مطالعه سیستم فاگوسیتیک در بیماران مبتلا به فقر آهن

دکتر علی اکبر جمشیدی[۱]، دکتر محمد درخشان[۲]، دکتر مینا ایزدیار[۳] دکتر سیدحسین شمس[۴]، طاهره زندیه[۵]

خلاصه :

وجود آهن دربسیاری از واکنشهای سلولی و بیوشیمیایی ضروری است . و کمبود آن باعث ایجاد اختلال در بسیاری از بافتهای بدن انسان می‌شود . مشخص‌ترین تظاهر کمبود آهن ، آنمی است که به واسطه کمبود آهن در سنتز Hb ایجاد می‌گردد . یکی از مهمترین سیستمهائی که احتمالاً در چنین شرایطی تحت تاثیر قرار می‌گیرد، سیستم ایمنی است .

در تحقیق حاضر ۴۰ خانم حامله مبتلا به کمبود آهن و ۳۰ فرد سالم (گروه شاهد اول)و ۱۴ خانم حامله غیر مبتلا به فقر آهن (گروه شاهد دوم) از نظر کشتن داخل سلولی ، احیای NBT (نیتروبلوتترازولیوم)، اپسونیزاسیون و بلع توسط پلی‌مورفونوکلئرها مورد بررسی قرار گرفتند .

مطالعه ما نشان داده که کشتن داخل سلولی و احیای NBT توسط PMNها در بیماران مبتلا به کمبود آهن در مقایسه با گروههای شاهد کاهش معنی‌دار دارند ($P< 0.05$) .

میزان اپسونیزاسیون و بلع گروه نمونه با گروههای شاهد اختلاف معنی‌دار ندارد .

با توجه به مشاهدات فوق و شیوع بالای کمبود آهن و همچنین میزان بروز عفونتها در کشور ما و نقش آهن در سیستم ایمنی پیشنهاد می‌شود که در بیماران مبتلا به آنمی فقر آهن باید در کنار درمان کم‌خونی با آهن سعی کرد تاعلت ایجادکننده فقر آهن را پیدا نموده و سپس درمان اختصاصی کرد.

مقدمه :

آهن یکی از عناصر مهم مورد نیاز بدن می‌باشد . این عنصر در ساختمان بسیاری از مواد حیاتی ، پروتئین‌ها

۱- مرکز پزشکی آموزشی و درمانی دکتر بهشتی - دانشگاه علوم پزشکی زنجان
۲- استاد پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۳- متخصص کودکان و دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴- عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی ایران
۵- کارشناس ارشد ایمنولوژی و سرپرست بخش ایمنولوژی سازمان انتقال خون ایران

و آنزیمهای مختلف شرکت دارد . نقش آهن در متابولیسم سلولی و ساختمان مواد مختلف ایجاب می‌کند که در کمبود آن اختلالات عملی و متابولیکی در بدن ایجاد شود . مشخص‌ترین عارضه کمبود آهن ، کم‌خونی فقر آهن است .آنمی فقر آهن یکی از شایعترین کم‌خونیها محسوب می‌گردد ، بطوریکه حتی درکشورهای پیشرفته جهان شیوع قابل توجه دارد (۱). اگرچه آمار دقیقی از مبتلایان به فقرآهن در ایران وجود ندارد ولی بدون شک این بیماری رابطه نزدیک با مسائل اقتصادی ، تغذیه ، بهداشت رژیم غذایی ، کنترل جمعیت و ... دارد.

مهمترین گروههای جامعه که فقر آهن در آنها شایع هست ، کودکان و زنان باردار هستند. آهن نه‌تنها در سیستم خونساز بدن شرکت دارد بلکه در دستگاههای مختلف دیگر نیز حضور فعال دارد . از جمله اینها سیستم فاگوسیتیک است (PHAGOCYTOSIS) . روند فاگوسیتوز نقشش بسیار ارزنده و حیاتی در دفاع بدن داشته و اختلال در این سیستم موجب بروز بیماریهای کشنده می‌شود .

این روند خود شامل مراحل مختلف به قرار زیر است :

۱- حرکت جهت‌دار CHEMOTAXIS

۲- تسهیل بلع OPSONIZATION

۳- بلع INGESTION

۴- کشتن داخل سلولی INTRACELLULAR KILLING

هریک از مراحل فوق مشتمل بر روندهای پیچیده بیولوژیک است . مرحله کشتن داخل سلولی غائی‌ترین مرحله روند فاگوسیتوز است . در این مرحله عمده‌ترین مکانیسم کشتن به عهده فعالیت آنزیمی است .

یکی از اصلی‌ترین آنزیمهای شناخته‌شده در این فعالیت حیاتی آنزیم میلوپراکسیداز است که در ساختمان خود مولکول هم (heme) دارد (۲و۳) .

با توجه به مسائل فوق‌الذکر ، همانطور که در کمبود آهن مقدار هموگلوبین خون کاهش یافته و کم‌خونی ایجاد می‌گردد ، تصور می‌شود با توجه به نقش حیاتی آهن ، در پروسه فاگوسیتوز نیز اختلال ایجاد شود این مطلب ما را بر آن داشت تا موضوع فوق را عنوان پروژه تحقیقاتی قرار داده و به سئوالات زیر تا حد مقدور پاسخ دهیم :

۱- آیا در فقر آهن ، همانند آنمی مربوطه در سیستم فاگوسیتیک نیز اختلال ایجاد می‌شود ؟

۲- اگر اختلالی وجود دارد ، در چه مرحله‌ای از روند فوق است ؟

وسایل و روش کار:

در مطالعه حاضر ۴۰ خانم حامله که بالای ۸ ماهگی و مبتلا به فقر آهن بودند به عنوان گروه نمونه ، ۳۰ فرد سالم و نرمال به عنوان گروه شاهد غیر آبستن و ۱۴ خانم حامله غیر مبتلا به فقر آهن به عنوان گروه شاهد آبستن مورد مطالعه قرار گرفتند . بیماریابی با استفاد از مطالعه پرونده بیمار ، مصاحبه و تاریخچه و معاینات بالینی شروع شده و با انجام آزمایشات خون مثل هموگلوبین ، هماتوکریت ، آزمایش اسمیر خون محیطی ، اندیکس‌های گلبول قرمز ، آهن TIBC سرم ، غربالگری Screening خاتمه یافته و با انجام تست فریتین سرم ، فقر آهن تأیید می‌شد . از بیماران تأیید شده از نظر ابتلا به فقر آهن برای انجام تستهای فاگوسیتیک نمونه خون اخذ و آزمایشات انجام می‌شد .

ابتدا نوتروفیل‌ها با استفاده از محلول ۶٪ دکستران و محیط کشت T.C 199 از خون تام جدا و تغلیظ گشته و به تعداد ۱۰ میلیون نوتروفیل در یک ML سوسپانسیونی تهیه و جهت انجام سایر تستها مورد استفاده قرار می‌گرفت .

در تست Killing از روش وقفه در جذب یوریدین توسط کاندیداآلبیکنس استفاده شد . یوریدین از پارامترهای مهم سنتز RNA در کاندیدا بوده و به راحتی جذب کاندیدا می‌شود . ابتدا نوتروفیل‌ها با کاندیدا مجاور شده و بعد از انکوباسیون مشخص ، در اختیار کاندیدا یوریدین نشاندار گذاشته می‌شد بر اساس میزان برداشت یوریدین نشاندار توسط کاندیدا ، در دستگاه بتاکانتر شمارش انجام شده و با مقایسه با کنترل میزان درصد Killing محاسبه می‌گردید.

در تست NBT از نیتروبلوتترازولیوم (NBT) به عنوان پذیرنده الکترون برای تعیین تولید سوپراکسید توسط نوتروفیل‌های تحریک‌شده استفاده شد .

تست اپسونیزاسیون و بلع با هم و با مجاور نمودن نوتروفیل‌های بیمار با کاندیدای اپسونیزه شده با

پلاسمای بیمار و همچنین مجاور نمودن نوتروفیل‌های فرد نرمال با کاندیدای اپسونیزه شده با پلاسمای نرمال و پلاسمای بیمار انجام گرفته و نتیجه نهایی با استفاده از رنگ‌آمیزی گیمسا بررسی می‌شد.

نتایج :

پس از انجام تستها و جمع‌بندی اطلاعات، محاسبات آماری لازم انجام و شاخص‌های آماری شامل میانگین، واریانس S^2 و انحراف معیار S فراوانی نسبی و درصد فراوانی نسبی به دست آمد. برای آزمون میانگین‌های تستهای فاگوسیتیک از فرمول T استفاده شد. میانگین سنی گروه نمونه ۳۰/۲۷ سال، هموگلوبین ۹/۶ گرم درصد، آهن سرم ۲۲ میکروگرم درصد، TIBC ۵۲۶ میکروگرم درصد، فریتین ng/ml ۶/۷۷، پروتئین تام ۶/۷۳ گرم درصد بود. از نظر تستهای فاگوسیتیک و تاثیر کمبود آهن در روند فاگوسیتوز، گروه نمونه با دو گروه شاهد آبستن غیر مبتلا به فقر آهن و شاهد سالم غیر آبستن مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که تست اپسونیزاسیون و بلع در هر سه گروه تقریباً در یک حد بوده و با هم اختلاف معنی‌دار ندارند (P <0.05) جداول (۱و۲).

ولی تست Killing و NBT گروه نمونه به ترتیب در حدود ۱۸٪ و ۱۴٪ نسبت به گروه شاهد کاهش فعالیت نشان دادند (P< 0.05) جداول (۳و۴).

گروه شاهد آبستن و گروه شاهد غیر آبستن در هیچ‌کدام از تستها اختلاف معنی‌دار با هم نداشتند (P< 0.05) جداول (۱ تا ۴).

گروه	فراوانی (نفر)	میانگین ٪	انحراف معیار
گروه نمونه (بیمار)	۴۰	۸۶/۸۱	۳/۷۷
گروه شاهد غیر آبستن	۳۰	۸۷/۲	۴/۶۸
گروه شاهد آبستن	۱۴	۸۷/۴۲	۵/۱

جدول ۱- مقایسه میزان اپسونیزاسیون در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	فراوانی (نفر)	میانگین٪	انحراف معیار
گروه نمونه (بیمار)	۴۰	۸۶/۸۱	۳/۷۷
گروه شاهد غیر آبستن	۳۰	۸۷/۲	۴/۶۸
گروه شاهد آبستن	۱۴	۸۷/۴۲	۵/۱

جدول ۲- مقایسه میزان بلع در گروههای مورد مطالعه

گروه	فراوانی (نفر)	میانگین ٪	انحراف معیار
گروه نمونه (بیمار)	۴۰	۸۱/۳۷	۵/۴۸
گروه شاهد غیر آبستن	۳۰	۸۸/۸	۵/۶۴
گروه شاهد آبستن	۱۴	۸۷/۷۱	۵/۷۵

جدول ۳- مقایسه میزان killing در گروههای مورد مطالعه

بحث :

اگرچه تاثیر فقر آهن در سیستم دفاعی بدن دقیقاً شناخته شده نیست، اما دلایلی وجود دارد که بر نقش آهن در سیستم مذکور صحه می‌گذارند. مثلاً

شیر انسان قدرت باکتریواستاتیکی در مقابل E.coli دارد . (۴) این مسئله احتمالاً مربوط به لاکتوفرین و همچنین ترانسفرین است که حاوی آهن هستند .
Wells و همکاران (۱۹۷۲) بیمارانی را گزارش کردند که مبتلا به کاندیدیازیس همراه با فقر آهن بوده‌اند که بعد از درمان بسیاری از آنها بهبود یافتند (۴).
در مطالعه ما اختلال قابل توجهی در اپسونیزاسیون و بلع نوتروفیل‌های گروه نمونه مشاهده نگردید . ولی در Killing نوتروفیل‌ها و احیای NBT کاهش چشمگیری مشاهده شد . chandra در مطالعه‌ای گزارش کرد که killing باکتریها توسط نوتروفیل‌ها و همچنین احیای NBT در بیماران مبتلا به فقر آهن کاهش دارد (۴) . ایشان اظهار می‌دارند که ۴ تا ۷ روز بعد ازشروع درمان با آهن ، تستهای Killing و NBT اصلاح شدند . Ahmad و همکاران (۱۹۸۷) در یک بررسی نشان دادند که قدرت باکتری‌کشی نوتروفیل‌ها در بیماران مبتلا به فقر آهن بطور قابل ملاحظه کاهش دارد و این اختلال ۴ تا ۷ روز بعد از درمان با آهن قبل از طبیعی‌شدن هموگلوبین اصلاح گردید (۵) .
Walter و همکاران (۱۹۸۶) در مطالعه‌ای گزارش کردند که در بیماران مبتلا به فقر آهن قدرت باکتری‌کشی طبیعی است و کشتن E.coli توسط لکوسیتهای بیماران کاملاً نرمال بوده است (۶) این تنها گزارشی است که بیانگر طبیعی بودن قدرت باکتری‌کشی در فقر آهن میباشد . Macdougall و همکاران (۱۹۷۵) نیز در مطالعه‌ای کاهش فعالیت باکتریسیدی نوتروفیل‌ها را در بیماران مبتلا به فقر آهن تایید نموده‌اند (۷) . اثر گزارشات حاکی از آن است که قدرت باکتریسیدی ۴ تا ۷ روز بعد از شروع آهن‌درمانی و قبل از نرمال شدن هموگلوبین طبیعی می‌شود و این نشان می‌دهد که کاهش آهن بافتی سبب اختلال در عمل Killing می‌شود نه آنمی (۷).
Chandra و Sarraya گزارش کردند که ایمنی هومورال در بیماران مبتلا به فقر آهن طبیعی بوده ولی ایمنی سلولی کاهش فعالیت دارد . Joyson و همکارانش اظهار می‌دارند که اختلال ایمنی سلولی در بیماران مبتلا به فقر آهن مربوط به کاهش لنفوسیتهای T است (۸). مکانیسم اینکه چگونه فقر آهن باعث اختلال در عمل نوتروفیل‌ها می‌شود دقیقاً مشخص نیست . با وجود این کاهش آهن باعث کاهش فعالیت آنزیمهایی می‌شود که در ساختمان آنها آهن وجود داشته ویا برای فعال شدنشان وجود آهن ضروری است . به عنوان مثال می‌توان از آنزیم میلوپراکسیداز نام برد که در Killing داخل سلولی نوتروفیل‌ها نقش ارزنده‌ای به عهده دارد . از طرف دیگر لاکتوفرین موجود در گرانولهای نوتروفیل‌ها نقش ارزنده‌ای به عهده دارد . از طرف دیگر لاکتوفرین موجود در گرانولهای نوتروفیل‌ها در تولید رادیکال هیروکسیل شرکت می‌کند . رادیکال فوق در کشتن داخل سلولی نقش بسیار مهمی دارد (۴و۵و۹) .
Mackay و Andlman و Sered مشاهده کردند که بروز بیماریهای گوارشی و تنفسی در کودکان مبتلا به فقر آهن نسبت به افراد سالم ۴۰ تا ۵۰٪ افزایش دارد . مطالعات گذشته بیمارستانی نشان می‌دهد که افراد مبتلا به فقر آهن در ۶۶-۸۰٪ موارد، سابقه‌ای از عفونتهای مکرر داشته‌اند (۷).
Ahmad در مطالعه خود اشاره میکند که بیماران آنها در زمان مطالعه مبتلا به عفونت خاصی نبوده‌اند ولی ۴۰٪ آنها سابقه‌ای از عفونتهای مکرر سیستم تنفسی فوقانی را نشان می‌دادند (۵). مقایسه نتایج مطالعه ما با نتایج مطالعه سایر محققین نشان می‌دهد که در اکثر موارد توافق وجود داشته و بر این اساس قدرت Killing داخل سلولی در فقر آهن کاهش دارد و بررسی حاضر به کاهش Killing و احیای NBT نوتروفیل‌های بیماران صحه می‌گذارد .
بنابراین به کلیه کسانی که به نحوی دست‌اندرکار علوم پزشکی هستند بخصوص پزشکان محترم، پیشنهاد می‌شود درآنمی فقر آهن تنها به درمان علامتی اکتفا نکرده بلکه با بررسی‌های لازم پی به علت ایجادکننده آن برده و بر آن اساس درمان علتی نمایند .

REFERENCES:

1.Wintrobe, M.M ... Athens. J.W.and Lukens, J.W. Ansemias characterized by Deficient Hemoglobin Synthesis and Impaired Iron Metobolism : Iron Deficiency and Iron Deficiency Anemia in Clinical Hematologyy Lea and febigar publication.philadelphia PP:605-641,1981.

2. Tietz, N.W.Disorders of iron Metabolism, Textbook of clinical chemistory , W.B. Saunders company. Pliladelphia,..., Hong kong. PP;1575-85,1986.

3. Daniel P.S, et al . Phagocytic cells chemotaxis and Effector functions of Macrophages and Granulogytes.in Stites D. Basic and clinical Immunology. Appleton and Lange. Norwalk,..., and california. PP:96-112,342-46,1987.

4.Chandra.RK. Reduced bactericidal capacity of PMNs in irondeficiency. Arch. Dis. Child, 48:864-66,1973.

5.Ahmad P.et al., Bactericidal capacity of PMNs in iron deficiency ,J. Ind. Pediatr. 24:295-8,1987.

6. Kulapongs p.etal. Cell mediated immunity and phagocytosis and killing function in children with sever iron deficiency anemial . Lancer;2:689-91.1974.

7. Mac Dougall IG. et al .The immune response in iron deficient children :impaird cellular defense mechanisms with altered humoral componets. J. pediatr.76:833-43,1975.

8.Chandra R. K. et al. (1975)Impared immunocompetence associated woth iron deficiency U. Pediatr: 899-902,1975.

9. Tomas Walter et al Effect of iron therapy on phagocytosis and bactericidal activity in neutrophils of iron deficient infants. Am. J. Clin. Nutr . 44:877-89,1986.

10. Danial P. S. et al Phagocytic dysurction Diseases. in Stites D., Basic and Cilinical Immunology . Appleton and Lange, Norwork , pages:342-6,1987.