

### بررسی تغییرات اسیدهای صفراوی سرم در بیماریهای کبدی

دکتر مهین زهرائی\* دکتر صدرالدین کلانتری\*\*

#### مقدمه

همچنین تعیین میزان همبستگی و حساسیت آنها با یکدیگر در بعضی از بیماریهای کبدی بی‌باشد.

مواد و روشهای بکار گرفته شده:

۱- نمونه های سرم از بیماران ناشتا از بخش های عفونی، جراحی و آزمایشگاه بالینی بیماران امام خمینی از آذرماه سال ۱۳۶۲ لغایت بهمن ماه ۱۳۶۴ تهیه شده است. و گروه بندی آنها با مراجعه به پرونده بیماران براساس تشخیص پزشکان متخصص به قرار زیر بوده است:

— هیپاتیت حاد ۳ نفر — هیپاتیت مزمن فعال ۱۸ نفر — هیپاتیت مزمن مداوم ۲۰ نفر — سیروز اولیه صفراوی ۱۶ نفر — تومور کبد و متاستاز تومور نقاط دیگر ۱۲ نفر — یرقان انسدادی ۱۴ نفر و ۲۸ نمونه سرم نیز از اشخاص سالم و ناشتا جهت شاهد تهیه شده است.

۲- روشها:

چون بجز آزمایش اندازه گیری مقدار اسیدهای

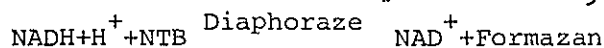
اسیدهای صفراوی ( اسید کولیک، کتودزوکسی کولیک و لیتوکولیک و...) ترکیباتی هستند که اختصاصا توسط کبد ساخته شده و مقدار آنها نیز به علت سیکل کبدی- روده ای تقریبا در بدن ثابت می ماند و روزانه فقط به مقدار مشخصی از طریق مدفوع دفع گشته (۱۲ و ۲۱) که آن هم از کلسترول موجود در کبد مجدداً سنتز و جایگزین می گردد (۷ و ۲). با توجه به فیزیولوژی کبد محققین معتقدند پیدایش هر ضایعه ای در کبد که منجر به پیدایش اختلال در اعمال و یا وضعیت سلولی آن شود، بر مقدار اسیدهای صفراوی اثر می گذارد که بررسی این تغییرات میتواند به عنوان یک تست نسبتاً حساس در تشخیص بیماریهای کبدی مورد استفاده قرار گیرد.

بنابراین هدف این مطالعه بررسی تغییرات اسیدهای صفراوی سرم و مقایسه آن با سایر تست ها مانند اندازه گیری میزان آلانین آمینوترانسفراز (ALAT)، آسپارات آمینو ترانسفراز (ASAT) گاما گلوتامیل ترانس پپتیداز (γ-GT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، بیلی روبین و آلبومین در سرم و

\* گروه بیوشمی دانشکده پزشکی تهران.

\*\* فارغ التحصیل رشته تخصصی بیوشیمی.

رنگ Formazan میکند .



میزان جذب نوری فورمازان در طول موج ۵۵۰ میلی — محاسبه میشود .

بعنوان استاندارد داز گلیکوکولات سدیم ، گلیکودز — اکسی کولات سدیم و تورونکودز اکسی کولات سدیم مخلوط در سرم گاوی بشماره کاتالوگ ۱۴۳۵۳ براساس دستورالعمل و رسم منحنی استاندارد استفاده شده است . در این روش اسیدهای صفراوی اولیه و ثانوی بصورت کنژوگه و یا غیر کنژوگه کاملاً " اندازه گیری میشوند ولی اسیدهای صفراوی که در کربن شماره ۳ سولفات شده اند محاسبه نمیشوند . این مشتقات غالباً " در سندرم کلستاتیک ایجاد شده و از ۲۰ — ۱۰ درصد مقدار تام اسیدهای صفراوی تجاوز نمی کند (۱۹) .

#### نتیجه

نتایج حاصل از بررسی مقادیر آنزیمها ، بیلیسی روبین ، آلبومین و اسیدهای صفراوی سرم متعلق به افراد سالم ناشتا بعنوان شاهد و بیماران کبدی در جدول شماره ۱ خلاصه شده است . با توجه به یافته های آزمایشگاهی ملاحظه میشود مقدار اسیدهای صفراوی سرم در تمام انواع بیماریهای کبدی آزمایش شده ، بالاتر از حد طبیعی است و بالاترین حد افزایش مربوط به هیپاتیت حاد ویروسی است ، حتی در هیپاتیت مزمن مداوم (C.P.H.) که کمترین افزایش مقدار مشاهده میشود با وجود این با مقایسه با شاهد ، ۴ — ۵ برابر مقدار اسیدهای صفراوی در اشخاص سالم میباشد .

در جدول شماره یک همچنین نتایج حاصل از تست های دیگر که تغییرات آنها ، نشان دهنده آسیب های سلولی ، کلستازیس (Cholestasis) و یا قدرت سنتز پروتئین کبدی است ، نشان داده شده است .

جدول شماره ۲ میزان همبستگی بین اسیدهای صفراوی سرم را با سایر تست های انجام شده نشان می دهد . چنانچه ملاحظه می شود میزان همبستگی اسیدهای صفراوی سرم با بیلی روبین تام خیلی زیاد است در صورتی که با سایر تست هابجز ترانس آمینازها چندان چشمگیر نیست .

صفراوی سرم ، بقیه آزمایشات انجام شده ، بطور روتین در بسیاری از آزمایشگاههای بالینی انجام میشود بنابراین فقط به اسم روش و شماره کیت مورد استفاده اکتفا میگردد ولی در مورد تست اسیدهای صفراوی توضیحات بیشتری داده خواهد شد . لازم به یادآوری است کیت های استفاده شده در این مطالعه مربوط به کارخانه مرک آلمان بوده است .

• بیلی روبین توتال — سرم — براساس روش Jendrassik and Grofs و با استفاده از کیت شماره ۳۳۵۸ (۱۴) .

— آلبومین سرم بروش رنگی آلبومین بروموکروزول گرین (Albumin-bromocresol green) (۱۴) .

— آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (۲۰۶۰۱۰۲) •  
 (ALAT, EC) و آسپارات آمینوترانسفراز (۲۰۶۰۱۰۱) •  
 (ASAT, EC) با استفاده از کیت UV بشماره ۳۳۹۷ — برای ALAT و ۳۳۹۸ برای ASAT بوده است .

— آنزیم گاما — گلوتامیل ترانس پپتیداز (۲۰۳۰۲۰۲) •  
 (GT, EC -) با کیت شماره ۳۳۹۴ براساس روش مدیفیه شده SZASZ .

— آنزیم آلکالین فسفاتاز (۳۰۱۰۲۰۱) (ALP, EC) با کیت شماره ۳۳۰۴ براساس روش Bessey, Lowry and Brock تعیین میزان فعالیت آنزیمی شده است .

— اسیدهای صفراوی سرم بروش آنزیمی که ساده و قابل انجام در تمام آزمایشگاههای بالینی میباشد اندازه گیری شده است . در این روش با استفاده از کیت شماره ۱۴۳۵۲ که براساس روش پیشنهادی Mashig (10, 5) میباشد استفاده شده است که مکانیسم عمل آن بقرار زیر است :

آنزیم ۳ — α — هیدروکسی استروئید دهیدروژناز  
 (3-HSD-EC.7.7.7.50 3-α-hydroxysteriod-dehydrogenase) یا  
 که بطور خالص تهیه شده و دارای خاصیت اکسیدوردوکتازی است براساس واکنشهای زیر بر روی اسیدهای صفراوی سرم اثر میکند .

3-α-Hydroxy-bile acids+NAD+  
 3α-HSD 3-Keto bile acids+NADH+H+  
 NADH حاصل بکمک یک دیافنور از روی Nitrotetrazolim (NTB) اثر کرده تولید مشتق آبی

(C.P.H.) میتوان استفاده کرد. بدین طریق که میزان اسیدهای صفراوی در سرم در هیاتیت مزمن مداوم مقدار کمی از طبیعی بیشتر است و در حد بالای پاتولوژیک نیست (۸) در صورتی که در هیاتیت مزمن فعال این افزایش مقدار واضح تر و طولانی تر است و براساس نظریه Soloways بررسی میزان اسیدهای صفراوی سرم تنها تست بیوشیمیایی است که می تواند سیر هیاتیت مزمن را معلوم نماید.

مقدار اسیدهای صفراوی سرم در بیماری سیروز صفراوی اولیه همیشه و بخصوص در مراحل پیشرفته بیماری به مقدار قابل ملاحظه ای افزایش می یابد و در مقادیر خیلی بالا می توان به حالت مسمومیت کبدی (Hepatotoxicity) مژنون شد (۳).

دریرقان انسدادی علاوه بر افزایش ترانس آمینازها و بخصوص آلکالن فسفاتاز مقدار اسیدهای صفراوی نیز کاملاً بالا است.

افزایش اسیدهای صفراوی در الکلها از اهمیت چشمگیری برخوردار است و بخصوص همراه با بررسی مقدار  $\gamma$ -GT مطمئن ترین روش برای تعیین میزان آسیب سلولی در کبد می باشد (۱۳، ۲۰).

از روی تغییرات اسیدهای صفراوی نیز می توان مسمومیت کبدی حاصل از مصرف بعضی از داروها مثل ایزونیاژید (Isoniazide)، اریترومسایسین (Erythromycin) و استامینوفن (Acetaminophen) را بررسی کرد (۹) و بالاخره یک معیار بیوشیمیایی خوبی برای جستجوی کارگران بعضی از کارخانجات که نوع کار آنها، احتمال ابتلا به بیماری کبدی را زیاد می کنند می باشد (۴).

همچنین میزان همبستگی اسیدهای صفراوی با تست های انجام شده بجز آلبومین یک همبستگی مثبت (Positive Correlation) و در مورد آلبومین منفی (Negative Correlation) می باشد (۷ و ۱۸).

جدول ۳ درصد مقایسه ای میزان حساسیت اسیدهای صفراوی را با سایر آزمایشات نشان می دهد. چنانچه به نظر می رسد اسیدهای صفراوی و بیلی روبین تام و آمینو ترانسفرازها از درجه حساسیت مشابهی برخوردارند.

### بحث

با توجه به جدول یک و مطالعات محققین دیگر می توان نتایج زیر را از مطالعه مقدار اسیدهای صفراوی سرم در انواع بیماریهای کبدی مورد مطالعه بدست آورد:

— در هیاتیت حاد در شروع بیماری مقدار اسیدهای صفراوی بطور قابل ملاحظه ای افزایش می یابند (۱ و ۱۵) و این افزایش مقدار هماهنگ با ترانس آمینازها (۶) گشته ولی دیرتر به حد طبیعی برمی گردد. بنابراین تحقیقا " می توان حساس ترین تست جهت بررسی هیاتیت حاد بشمار آورد. البته تغییرات اسیدهای صفراوی در هیاتیت حاد را بخصوص در بالغین نمی توان در ارتباط با اتیولوژی بیماری دانست، چنانکه با استفاده از این تست نمی توان به هیاتیت حاصل از ویروس A و یا B پی برد (۹).

— هیاتیت های مزمن چون دارای اتیولوژی متفاوت هستند، تنها راه تشخیص دقیق آنها بررسی میکروسکوپی است، با وجود این از تست اسیدهای صفراوی جهت تشخیص تفریقی هیاتیت مزمن فعال (C.A.H) و هیاتیت مزمن مداوم

جدول شماره ۱ - مقدار اسیدهای صفراوی سرم و سایر تست ها در بعضی از بیمارهای کبدی.

ALP U/l	γ-GT U/l	ALAT U/l	ASAT U/l	اسیدهای صفراوی μmol/l	آلبومین g/l	بیلی روبین تام mg/100	تعداد	مسوارد
۳۳/۷ ± ۳۳/۳	۱۵ ± ۵/۴	۱۱/۵ ± ۷/۳	۱۲ ± ۷	۴/۲۸ ± ۱/۱۲	۳۸ ± ۵/۵	۰/۷ ± ۰/۵۳	۲۸	سالم ناشتا
۷۴/۵ ± ۳۶	۳۵/۷۴ ± ۱۴/۷۶	۱۲۲/۵ ± ۱۰۳	۱۱۸/۸۶ ± ۱۱۴	۹۱ ± ۴۰/۹۱	۳۲/۸ ± ۶	۹/۷۴ ± ۶/۳۷	۳۰	هیپاتیت حاد ویرال
۸۴/۲ ± ۶۲/۵	۲۳/۲۳ ± ۱۵	۷۴/۸۶ ± ۶۰/۵	۱۲۴/۳ ± ۹۱/۲	۴۱/۱۳ ± ۱۵/۷۹	۳۸/۴ ± ۶/۶	۵/۹۶ ± ۴/۴۱	۱۸	هیپاتیت مزمن فعال
۶۸ ± ۵۶/۷	۴۳/۳۵ ± ۱۶/۱۲	۶۰/۷۸ ± ۱۰/۹	۶۳/۵۳ ± ۱۴/۷	۳۴/۵ ± ۱۲/۱۹	۳۱/۶ ± ۶/۷	۳/۱۵ ± ۰/۷۶	۲۰	هیپاتیت مزمن مداوم
۹۳/۴ ± ۵۳/۷	۳۹/۹ ± ۱۳/۱	۵۶/۶ ± ۵۱	۶۷/۳ ± ۵۹	۱۸/۹۲ ± ۱۳/۱	۲۵/۷ ± ۷/۳	۳/۹۱ ± ۲/	۱۲	تومور کبد و متاستاز تومورهای دیگر در کبد
۱۱۶/۳ ± ۴۲/۱	۳۸/۹۳ ± ۱۰/۲	۵۷/۳۵ ± ۵۲/۸	۷۵ /۷ ± ۸۴	۱۱۵/۴۲ ± ۷۸	۳۷/۲ ± ۴/۴	۱۱ ± ۶/۴۳	۱۴	یرقان انسدادی
۹۴/۱ ± ۷۲/۴	۸۶/۲ ± ۶۸/۵	۷۴/۳ ± ۶۸/۴	۸۳/۲ ± ۷۴/۱	۱۰۱ ± ۷۴/۵	۳۹/۳ ± ۳/۷	۴/۸۶ ± ۳/۹۷	۱۶	سیروز صفراوی اولیه

x - مقادیر برحسب میانگین و انحراف معیار (SD) می باشد.

جدول شماره ۲ - میزان همبستگی اسیدهای صفراوی سرم با سایر تست های کبدی.

ALP	γ-GT	ALAT	ASAT	آلبومین	بیلی روبین تام	مسوارد
۰/۰۶	۰/۱۵	۰/۲۳	۰/۳۵	- ۰/۱۴	۰/۷۲	هیپاتیت ویرال حاد
۰/۶۷	۰/۸۲	۰/۵۴	۰/۵۶	- ۰/۱۹	۰/۵۶	هیپاتیت مزمن فعال
۰/۱۸	۰/۲۶	۰/۲۳	۰/۲۲	- ۰/۲۰	۰/۳۶	هیپاتیت مزمن مداوم
۰/۱۷	۰/۰۲	۰/۰۷	۰/۰۶	- ۰/۲۱	۰/۷۰	یرقان انسدادی
۰/۰۶	۰/۰۴	—	—	- ۰/۱۷	۰/۳۲	سیروز صفراوی اولیه
۰/۱۶	۰/۲۳	۰/۳۷	۰/۳۳	- ۰/۰۶	۰/۳۸	تومور کبد و متاستاز تومورهای دیگر در کبد

جدول شماره ۳- درصد حساسیت مقدار اسیدهای صفراوی تام سرم با تست های مقایسه شده در بیماریهای مختلف کبدی

ALP U/l	γ-GT U/L	ALAT U/l	ASAT U/l	آلبومین g/l	بیلی روبین تام mg/100	اسیدهای صفراوی μmol/l	مصادر
۲۲/۷ ± ۲۲/۳	۱۵ ± ۵/۴	۱/۵ = ۷/۳	۱۲ ± ۷	۳۸ ± ۵/۵	۰/۷ ± ۰/۵۳	۴/۲۸ ± ۱/۱۲	سالم ناشتا
۸۸	۸۹	۹۹	۹۸	۸۶	۹۴	۹۶	هیپاتیت ویرال حاد
۸۱	۹۱	۹۷	۹۶	۸۰	۷۳	۱۰۰	هیپاتیت مزمن فعال
۵۶	۸۰	۹۶	۹۵	۲۴	۲۵	۸۷	هیپاتیت مزمن مداوم
۸۹	۷۰	۹۲	۹۴	۸۸	۸۳	۱۰۰	پرفان انسدادی
۹۶	۹۴	۹۵	۹۳	۸۰	۷۹	۹۸	سیروز صفراوی اولیه
۵۶	۶۹	۶۷	۸۹	۷۲	۴۲	۷۳	تومور کبد و متاستاز تومورهای دیگر در کبد

### Summary

Total serum bile acids were estimated by an enzymatic (3α-hydroxy steroid-dehydrogenase) method in 110 fasting patients with various liver disease, classified in to 6 groups and 28 healthy and fasting persons as a reference group. The results were compared with other liver routine tests like bilirubin, albumine, transaminases, alkaline phosphatase and also gamma-glutamyl transpeptidase. Moderate correlations were observed with bilirubin or transaminases, as a positive and with albumin as a negative index in a few patient groups. The sensitivity of total bile acids in serum as a liver function test was rather high, and also added some new information to the test.

### References:

- 1- Annoni, G., G. Barbi, C. Donati, G. Ideo., N. Dioguardi: Les acides biliaires seriques dans les maladies du foie. *Gastroenterologie Clinique et biologique.* 487(1977):1,5.

- 2- Bjorkhem, I.: Formation of bile acids in man: Conversion of cholesterol into 5-cholestane-3, 7, 12 triol in liver homogenates. *J. Clin. Invest.* 47(1968):1573.
- 3- Bloomer, J.R., M. Allen, G. Klatskin: Serum bile acids in primary biliary cirrhosis. *Arch. Intern. Med.* 136(1976):57.
- 4- Demers, L.M.: Diagnostic use of serum bile acid measurements. *Laboratory management* 5(1979):43.
- 5- Fumiko Mashige, Naomi Tanaka, Akemichi Maki, Sachiko Kamei, and Manabu Yamanak. Direct spectrophotometry of total bile acids in serum. *Clin. Chem.* 27/8, 1352-1356(1981).
- 6- Frosch, B., H. Wagner: Quantitative determination of conjugated bile acids in serum in acute hepatitis. *Nature (London)* 213(1967):404.
- 7- Hallen, J., and Laurell, C.B. Plasma protein pattern in cirrhosis of the liver. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 29, Suppl. 124, 97(1972).
- 8- Jones, M.B., S. Weinstock, R.L. Koztez, K. Lewin, J. Higgins, J.L. Gituick: Clinical value of serum bile acid levels in chronic hepatitis. *Digestive disease and sciences* 11(1981):978.
- 9- Lloyd-Stile, J.D., L.M. Demers: Serum bile acids in pediatric hepatobiliary disorder. *Am. J. Clin. Pathol.* 71(1971):44.
- 10- Mashige, F., Imai, K., and Osuga, I., A simple and sensitive assay of total serum bile acids. *Clin. Chim. Acta* 71, 21(1976).
- 11- Makino, I., Shinozaki, K., Nakagawa, S. and Mashimo, K., Measurement of sulfated and non sulfated bile acids in human serum and urine. *J. Lipid Res.* 15, 132(1974).
- 12- Mosbach, E.H., M.A. Rotschild, I. Beckersk, M. Oratz, J. Mongelli: Bile acid synthesis in the isolated perfused rabbit liver. *J. Clin. Invest.* 50(1971):1720.
- 13- Milstein, H.J., J.R. Bloomer, G. Klatskin. Serum bile acids in alcoholic liver disease: Comparison with histologic features of the disease. *Am. J. Digest. Dis.* 21(1976):281.
- 14- Norbert W. Tietz: *Fundamentals of clinical chemistry* 2Ed. Saunders (1982):377.
- 15- Neale, G.B., Lewis, W., Weaver, D., Panveliwalla: Serum bile acids in liver disease. *Gut* 12(1971):145.
- 16- Pennington, C.R., P.E. Ross, I.A.D. Bouchier: Serum bile acids in the diagnosis of hepatobiliary disease. *Gut* 18(1977):903.
- 17- Shefer, S., S. Hauser, C. Lapa: Regulatory effects of sterols and bile acids on hepatic 3-hydroxy 3-methylglutaryl CoA reductase and cholesterol

- 7 $\alpha$ -hydroxylase in the rat. *J. Lipid Res.* 14(1973):575-580.
- 18- Socolow, E.L., Woeber, K.A., Purdy, R.H., et al., Preparation of I<sup>131</sup>-labeled human serum prealbumin and its metabolism in normal and sick patients. *J. Clin. Invest.* 44, (1965).1600.
- 19- Stiehl, A., Bile salt sulphates in cholestasis. *Eur. J. Clin. Invest.* 4, 59(1974).
- 20- Weiss, S., P. Miller, M. Cornele: Clinical utility of cholyglycin in alcoholic liver disease. *Clin. Chem.* 24(1978):996.
- 21- Wilson, J.D. The role of bile acids in the overall regulation of steroid metabolism. *Arch. Intern. Med.* 130(1972):493-505.