مجله دانشکده پزشکی تهران
فروردین و اردیبهشت ــ ۱۳۶۶صفحه ۴۵

بررسی تغییرات اسیدهای صفراوی سرم در بیماریهای کبـــــدی

دکتر مهین زهرائی* دکتر صدرالدین کلانتری**

مقـــدمـــه

اسیدهای صفراوی (اسید کولیک ،کنودزوکسی‌کولیک و لیتوکولیک و . . . .) ترکیباتی هستند که اختصـــاصـــا " توسط کبد ساخته شده ومقدار آنها نیز به علت سیکل‌کبدی‌ـ روده‌ای تقریبا " در بدن ثابت می‌ماند و روزانه فقط به‌مقدار مشخصی از طریق مدفوع دفع گشته (۱۲و ۲۱) که آن هم‌از کلسترول موجود در کبد مجددا " سنتز و جایگزین می‌گردد (۲و ۷) . با توجه به فیزیولوژی کبد محققین معتقدنـــــد پیدایش هر ضایعه‌ای در کبد که منجر به پیدایش اختلال در اعمال و یا وضعیت سلولی آن شود ، بر مقدار اسیدهـــــای صفراوی اثر می‌گذارد که بررسی این تغییرات میتواند بـــه عنوان یک تست نسبتا " حساس در تشخیص بیماریهای کبدی مورد استفاده قرار گیرد .

بنابراین هدف‌این مطالعه بررسی‌تغییرات‌اسیدهای صفراوی سرم و مقایسه آن با سایر تست ها مانند اندازه‌گیری میزان آلانین آمینوترانسفراز (ALAT) ، آسپارتات آمینـــو ترانسفراز (ASAT) گاما گلوتامیل ترانس پپتیداز (γ-GT) ، آلکالن فسفاتاز (ALP) ، بیلی روبین و آلبومین در ســرم و همچنین تعیین میزان همبستگی وحساسیت آنها با یکدیگر در بعضی از بیماریهای کبدی می‌باشد .

مواد و روشهای بکار گرفته شده :

۱ــ 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 شده‌است . و گروه بندی آنها با مراجعه به پرونده بیماران براســاس تشخیص پزشکان متخصص به قرار زیر بوده است :

ــ هپاتیت حاد ۳۰ نفر ــ هپاتیت مزمن فعال ۱۸ نفـــــر ــ هپاتیت مزمن مداوم ۲۰ نفر ــ سیروز اولیه صفـــراوی ۱۶ نفر ــ تومور کبد و متاستاز تومور نقاط دیگر ۱۲ نفر ــ یرقان انسدادی ۱۴ نفر و ۲۸ نمونه سرم نیز از اشخاص ســالـــم و ناشتا جهت شاهد تهیه شده است .

۲ــ روشهـــــا :

چون بجز آزمایش اندازه گیری مقدار اسیدهـــــای

---

* گروه بیوشمی دانشکده پزشکی تهران .
** فارغ التحصیل رشته تخصصی بیوشیمـــــی .

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

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

۰ بیلی روبین توتال ســـرم بـــراســـاس روش Jendrassik and Grofs و با استفاده از کیت شمـــاره ۳۳۵۸ (۱۴) .

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

ـ آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (۰۲۰۶۰۱۰۲ ALAT,EC.) و آسپارتات آمینوترانسفراز (۰۲۰۶۰۱۰۱ ASAT,EC) با استفاده ازکیت UV بشماره ۳۳۹۷ بـــرای ALAT و ۳۳۹۸ برای ASAT بوده است .

ـ آنزیم گاما ـ گلوتامیل ترنس پپتیداز (۰۲۰۳۰۲۰۲ -GT,EC) با کیت شماره ۳۳۹۴ براساس روش مدیفیه شـده SZASZ.

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

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

آنزیم ۳ ـ α ـ 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 ســرم اثر میکند .

3-α-Hydroxy-bile acids+NAD+ $\xrightarrow{3\alpha\text{-HSD}}$ 3-Keto bile acids+NADH+H^+

NADH حاصـــل بکمـــک یـــک دیـــافـــــور از روی Nitrotetrazolim (NTB) اثر کرده تولید مشتق آبی رنگ Formazan میکند .

$NADH+H^+ + NTB \xrightarrow{\text{Diaphoraze}} NAD^+ + \text{Formazan}$

میزان جذب نوری فورمازان در طول موج ۵۰۰ میلی مـــو محاسبه میشود .

بعنوان استانداردازگلیکوکولات سدیم ، گلیکودز ـ اکسی کولات سدیم وتوروکنودزاکسی کولات سدیم مخلـــوط در سرم گاوی بشماره کاتالوگ ۱۴۳۵۳ براساس دستورالعمل و رسم منحنی استاندارد استفاده شده است .در این روش اسیدهای صفراوی اولیه وثانوی بصورت کنژوگه ویا غیـــر کنژوگه کاملا " اندازه گیری میشوند ولی اسیدهای صفراوی که در کربن شماره ۳ سولفاته شده‌اند محاسبه نمیشوند . ایـن مشتقات غالبا "درسندرم کلستاتیک ایجادشده و از ۲۰ ـ ۱۰ درصد مقدار تام اسیدهای صفراوی تجاوز نمی‌کند (۱۹) .

نتیجـــــه

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

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

جدول شماره ۲ میزان همبستگی بین اسیدهـــای صفراوی سرم‌را با سایرتست های انجام شده نشان می‌دهد . چنانچه ملاحظه می‌شود میزان همبستگی اسیدهای صفراوی سرم با بیلی روبین تام خیلی زیاد است در صورتی که بـا سایر تست هابجز ترانس آمینازها چندان چشمگیر نیست .

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

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

جدول ۳ درصدمقایسه‌ای میزان حساسیت اسیدهای صفراوی را با سایر آزمایشات نشان می‌دهد . چنانچه به‌نظر می‌رسد اسیدهای صفراوی و بیلی روبین تام و آمینو ترانسفرازها از درجه حساسیت مشابهی برخوردارند .

بحث

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

ـ در هپاتیت حاد درشروع بیماری مقدار اسیدهای صفراوی بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابند (۱ و ۱۵) و این افزایش مقدار هماهنگ با ترانس‌آمینازها (۶) گشته ولی دیرتر به حد طبیعی برمی‌گردد . بنابراین تحقیقا" می‌توان حساس‌ترین تست جهت بررسی هپاتیت حاد بشمار آورد . البته تغییرات اسیدهای صفراوی در هپاتیت حاد رابخصوص در بالغین نمی‌توان در ارتباط با اتیولوژی بیماری دانست ، چنانکه با استفاده ازاین تست نمی‌توان به هپاتیت حاصل از ویروسAو یا B پی برد (۹) .

ـ هپاتیت های مزمن چون دارای اتیولوژی متفاوت هستند ، تنها راه تشخیص دقیق آنها بررسی میکروسکوپیک است ، با وجود این ازتست اسیدهای صفراوی جهت تشخیص تفریقی هپاتیت مزمن فعال(C.A.H) و هپاتیت مزمن مداوم (C.P.H.) میتوان استفاده کرد .بدین طریق که میزان‌اسیدهای صفراوی در سرم در هپاتیت مزمن مداوم‌مقدار کمی ازطبیعی بیشتر است و در حد بالای پاتولوژیک نیست (۸) درصورتی که در هپاتیت مزمن فعال این افزایش مقدار واضح تر و طولانی تر است و براساس نظریه Solowaysبررسی میزان اسیدهای صفراوی سرم‌تنها تست بیوشیمیائی‌است که‌می‌تواند سیر هپاتیت مزمن را معلوم نماید .

مقدار اسیدهای صفراوی سرم در بیماری سیروز صفراوی اولیه همیشه و بخصوص در مراحل پیشرفته بیماری به مقدار قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد و در مقادیر خیلی بالا می‌توان به حالت مسمومیت کبدی (Hepatotoxicity) مظنون شد (۳) .

دریرقان انسدادی علاوه بر افزایش ترانس‌آمینازها و بخصوص‌آلکالن فسفاتاز مقداراسیدهای صفراوی نیز کاملا" بالا است .

افزایش اسیدهای صفراوی درالکلی‌ها از اهمیت چشمگیری برخوردار است و بخصوص همراه با بررسی مقدار γ-GT مطمئن ترین روش برای تعیین میزان آسیب سلولی در کبد می‌باشد (۱۳ ، ۲۰) .

از روی تغییرات اسیدهای صفراوی نیز می‌توان مسمومیت کبدی حاصل از مصرف بعضی از داروها مثل ایزونیازید (Isoniazide)، اریترومایسین (Erythromycin) و استامینوفن (Acetaminophen) را بررسی کرد (۹) و بالاخره یک معیار بیوشیمیائی خوبی برای جستجوی کارگران بعضی از کارخانجات که نوع کار آنها ، احتمال ابتلا به بیماری کبدی را زیاد می‌کند می‌باشد (۴) .

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

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

موارد	تعداد	بیلی روبین تام mg/100	آلبومین g/l	اسیدهای صفراوی µmol/l	ASAT U/l	ALAT U/l	γ-GT U/l	ALP U/l
سالم ناشتا	۲۸	۰/۷ ± ۰/۵۳	۳۸ ± ۵/۵	۴/۲۸ ± ۱/۱۲	۱۲ ± ۷	۱۱/۵ ± ۷/۳	۱۵ ± ۵/۴	۳۳/۷ ± ۲۲/۳
هپاتیت حاد ویرال	۳۰	۹/۷۴ ± ۶/۳۷	۳۲/۸ ± ۶	۹۱ ± ۴۰/۹۱	۱۱۸/۸۶ ± ۱۱۲	۱۲۳/۵ ± ۱۰۳	۳۵/۷۴ ± ۱۴/۷۶	۷۴/۵ ± ۳۶
هپاتیت مزمن فعال	۱۸	۵/۹۶ ± ۴/۴۱	۲۸/۴ ± ۶/۶	۴۱/۱۳ ± ۱۵/۷۹	۱۴۴/۳ ± ۹۱/۲	۷۴/۸۶ ± ۶۰/۵	۲۳/۴۲ ± ۱۵	۸۴/۲ ± ۶۲/۵
هپاتیت مزمن مداوم	۲۰	۳/۱۵ ± ۰/۷۶	۳۱/۶ ± ۶/۷	۲۴/۵ ± ۱۲/۱۹	۶۳/۵۳ ± ۱۴/۷	۶۰/۷۸ ± ۱۰/۹	۴۳/۳۵ ± ۱۶/۱۲	۶۸ ± ۵۶/۷
تومور کبد و متاستاز	۱۲	۳/۹۱ ± ۲/	۲۵/۷ ± ۷/۳	۱۸/۹۲ ± ۱۳/۱	۶۷/۳ ± ۵۹	۵۶/۶ ± ۵۱	۳۹/۹ ± ۱۳/۱	۹۳/۴ ± ۵۳/۷
تومورهای دیگر در کبد								
یرقان انسدادی	۱۴	۱۱ ± ۶/۴۳	۳۷/۲ ± ۴/۴	۱۱۵/۴۲ ± ۷۸	۷۵ /۷ ± ۸۴	۵۷/۲۵ ± ۵۲/۸	۳۸/۹۳ ± ۱۰/۲	۱۱۶/۳ ± ۴۲/۱
سیروز صفراوی اولیه	۱۶	۴/۸۶ ± ۳/۹۷	۲۹/۳ ± ۳/۷	۱۰۱ ± ۷۴/۵	۸۳/۲ ± ۷۴/۱	۷۴/۳ ± ۶۸/۴	۸۶/۲ ± ۶۸/۵	۹۴/۱ ± ۷۲/۴

x ــ مقادیر برحسب میانگین و انحراف معیار (SD) می‌باشد.

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

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

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

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

موارد	اسیدهای صفراوی µmol/l	بیلی روبین تام mg/100	آلبومین g/l	ASAT U/l	ALAT U/l	γ-GT U/L	ALP U/l
سالم ناشتا	۴/۲۸±۱/۱۲	۰/۷±۰/۵۲	۳۸±۵/۵	۱۲±۷	۱/۵±۷/۳	۱۵±۵/۴	۳۲/۷±۲۲/۳
هپاتیت ویرال حاد	۹۶	۹۴	۸۶	۹۸	۹۹	۸۹	۸۸
هپاتیت مزمن فعال	۱۰۰	۷۳	۸۰	۹۶	۹۷	۹۱	۸۱
هپاتیت مزمن مداوم	۸۷	۲۵	۲۴	۹۵	۹۶	۸۰	۵۶
یرقان انسدادی	۱۰۰	۸۳	۸۸	۹۴	۹۲	۷۰	۸۹
سیروز صفراوی اولیه	۹۸	۷۹	۸۰	۹۳	۹۵	۹۴	۹۶
تومور کبد و متاستاز تومورهای دیگر در کبد	۷۳	۴۲	۷۲	۸۹	۶۷	۶۹	۵۶

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 routin tests like bilirubin, albumine, transaminases, alkalin phosphatase and also gamma-glutamyle 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 sensivity 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 acids billiaires seriques dans les maladies du foie. Gasteroenterologie Clinique et biologique. 487(1977):1,5.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

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 acds in primary billiary cirrhosis.Arch. Intern. Med. 136(1976).57.

4- Demers, L.M.: Dianostic 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: Quantitive determination of conjugated bile acids in serum in acute hepatitis. Nature(London)213(1967):404.

7- Hallen, J., and Laurell, C.B. Plasmaprotein pattern in cirrhosis of the liver.Scand.J.Clin.Lab. Invest.29, Supple. 124, 97(1972).

8- Jones,M.B., S.Weinstock, R.L.Koztez, K.Lewin, J.Higgins, J.L.Gituick: Clinical value of serum bile acids levelsin chronic hepatitis. Digestive disease and sciences 11(1981)978.

9- Lioyd-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.Kilatskin. Serum bile acids in alcoholiogy 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.Lapar:regulatory effects of sterols and bile acids on hepatic 3-hydroxy 3-methylglutaryl CoA reductase and cholesterol

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

7α-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^{131}-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 cholylglycin 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.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]