم بهداشتی - درمانی کشور تحمیل نگردد. همچنین با توجه به ارتباط شاخص حساس U-NAG غیرطبیعی با مدت مصرف دسفرال، توصیه می‌شود که سایر داروهای جایگزین مثل داروی خوراکی Deferiprone در کودکان نیز بررسی شود تا در صورت موثر بودن، جایگزین دسفرال تزریقی گردد که می‌تواند یکی از عوامل آسیب کلیوی باشد. نکته دیگر آن که چون از ارقام طبیعی سطح NAG ادراری در جامعه خود اطلاع کافی نداریم و عوامل متعددی از جمله نژاد و سایر متغیرها در این آزمایش دخیل می‌باشند، بهتر است نقطه برش این آزمایش در کشور ما تعیین گردد. نویسندگان بر ضرورت انجام تحقیق در مقیاس وسیع‌تر و در بیماران تالاسمی نقاط مختلف ایران تاکید می‌نمایند، تا از این طریق سطوح طبیعی آزمایشات در جامعه ایران مشخص و در عین حال امکان مقایسه ارقام این پروتئین در ادرار افراد جامعه مورد مطالعه در این تحقیق با افراد سایر مناطق مورد مطالعه فراهم آید.

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله مراتب تشکر خود را از جناب آقای دکتر شریفیان - جناب آقای دکتر شمشری - آقای دکتر Oktenli - سرکار خانم دکتر جدلی آقای دکتر جار الهی - آقای دکتر هدایتی - سرکار خانم قاضی - سرکار

کنترل افزایش قابل توجهی داشته است. همچنین در ۶۰٪ بیماران مورد مطالعه نسبت پروتئین به کراتینین ادرار بیشتر از مقدار طبیعی بوده و در ۲ بیمار آمینواسیدآوری ژنرالیزه دیده می‌شود (۵).

Aldudak B و همکاران در سال ۲۰۰۰ در ترکیه، در ۷۰ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور سطح خونی و ادراری Cr, BUN, کراتینین، سطح سرمی سدیم، فسفر، پتاسیم، اسیداوریک و کسر دفعی سدیم و دفع

ادراری اسیداوریک و سدیم و پتاسیم و NAG, MDA و اسمولالیته ادرار را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که سطح سرمی پتاسیم و فسفر و اسیداوریک در بیماران تحت مطالعه نسبت به گروه کنترل تفاوت بارزی داشته و نسبت ادراری پروتئین به کراتینین و NAG به Cr و MDA به کراتینین و TRP (باز جذب توبولار فسفر) نیز در مقایسه با گروه کنترل متفاوت است (۸). Oktenli C و همکاران در سال ۲۰۰۲ در ترکیه، در یک بیمار مذکر ۲۰ ساله مبتلا به تالاسمی مینور اختلال توبولار را گزارش نمودند. این بیمار با گلوکزوری و آنمی مراجعه کرده بوده و در ادرار ۲۴ ساعته سطح گلوکز و پروتئین های توبولار بیش از حد طبیعی بوده است (۹).

نکات قابل توجه در مطالعه حاضر عبارت بودند از:

دفع ادراری NAG در بیش از یک سوم بیماران تالاسمی ماژور تحت مطالعه غیر طبیعی بوده و با توجه به این که دفع این پروتئین یک معیار بسیار حساس در نقص توبولهای پروکسیمال کلیه است پس نتیجه می‌گیریم که در بیش از یک سوم این بیماران نقص توبولی کلیه ایجاد گشته است. اختلال عملکرد کلیوی به عنوان عارضه بیماری بتا تالاسمی ماژور همسان و حتی شایع‌تر از سایر عوارض رخ می‌دهد، لذا در طی درمان این بیماران باید به این مهم توجه نمود تا از آسیب‌های شدیدتر و جبران ناپذیر جلوگیری شود. آنهایی که نقص عملکرد کلیه داشته‌اند به نسبت آنهایی که نداشته‌اند سن بالاتری داشته و بیشتر در معرض تزریق خون و تزریق دسفرال بوده‌اند و به علاوه قند خون ناشتای بالاتری نیز داشته‌اند.

هم چنین این تحقیق نشان داد که عارضه کلیوی در بسیاری از بیماران در حالی رخ داده است که هنوز عوارض دیگر مشهود نشده است (پس از حذف موارد عارضه دار شده).

پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و اساتید محترم شورای پژوهشی که این طرح را تصویب نموده و موجبات انجام این تحقیق را فراهم نمودند، صمیمانه تشکر می‌نمائیم.

خانم نعمتی - دستیاران محترم فوق تخصصی بخش خون بیمارستان مفید و پرسنل محترم بخش آزمایشگاه بیمارستان مفید که ما را در انجام این تحقیق یاری فرمودند، ابراز می‌داریم. همچنین از معاونت محترم

REFERENCES

1. WWW.Thalassemia International Federation.Com

۲. گزارش آماری برنامه پیشگیری بتا تالاسمی ماژور در ایران ۸۰-۱۳۷۶. وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، معاونت سلامت، تهران، مرکز نشر صدا، ۱۳۸۲، صفحه ۲۸.

3. Leena OA. Renal function in adult beta thalassemia. *Nephron* 1998; 78: 156-61.

4. Stuart HO. The Thalassemia. In: Natan and Oskis, editors. *Hematology of childhood*. Williams & Wilkins; 2003: p. 842-919.

5. Sumboonanonda A. Renal tubular dysfunction in α - thalassemia. *Pediat, Nephrol* 2003; 18: 157-60.

6. Shinar E. Oxidative denaturation of renal blood cells in thalassemia. *Seminar Hematol* 1990; 27: 70-82.

7. Cianciulli P. Early detection of nephrotoxic effect in thalassemia patients receiving desferoxamine. *Kidney Int* 1994; 46: 467-70.

8. Aldudak B. Renal function in pediatric patients with beta thalassemia. *Pediat Nephrol* 2000; 15: 109-12.

9. Oktenli C. Renal tubular dysfunction in a patient with beta thalassemia minor. *Nephron* 2002; 92: 222-3.

10. Hyman CB. Effect of deferoxamine on renal function in thalassemia. *Br Defect. Orig* 1988; 23: 135-40.