

Sıçanlarda demir sorbitol enjeksiyonunun karaciğer histolojisi üzerine etkilerinin biyokimyasal parametrelerle ilişkisi

Meltem Özgüner*, Mehmet Akdoğan**, Osman Sulak***,
Bahadır Üngör***, Alpaslan Gökçimen*

*Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Isparta

**Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, Isparta

***Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi AD, Isparta

Özet

Dünyada en fazla bulunan metallere birisi olan demir, organizma için önemlidir. Yüksek konsantrasyonlarda dokular tarafından tutularak özellikle karaciğer, pankreas, kalp gibi organlarda hasar oluşturduğu bilinmektedir. Bu organlardaki hasarın mekanizması günümüzde de tam anlamıyla açıklanabilmiş değildir. Çalışmamızda özellikle kliniklerde uygulanan parenteral demir tedavisinin olası karaciğer hasarını biyokimyasal parametrelerle ilişkilendirmeyi amaçladık. Bu amaçla 72 adet Wistar Albino sıçanı 12'şerli altı gruba ayırdık. Grup I (Kontrol grubu) sıçanlara 75 gün süre ile, serum fizyolojik, Grup II sıçanlara 15 gün süre ile, Grup III sıçanlara 30 gün süre ile, Grup IV sıçanlara 45 gün süre ile, Grup V ve Grup VI sıçanlara ise 60 gün süre ile, 0.03gr/kg/hafta demir sorbitol (DS) intramüsküler olarak enjekte edildi. Grup VI sıçanlar 60 gün bittikten sonra 15 gün süre ile enjeksiyonsuz bir dönem geçirdiler. Denekler deney süresi sonunda eter anestezisi altında sakrifiye edildi, alınan kan örneklerinde serum demiri, demir bağlama kapasitesi, ferritin düzeyleri ve ayrıca karaciğer enzim düzeyleri ölçüldü. Alınan karaciğer doku örnekleri demir boyaması için Perls demir boyası ile boyandı. Serum demiri, demir bağlama kapasitesi, ferritin düzeyleri ve karaciğer enzim düzeylerinin Grup I (kontrol grubu) ile karşılaştırılması sonucunda, Grup II hariç tüm deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı (p 0.05). Grup VI'ya ait ölçümlerde ise diğer gruplara oranla belirgin bir düşüş saptanırken, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu düzeylerin yüksek kaldığı gözlemlendi. Tüm bu biyokimyasal verilerin karaciğer doku demiri ile de uyum gösterdiği gözlemlendi (p 0.05). On beş günü aşan demir sorbitol enjeksiyonlarında demirin dokuda biriktiği ve süre ile bağlantılı olarak biyokimyasal parametrelerinde yükseldiği ancak tedaviye ara verildiğinde hasarın ve serum değerlerinin bir miktar geri dönebildiği gözlemlendi. Araştırmamızın sonucunda biyokimyasal parametrelerin karaciğer doku demiri ile gösterdiği korelasyon sebebiyle önemli birer gösterge olduğu ve pratik açıdan da non-invaziv yöntemler olması nedeniyle tercih edilebileceği görüldü.

Anahtar Kelimeler: Demir sorbitol, karaciğer dokusu, biyokimyasal parametreler

Abstract

Correlation between the histologic effects of iron sorbitol injection on liver and the biochemical parameters

Iron is an essential trace element that has been found in excessive amounts all over the world. When it is present in high concentrations, there is an excessive amount of iron intake especially in liver, pancreas and heart tissues. The mechanisms by which iron overload damages the tissues are not fully understood. In the present study, we aimed to investigate the correlation between the histologic effects of iron sorbitol injection on liver, and the biochemical parameters. In the experiment, 72 Wistar Albino rats were used and divided into six groups with each group consisted 12 rats. Group I (Control group) were injected serum physiologic for 75 days. Group II rats were injected intramuscular iron sorbitol as a dosage of 0.03 gr/kg/week for 15 days, and Group III rats were injected iron for 30 days, Group IV rats were injected iron for 45 days, Group V and Group VI rats were injected iron for 60 days as the same dosage. Group VI rats had an uninjected period of 15 days after the experiment. Rats were sacrificed under ether anesthesia at the end of the experiment, and blood samples were collected for the measurements of serum iron, total iron binding capacity and ferritin levels and also for the liver enzyme levels. The liver tissues were fixed in 10% formaldehyde for the histologic investigation and stained by Perls iron stain method. There were considerable difference between the serum iron, total iron binding capacity, ferritin levels and liver enzyme levels of the control group and experimental groups, except Group II (p 0.05). Although there have been statistically significant decrease in serum iron, total iron binding capacity and ferritin levels of Group VI when compared with other experimental groups, the levels were higher than Group I (Control group) (p 0.05). Also the histologic evaluation of liver tissues were correlated with the biochemical parameters. Iron overload and significant increase in biochemical parameters have been demonstrated after intramuscular injection of iron sorbitol as a dosage of 0.03 gr/kg/week for 15 days in rats. Therefore, these histological changes on liver tissue and increased biochemical parameters were seems to be reversible as the injections discontinued. We have concluded that biochemical parameters are the necessary indicators of liver tissue iron overload and also practical as they are invasive tests.

Key words: Iron sorbitol, liver tissue, biochemical parameters

Giriş

Esansiyel iz elementlerin en önemlisi olan ve eritrositlerde bol olarak bulunan demir, hücrel oksidatif mekanizmalar ve dokulara oksijen taşınması gibi yaşamsal önemi olan birçok olayda yer almaktadır. Miyogloblin ve hemoglobin gibi oksijen taşıyan kromoproteinlerin, sitokrom oksidaz, ksantin oksidaz, peroksidaz ve katalaz gibi çeşitli enzimlerin yapısında da demir bulunmaktadır. Ayrıca NADH dehidrogenaz ve süksinat dehidrogenaz gibi flavoproteinlerde bulunan demir, ferritin ve transferrin yapısının önemli bileşenidir (1).

Vücuttaki total demir miktarı ortalama 4-5 gramdır, bunun yaklaşık %65'i hemoglobindedir. %4 kadari miyoglobinde, %1'i de intrasellüler oksidasyonu kolaylaştıran çeşitli hem bileşiklerinde, %0.1' i de kan plazmasında transferrin proteini ile birleşir ve %15 ile 30 kadari da esas olarak ferritin halinde retikuloendotelial sistem ve karaciğer parankim hücrelerinde depolanır (2).

Dünyada milyonlarca kişinin yaşam kalitesini ve iş gücünü ciddi bir şekilde etkileyen demir eksikliği, insanda en yaygın görülen hastalıklardan birisidir. İnsanda demir emilim hızı oldukça yavaştır ve absorpsiyon hızının kontrolü sayesinde total vücut demiri düzenlenebilmektedir. Diyetle fazla miktarlarda demir alınsa bile demir emilimi sabit kalır, dolayısıyla oral alınan demirin birikim olasılığı yoktur. Bu mekanizmaya rağmen, hücre ölümü veya gizli kan kaybı dışında vücuttan fazla demir atılımı olmadığı için parenteral demir tedavisinde daima aşırı birikim olasılığı vardır. Kronik kan transfüzyonları, aşırı veya gereksiz parenteral demir tedavisi, hemakromatozis ve demir zehirlenmesi dokularda demir birikimine neden olmaktadır. Her bir ünite kan verilisinde 250 mg kadar demir verilmiş olur (1).

Kandaki fazla demir, vücudun tüm hücrelerinde fakat özellikle karaciğer hepatositlerinde ve daha az oranda da kemik iliğinin retikuloendotelial hücrelerinde birikir. Ferritin şeklinde depolanan bu demire depo demir adı verilir. Depo havuzundaki demirin daha küçük miktarı hemosiderin adlı çözünmeyen formdadır. Plazmadaki demir miktarı çok düşük düzeylere indiğinde ferritinden demir oldukça kolay ayrılırken, hemosiderinden ayrılması daha zordur (2,3).

Biz bu çalışmamızda değişik sürelerde uygulanan demir sorbitol enjeksiyonlarının karaciğer histolojisi üzerine olan etkilerinin serum demiri, demir bağlama kapasitesi, ferritin düzeyleri ve karaciğer enzimleri ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Çalışma Laboratuvarı, Anatomi

Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı ve Klinik Biyokimya Laboratuvarında yapıldı. Bu çalışmada ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 72 adet Albino Wistar sıçan kullanıldı. Sıçanlar 12'şer adet olarak altı gruba ayrıldı. Tüm gruplar için aynı günde deneye başlandı ancak farklı sürelerde deney sonlandırıldı. Grup I'e 75 gün süre ile intramüsküler (i.m) serum fizyolojik, Grup II'ye 15 gün süre ile , Grup III'e 30 gün süre ile, Grup IV'e 45 gün süre ile, Grup V'e 60 gün süre ile 0.03 gr/kg/hafta i.m demir sorbitol (DS) enjeksiyonu uygulandı. Grup VI'ya ise 60 gün süre ile uygulanan 0.03 gr/kg/hafta i.m demir sorbitol (DS) enjeksiyonunun ardından 15 gün bekleme süresi tanındı ve bu grup deneyin başlangıcından 75 gün sonra sakrifiye edildi. Deney süresi içinde sıçanlar normal granül yemle beslendiler ve istedikleri kadar su içtiler. Deney sürelerinin bitiminde tüm sıçanların eter anestezisi altında göğüs kafesi açılarak 22 G iğne ile intrakardiyak yaklaşık 4-5 cc kanları alındı. Biyokimyasal parametreleri saptamak üzere intrakardiyak alınan kan örnekleri tüplere aktarıldı. Kan örnekleri 15 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 3000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Serumları başka bir deney tüpüne aktarıldı ve aynı gün ABBOTT Aeroset (Japon) otoanalizörde Abbott marka kit kullanarak AST, ALT, LDH, CPK, ALP ve serum demiri, total demir bağlama kapasitesi düzeyleri ölçüldü. Serum ferritin düzeyleri ise ADVIA Centaur ferritin kiti ve chemilluminometrik teknik kullanılarak immuno assay yöntemi ile ADVIA Centaur (USA) otoanalizörde ölçüldü.

Sıçanlardan alınan karaciğer dokuları histolojik inceleme için önce %10'luk formalinde tespit edildi. Rutin takip işlemlerinin ardından Leica SM2000R marka mikrotomda 5 mikrometre'lik kesitler alındı. Daha sonra preparatlar Perls demir boyası ile boyandı (4). Her bir gruptan rastgele 10 adet 5 mikrometre'lik karaciğer dokusu preparatı alındı. Her preparatta 40'lık büyütmede 100 adet hücre sayıldı ve hücre sitoplazmasında demir partikülleri bulunan hücreler demir pozitif sayılarak grup ortalaması hesaplandı. 40'lık büyütmede demir boyanması 0 ile 4+ arasında değerlendirildi. Karaciğer hücrelerinde hiç demir boyanması olmaması 0, %25'inin pozitif boyanması 1+, %25 ile % 50 arasında pozitif boyanması 2+, %50 ile %75 arasında karaciğer hücresinin boyanması 3+ ve %75' inin po-zitif boyanması 4+ olarak değerlendirildi (3).

Bu çalışmada toplanan veriler, bilgisayarda SPSS 9.0 versiyon paket programı kullanılarak, On-Sample Kolmogorov-Smirnov testi (normal dağılım testi) ve AST değerleri normal dağılım göstermediği için; Beenferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. (p<0.01) değeri anlamlı kabul

Tablo 1 : Gruplardaki plazma DEMİR, Total Demir Bağlama Kapasitesi (TIBIC) ve Ferritin düzeyleri.

Gruplar	DEMİR (µg/dL)	TIBIC(µG/dL)	Ferritin(ng/mL)
Grup I (n=12) (Kontrol)	177.9±28.5	233.0±35.4	5.74±1.03
Grup II (n=12)	193.2±67.9	620.9± 71.7**	5.84± 1.71
Grup III (n=12)	388.9±125.5**	941.9 ± 174.0**	6.37±1.58
Grup IV (n=12)	592.1±124.2**	856.0 ± 108.9**	7.61±1.88
Grup V (n=12)	639.5±88.4**	728.1±124.2**	9.49±1.63**
Grup VI (n=12)	300.7±123.5*	575.7±92.2**	6.72±2.30

* Aynı sütündeki gruplar arası farklılık istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).

edilirken, diğer parametreler için Gruplar arası farklılık tek yönlü varyans analizi (Oneway ANOVA) uygulanarak değerlendirildi. Farklı olan gruplar ise TUKEY HSD testi kullanılarak tespit edildi.

Bulgular

Grup I (Kontrol grubu) sıçanlarda serum demiri ortalaması 177.9 28.5 g/dL, total demir bağlama kapasitesi 233.0 35.4 g/dL ve serum ferritin düzeyler de ortalama 5.74 1.03 olarak bulundu. Grup II sıçanların serum demiri ve ferritin düzeyleri Grup I (Kontrol grubu) ile karşılaştırıldığında hafif bir artış gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamadı, total demir bağlama kapasitesindeki artış ise istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (p<0.05). Grup III ve Grup IV sıçanların ortalama serum demiri ve total demir bağlama kapasiteleri Grup I (Kontrol grubu) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış saptanırken, serum ferritin düzeylerindeki artış istatistiksel olarak anlamsızdı. Grup V'e ait serum demiri, total demir bağlama kapasitesi ve ferritin düzeylerindeki artış istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.05). Grup VI sıçanların serum demir ve total demir bağlama kapasitelerinde diğer deney gruplarına göre belirgin bir azalış gözlenirken, bu değerlerin Grup I (Kontrol grubu) değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu

saptandı (p 0.05). Grup VI'ya ait ortalama serum ferritin düzeyindeki azalışın ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi (p 0.05) (Tablo 1).

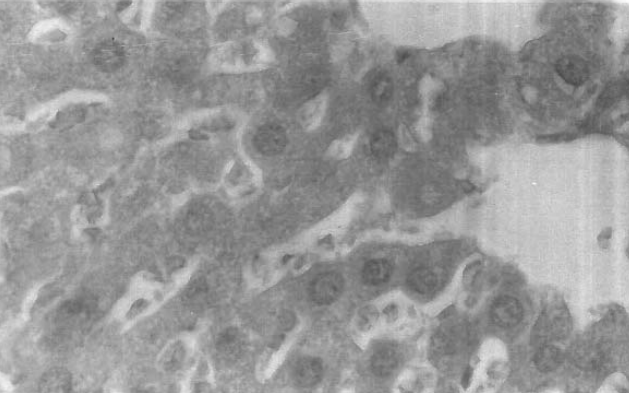
Grup I'e (Kontrol grubu) ait AST düzeyleri 69.7 6.09 U/L, ALT düzeyleri 45.0 5.97 U/L, LDH düzeyleri 175.9 46.81 U/L, CPK düzeyleri 155.0 65.86 U/L, ALKP düzeyleri 177.1 83.60 U/L olarak ölçüldü. Grup II'ye ait enzim düzeyleri Grup I ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanamadı. Grup III'e ait AST ve LDH enzim düzeylerindeki artış istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.05). Grup IV'de bu enzimlerin yanı sıra ALT enzim düzeyindeki artışında istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi (p 0.05). Grup V'e ait AST, ALT, LDH ve CPK enzim düzeyleri Grup I ile karşılaştırıldığında, belirgin oranda artış olduğu ve bu artışında istatistiksel olarak önemli derecede anlamlı olduğu saptandı. Grup VI'ya ait tüm enzim düzeylerinin azaldığı ancak Grup I ile karşılaştırıldığında AST, ALT ve LDH enzim düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü (p<0.05) (Tablo 2).

Karaciğer dokularında histolojik inceleme sonucu Grup I'de (Kontrol grubu) Perls demir boyası ile normal karaciğer yapısı gözlemlendi (Resim 1). Grup II'ye ait kesitlerde hücre sitoplazmalarında kısmen demir birikiminin başladığı görüldü (Resim 2). Grup III ve

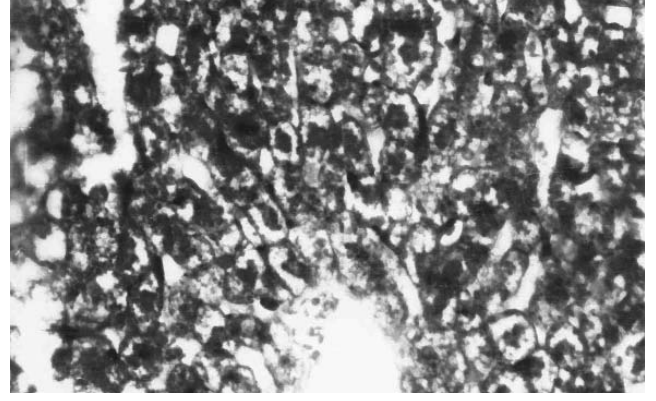
Tablo 2 : Gruplardaki plazma AST, ALT, LDH, CPK ve ALKP düzeyleri.

Gruplar	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH (U/L)	CPK (U/L)	ALKP (U/L)
Grup I (n=12) (Kontrol)	69.7±6.09	45.0±5.97	175.9±46.81	155.0±65.86	177.1±83.60
Grup II (n=12) (15 gün i.m DS)	70.4 8.65	51.3 10.36	253.0 52.68	197.0 92.20	182.0 92.71
Grup III (n=12) (30 gün i.m DS)	109.6 47.53*	65.2 21.77	312.5 148.62*	245.5 53.42	222.9 153.12
Grup IV (n=12) (45 gün i.m DS)	139.6 63.32*	101.5 32.29**	330.6 102.55**	263.3 104.33	209.0 106.41
Grup V (n=12) (60 gün i.m DS)	222.5 99.52**	151.9 73.17**	499.7 97.06**	310.6 151.28**	214.1 75.62
Grup VI (n=12) (60 gün i.m DS +15 gün enjeksiyonsuz)	137.4 48.64**	93.9 29.43*	339.5 137.18**	257.3 121.84	311.4 111.37

* Aynı sütündeki gruplar arası farklılık istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



Resim 1 : Grup I'e (Kontrol grubu) ait karaciğer histolojik kesiti. Perls demir boyası (X 400)



Resim 2 : Grup II'ye (15 gün im demir-sorbitol uygulanan grup) ait karaciğer histolojik kesiti. Perls demir boyası (X 400)

Grup IV'de ise demir birikiminin artışı dışında patolojik bulguya rastlanmadı ve karaciğerin normal histolojik yapısını koruduğu tespit edildi (Resim 3-4). Grup V, Grup I (Kontrol grubu) ile karşılaştırıldığında ise hücre içi demir birikiminin belirgin şekilde arttığı saptandı (Resim 5). Grup VI'ya ait karaciğer kesitlerinde ise hücre içi demir birikiminin kısmen azaldığı fakat Grup I (Kontrol grubu) ile karşılaştırıldığında birikimin belirgin olduğu ve hücre morfolojisinin değiştiği gözlemlendi (Resim 6).

Grup I (Kontrol grubu) histolojik sınıflandırma sonucunda boyanabilir demir içermediği için 0 derece olarak değerlendirildi. Grup II'de ise karaciğer hücrelerinin %25'i boyandığı için 1+ olarak değerlendirildi. Grup III 2+ olarak, Grup IV ve Grup VI 3+ olarak derecelendirildi. Grup V ise 4+ olarak derecelendirildi (Tablo 3).

Tablo 3 : Karaciğer dokularının histolojik evrelendirilmesi

Gruplar	Boya alan hücre sayısı (BAHS) (%)	Histolojik Evre
Grup I (Kontrol)	0	0
Grup II (15 gün i.m DS)	12	1+
Grup III (30 gün i.m DS)	38	2+
Grup IV (45 gün i.m DS)	63	3+
Grup V (60 gün i.m DS)	81	4+
Grup VI (60 gün i.m DS + 15 gün DS yok)	71	3+

Boyanma olmaması: 0, BAHS < %25: 1+, BAHS %25-50: 2+, BAHS %50-75: 3+, BAHS > %75: 4+.

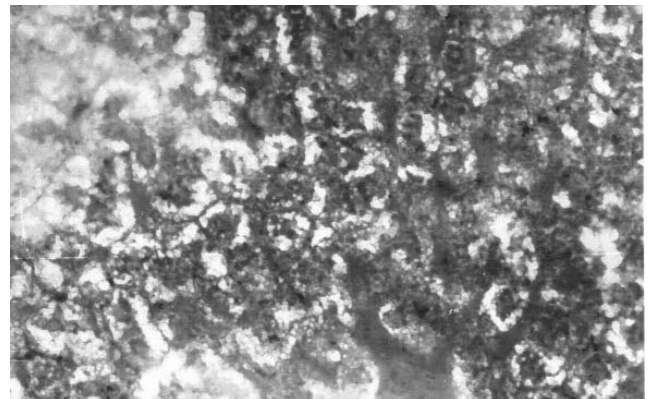
Tartışma

Bu çalışmamızda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında parenteral uygulanan demir sorbitolün uygulama süresi ve uygulanan doza bağlı olarak serum demiri,

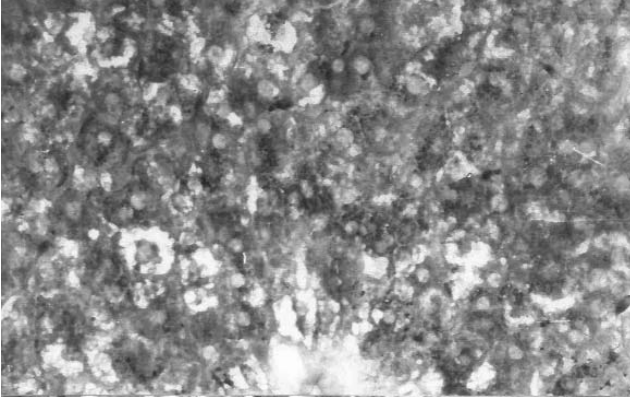
total demir bağlama kapasitesi ve en son olarak serum ferritin düzeylerini arttırdığı ayrıca karaciğer enzim düzeylerini de istatistiksel olarak önemli derecede yükselttiği tespit edildi (p 0.05). Bu artışların histolojik olarak karaciğer doku demiri ile de korelasyon gösterdiği saptandı. Ancak uzun süreli demir sorbitol uygulamasını takiben demir enjeksiyonları sona erdirildiğinde doku demiri ile birlikte serum demiri, total demir bağlama kapasitesi ve serum ferritin düzeylerinin ve karaciğer enzim düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi (p<0.05).

Primer (Hereditör hemokromatozis) veya sekonder (Thalassemi, alkolik karaciğer hastalıkları, kronik kan transfüzyonları, diyetle aşırı demir alımı, vb...) nedenlerle organizmada meydana gelen demir yüklenmesi pek çok araştırmaya konu olmuştur (5,6,7,8,9,10). Karaciğer demiri depo eden esas organlardan birisi olduğu için demirin toksik etkilerinden öncelikle etkilenmektedir. Bu nedenle demir yüklenmesi durumlarında karaciğer dokusunu incelemek ve biyokimyasal parametrelerle ilişki sağlamak önemlidir.

Hereditör hemokromatozis ve ağır parenteral demir yüklenmesi olgularında karaciğer dokusunda benzer patolojiler bildirilmiştir (11,12). Bu sebeple araştırma bulgularımızı hereditör hemokromatozis olguları ile



Resim 3 : Grup III'e (30 gün im demir-sorbitol uygulanan grup) ait karaciğer histolojik kesiti. Perls demir boyası (X 400)

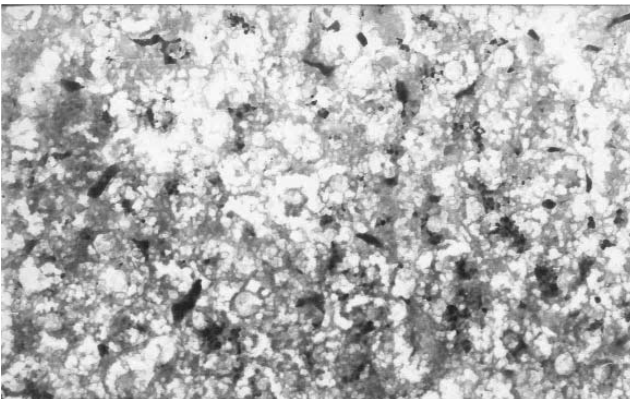


Resim 4 : Grup IV'e (45 gün im demir-sorbitol uygulanan grup) ait karaciğer histolojik kesiti. Perls demir boyası (X 400)

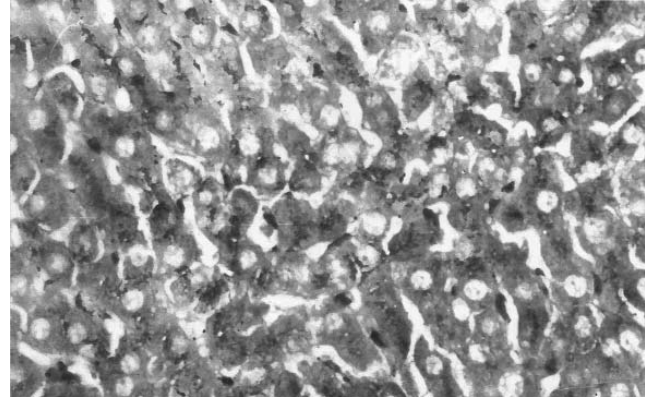
de ilişkilendirmek mümkündür.

Serum demiri, total demir bağlama kapasitesi ve ferritin düzeylerinin demir yüklenmesinin göstergesi olduğu belirlenmiştir (7). Serum ferritini demir depolarının değerlendirilmesinde invaziv olmayan en iyi test olarak kabul edilir ve oldukça güvenilen bir yöntemdir (13,14,15). Serum ferritin düzeyi ile depo demiri arasında kuvvetli bir ilişki vardır bu nedenle demir yüklenmesinin teşhisi karaciğer demir depoları ile doğrudan korelasyon gösteren serum ferritin düzeyindeki artışla saptanabilmektedir (16,17). Çalışmamızda 15, 30, 45 günlük demir sorbitol enjeksiyonlarının serum demiri ve demir bağlama kapasitesini istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırırken, serum ferritin düzeyinin ancak 60 günlük demir sorbitol enjeksiyonundan sonra anlamlı derecede arttığı saptandı. Bu bulgu sonucunda sıçanlarda karaciğer demir depolarının 60 gün süre ile uygulanan 0.03 gr/kg/hafta i.m demir sorbitol enjeksiyonu sonucunda dolduğunu saptadık ve karaciğer dokusunun 4+ evrelendirdik. Ancak karaciğer hücrelerinin %75'den fazlasının demir pozitif boyanmasının geri dönüşümsüz bir hasar yaratmadığını gözlemledik.

Kronik kan transfüzyonları veya parenteral demir uygulamaları sonucunda öncelikle karaciğer Kupffer hücrelerinin, ardından da hepatositlerin demir partikülleri ile yüklendiği gözlenmiştir (11). Oysa oral



Resim 6 : Grup VI'ya (60 gün im demir-sorbitol uygulanıp ardından 15 gün enjeksiyonsuz dönem geçiren grup) ait karaciğer histolojik kesiti. Perls demir boyası (X 400)



Resim 5 : Grup V'e (60 gün im demir-sorbitol uygulanan grup) ait karaciğer histolojik kesiti. Perls demir boyası (X 400)

demir alımı öncelikle hepatositlerde demir birikimine neden olmasına rağmen ciddi demir yüklenmesi oluşturmamaktadır (8). Çalışmamızda parenteral demir preparatı enjekte ettiğimiz için hem Kupffer hücrelerinde hem de hepatositlerde demir birikimi saptandı. Demir yüklenmesinde hepatosellüler hasarı başlatan mekanizma günümüzde hala tam anlamıyla aydınlatılamamıştır ancak membran lipidlerinin peroksidasyonu (10) ve lizozomal teoriler (18) ortaya konulmuştur. Iancu ve ark. Thalessemi major tanısı almış 5, 6 ve 13 aylık üç bebeğin erken evrede yapılan karaciğer biyopsileri sonucunda, bizim çalışmamızdaki karaciğer histolojik bulgularımıza benzer mikroskopik bulgular rapor etmişlerdir (19). Karaciğerde demir yüklenmesini teşhisi için karaciğerden biyopsi alarak doku demirini ölçmek hastanın prognozu ve tedavisi faydalı bir yöntem olmasına karşın invaziv bir yöntemdir (20). Bu nedenle biyokimyasal parametrelerle doku demiri arasında korelasyonu saptamak klinik çalışmalar ve hasta takibi açısından önemli görünmektedir. Bu çalışmamızın temel amacını da bu düşünce oluşturmaktadır.

Daha önce yapılan çalışmalarda demir yüklenmesine bağlı olarak sitolitik etki nedeniyle karaciğer enzimlerinde artış tespit edilmiş ve demir enjeksiyonları devam ettirilmediğinde bu enzimlerin dramatik bir şekilde düştükleri gözlenmiştir (8). Bu çalışmada da demir sorbitol enjeksiyonunun kesilmesinden sonra ALT, AST, LDH enzim düzeylerindeki anlamlı düşüş, karaciğer enzimlerindeki artışın demir enjeksiyonuna bağlı olduğunu ve direkt demir yüklenmesi ile ilişkilendirilemeyeceğini düşündürdü. Bu önerimizi histolojik bulgularımızda destekledi.

Bazı araştırmacılar hepatik fibrozis oluşturan karaciğer demir konsantrasyonunun 40 mol/100 mg hepatik kuru ağırlık olduğunu rapor etmişler (21) fakat bunun aksine bazı araştırmalarda bu konsantrasyonun çok altında da fibrozis gelişebileceği gösterilmiştir (7). Bu konuda da araştırmacılar arasında tam bir fikir birlikteliği gözlenmemektedir. Bizim

araştırmamızda, karaciğer hücrelerindeki oluşan hasarın geri dönebileceği ve hasarın hepatik fibrozise kadar ilerlemediği gözlemlendi.

Sonuç olarak sıçanlarda parenteral demir sorbitol uygulaması, uygulama dozu ve süresine bağlı olarak karaciğer dokusunda demir birikimine ve hasarına neden oldu ve bu hasar ALT, AST, LDH enzim düzeylerindeki artış ile onaylandı. Ayrıca serum demir, total demir bağlama kapasitesi ve ferritin düzeylerinin de organizmada demir artışı ile korelasyon gösterecek şekilde arttığı gözlemlendi. Buna rağmen demir sorbitol enjeksiyonları kesildiğinde tüm biyokimyasal parametrelerde gözlenen düşüş karaciğer hasarının geri dönebileceğini düşündürdü. Klinikte çeşitli sebeplerle parenteral demir yüklenmesine maruz kalan hastaların teşhis, tedavi ve takiplerinde biyokimyasal parametrelerin hem doku demiri ile gösterdikleri pozitif korelasyon hem de noninvaziv testler olmaları nedeniyle önemli olduğu sonucuna varıldı. Sıçanlar üzerinde yapılan bu araştırmanın sonuçlarında hasta parametreleri ile karşılaştırılmasının, bu çalışmanın kliniğe uyarlanmasında faydalı olacağı kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. Belce A. Mineraller. In: Onat T, Emerk K, Sözmen EY, ed. İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık. 2002:529-31.
2. Guyton AC, Hall JE. (Türkçe çev. Ed. Çavuşoğlu H). Tıbbi Fizyoloji. Ankara: Nobel Tıp Kitabevi 2001:387-88.
3. Randall GE. Storage and metabolic disorders. In: Diagnostic Liver Pathology. Boston: Mosby-Year Book, Inc. 1994:238-248.
4. Perls M. Nachweis von Eisenoxyd in gewissen pigmenten. Virchows Archiv. 1867;39:42.
5. Bezwoda WR, Bothwell TH, Torrance JD. The relationship between marrow iron stores, plasma ferritin concentrations and iron absorption. Scand J Haematol 1979;22:113-20.
6. Bothwell TH, Charlton RW. A general approach to the problems of iron deficiency and iron overload in the population at large. Semin Hematol 1982;19:54-67.
7. Bonkovsky HL, Slaker DP, Bills EB, Wolf DC. Usefulness and limitations of laboratory and hepatic imaging studies in iron-storage disease. Gastroenterology 1990;99:1079-91.
8. Brissot P, Champion JP, Guillozo A, Allain H, Messner M, Simon M, Ferrand B, Bourel M. Experimental hepatic iron overload in the baboon: Results of a two-year study.
9. Weintraub LR, Goral A, Grasso J, Franzblau C, Sullivan A, Sullivan S. Pathogenesis of hepatic fibrosis in experimental iron overload. Br J Haematol 1985;59:321-31.
10. Bacon BR, Tavill AS, Brittenham GM, Park CH, Recknagel RO. Hepatic lipid peroxidation in vivo in rats with chronic iron overload. J Clin Invest 1983;71:429-39.
11. Schafer AI, Cheron RG, Dluhy R. Clinical consequences of acquired transfusional iron overload in adults. N

Engl J Med 1981;304: 319-24.

12. Ali M, Fayemi AO, Rigolosi R. Hemosiderosis in hemodialysis patients. JAMA 1980;244:343-45.
13. Flowers CA, Kuizon M, Beard JL, Skikne BS, Covell AM, Cook JD. A Serum ferritin assay for prevalence studies of iron deficiency. Am J Haematol 1986;23:141-51.
14. Joosten E, Dereymaeker L, Pelemans W, Hiele M. Significance of a low serum ferritin level in elderly patients. Postgrad Med J 1993;69: 397-400.
15. Burns ER, Goldberg SN, Lawrence C, Wenz B. Clinical utility of serum tests for iron deficiency in hospitalized patients. Am J Clin Pathol 1990;93: 240-5.
16. Balaban EP, Sheehan RG, Demian SE, Cox JV, Frenkel EP. Evaluation of bone marrow iron stores in anemia associated with chronic disease: A comparative study of serum and red cell ferritin. Am J Haematol 1993;42: 177-81.
17. Finch CA, Bellotti V, Stray S, Lipschitz DA, Cook JD, Pippart MJ, Huebers HA. Plasma ferritin determination as a diagnostic tool. West J Med 1986;145: 657-63.
18. Seymour CA, Budillon G, Peters TJ. Lysosomal changes in human and experimental iron overload. Gut 1974;15:838-43.
19. Iancu TC, Neustein HB, Landing BH. The liver in thalassemia major: ultrastructural observations in iron metabolism. CIBA Foundation Symposium 1977;51:293-307.
20. Barry M, Sherlock S. Measurement of liver iron concentration in needle biopsy specimens. Lancet 1971;1:100-103.
21. Bassett ML, Halliday JW, Powell LW. Value of hepatic iron measurement in early hemochromatosis and determination of critical iron level associated with fibrosis. Hepatology 1986;6:24-29.

Yazışma Adresi

Yrd.Doç.Dr. Meltem ÖZGÜNER
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji AD, Isparta

Tel:0-246-211 32 89

E-mail: mozunguner@hotmail.com