

تعیین شیوع آمیلوئیدوز در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید طول کشیده با روش آسپیراسیون نسج چربی

چکیده

زمینه و هدف: آمیلوئیدوز ثانویه (واکنشی) یک عارضه دیررس و مهم در بیماران التهاب مزمن مانند آرتریت روماتوئید می‌باشد. هدف از انجام این پژوهش تعیین شیوع آمیلوئیدوز ثانویه در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید (RA) و بررسی ویژگی‌های بالینی و آزمایشگاهی همراه می‌باشد.

روش بررسی: مطالعه انجام شده به صورت مقطعی (cross sectional) بود. ۲۲۰ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید به مدت حداقل ۵ سال، مراجعه کننده به دو درمانگاه روماتولوژی، طی سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۲ انتخاب شدند (۱۶۷ زن و ۵۳ مرد). آسپیراسیون نسج چربی شکمی انجام شد و نمونه‌ها بعد از رنگ آمیزی Congo-red، تحت نور پلاریزه (به منظور بررسی نور سبز) مشاهده شدند. مشخصات بالینی آزمایشگاهی بیماران نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌ها توسط آزمون‌های t و کای دو (Chi-Square) و نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: رسوب آمیلوئید در ۱۱ بیمار (۵٪) به روش آسپیراسیون نسج چربی مثبت بود که همگی +۱ رسوب آمیلوئید نشان دادند. از نظر مشخصات مهم بالینی، ۷ بیمار (۶۴٪) بیوست و ۶ بیمار (۵۵٪) پروتئینوری داشتند.

نتیجه‌گیری: این دسته از بیماران ایرانی مبتلا به آرتریت روماتوئید مراجعه کننده به دو درمانگاه روماتولوژی، شیوع پایینی از رسوب آمیلوئید داشتند که حدوداً نیمی از آن‌ها تحت بالینی بودند. مطالعات پی‌گیری برای تحقیق در مورد این که آیا این آمیلوئید تحت بالینی به آمیلوئیدوز بالینی تبدیل می‌شود یا خیر، لازم است.

کلیدواژه‌ها: ۱- آرتریت روماتوئید ۲- آمیلوئیدوز ثانویه ۳- رنگ‌آمیزی کنگورد

*دکتر غلامحسین علیشیری I

دکتر جعفر فرقانی زاده II

دکتر رویا ستاره شناس III

دکتر نسرین شایانفر III

دکتر محمدباقر اولیاء IV

دکتر احمد سلیم زاده V

تاریخ دریافت: ۸۴/۱/۲۸، تاریخ پذیرش: ۸۴/۷/۹

مقدمه

گزارش شده است.^(۱) روش استاندارد طلایی برای بررسی رسوب آمیلوئید نمونه مثبت کنگورد (Congo red) می‌باشد.^(۲)

روش آسان و قابل قبول‌ترین راه برای جستجوی آمیلوئید، آسپیراسیون بافت چربی زیرجلدی شکمی است، اما با این روش ممکن است بافت کافی برای

آمیلوئیدوز واکنشی یک عارضه دیررس مهم و شناخته شده بیماری‌های التهابی مزمن مانند آرتریت روماتوئید می‌باشد.^(۱) شیوع آمیلوئید ثانویه در بیماران آرتریت روماتوئیدی کشورهای غربی بر حسب گروه‌های نژادی، روش جستجوی آمیلوئید و این که مطالعه گذشته‌نگر یا آینده‌نگر باشد، کاملاً متفاوت است و از ۵ تا ۷۸ درصد

(I) استادیار و فوق تخصص روماتولوژی، بیمارستان بقیه... (عج)، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج) (*مؤلف مسؤول).

(II) استاد و فوق تخصص روماتولوژی، بیمارستان بقیه... (عج)، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج).

(III) استادیار و متخصص آسیب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران.

(IV) استادیار و فوق تخصص روماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد.

(V) استادیار و فوق تخصص روماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران.

رنگ آمیزی به دست نیاید، بنابراین حساسیتی بین ۵۴ تا ۸۲ درصد دارد.^(۴،۵)

علامه بالینی شایع آمیلوئیدوز که عبارتند از پروتئینوری، از دست رفتن عملکرد کلیه و اختلالات معدی - روده‌ای^(۶،۷،۸)، همراه پیش‌آگهی بدی بوده و سبب مرگ در ۲ تا ۹ درصد بیماران می‌گردد.^(۹،۱۰)

تا آنجا که می‌دانیم، در کشور ایران اطلاعاتی در این زمینه در دسترس نیست، ما شیوع آمیلوئیدوز ثانویه را در گروهی از بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید، با روش اسپیراسیون نسج چربی بررسی کرده و اهمیت پاراکلینیک آن را تعیین نمودیم.

روش بررسی

بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید (RA) با سابقه ابتلای پنج سال که به طور تدریجی (Sequential sampling) به دو درمانگاه سرپایی بیمارستان‌های حضرت رسول اکرم (ص) و بقیه... (عج) از آذرماه سال ۱۳۸۰ لغایت مهرماه ۱۳۸۲ مراجعه نموده بودند، پس از موافقت وارد مطالعه شده و از نظر آمیلوئیدوزیس مورد غربالگری قرار گرفتند. این مطالعه به صورت مقطعی (cross sectional) بود. تمامی ۲۲۰ بیمار مورد مطالعه واجد معیارهای کالج روماتولوژی آمریکا (ACR) در سال ۱۹۸۷ بوده و دارای ملیت ایرانی بودند.

بیماران دارای معیارهای آرتریت مزمن جوانان (سن شروع بیماری در کمتر از ۱۶ سالگی) و نیز بیماران مبتلا به بیماری‌های التهابی مزمن دیگر (مانند عفونت مزمن و...) که می‌تواند زمینه‌ساز آمیلوئیدوز باشد از مطالعه حذف شدند.

کلیه بیماران پس از بی‌حسی موضعی اطراف ناف با ۱ سی‌سی لیدوکائین یک درصد با سرنگ ۱۰ سی‌سی و سرسوزن ۱۸-۱۶ مورد اسپیراسیون نسج چربی شکمی قرار گرفتند و محتویات اسپیره شده روی دو لام کشیده شد و با اسپری پاتوفیکس، ثابت گردید.

لام‌های تهیه شده، رنگ آمیزی کنگورد شده و توسط دو پاتولوژیست به صورت مجزا مورد بررسی قرار گرفتند. شدت رنگ آمیزی براساس تخمین درصد رسوب آمیلوئید در سطح لام درجه بندی گردید به طوری که؛ منفی (-) آمیلوئید مشاهده نشد، کم (+) در کمتر از ۱۰ درصد سطح لام، متوسط (++) ۶۰-۱۰ درصد، فراوان (+++) در بیشتر از ۶۰ درصد سطح لام رسوب آمیلوئید وجود داشت. در مواردی که در مشاهده لام‌ها، اختلاف نظر وجود داشت، چنانچه بعد از بازنگری به صورت جداگانه تفاوت نظر ادامه داشت، امتیاز کمتر لحاظ می‌شد.

آزمون‌های آزمایشگاهی لازم شامل شمارش خونی کامل (CBC)، CRP، سرعت رسوب گلبولی (ESR)، سطح فاکتور روماتوئید (RF)، IgM به روش ELISA، آزمون‌های عملکرد کبدی و کلیوی، آزمایش تجزیه ادرار و پروتئین ادرار ۲۴ ساعته (در صورت وجود پروتئین در آزمایش تجزیه ادرار)، در تمامی بیماران انجام شد. در بیماران مبتلا به آمیلوئیدوز بالینی، در دوره‌های ۳-۴ ماه، پی‌گیری از نظر نشانه‌ها و یافته‌های آزمایشگاهی جهت ابتلای احشایی مانند میزان پروتئین در ادرار ۲۴ ساعته و اندازه‌گیری سطح کراتینین به مدت یک سال انجام شد. تجزیه آماری به وسیله آزمون (۰-۰-۱۱) SPSS version، صورت گرفت، آزمون‌های کای دو (Chi-square) و t-student برای مقایسه‌های بین گروهی انجام شد.

یافته‌ها

رسوب آمیلوئیدوز در ۱۱ نفر از ۲۲۰ بیمار مورد مطالعه مشاهده شد (۵٪) که همه به صورت +۱ بود. در این مطالعه اختلاف معنی‌داری در سن، جنس و طول مدت بیماری در بیماران آمیلوئیدی و بیماران با آمیلوئید منفی مشاهده نشد (جدول شماره ۱).

در مقایسه متغیرهای بالینی و آزمایشگاهی، اختلاف بین گروه‌های آمیلوئید مثبت و منفی از نظر وجود یبوست، پروتئینوری و تعداد مفاصل درفرمه معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

جدول شماره ۱- جدول مقایسه‌ای بیماران آمیلوئید مثبت و منفی با روش آسپیراسیون نسج چربی

pvalue	آمیلوئید(-)	آمیلوئید(+)	
-	۲۰۹(٪۹۵)	۱۱(٪۵)	کل بیماران(درصد)
>۰/۰۵	۵۱/۵۷(±۱۳/۱۰)	۵۶/۶۴(±۱۳/۲۲)	سن(سال)، متوسط
>۰/۰۵	۵۱/۱۵۸	۲/۹	زن/مرد
>۰/۰۵	۴۰/۲۶(±۶/۶۴)	۴۶/۴۶(±۳/۲۲)	سن شروع بیماری(سال) متوسط ± SD
>۰/۰۵	۱۱/۳۱(±۶/۵۶)	۱۰/۱۸(±۹/۹۳)	مدت بیماری(سال)
۰/۰۰۲	۳۹(٪۱۸/۷)	۷(٪۶۴)	وجود بیوست
<۰/۰۰۱	۲۰(٪۹/۶)	۶(٪۵۵)	درصد پروتئینوری
<۰/۰۵	۴/۳۱(±۴/۸۶)	۷/۲۷(±۳/۴۴)	تعداد دفورمیتی مفاصل
>۰/۰۵	۱۳۳(٪۶۳/۹)	۸(٪۷۲/۷)	فاکتور روماتوئید مثبت تعداد و درصد
>۰/۰۵	۱۴۰(۶۷/۶)	۹(٪۷۷/۸)	CRP No(%)(>2+)
>۰/۰۵	۱۲۳(۵۹/۱)	۸(٪۷۲/۲)	ESR>25mm/h

RF: Rheumatoid Factor; CRP: C-Reactive Protein. ESR: Erythrocyt Sedimentation Rate

ممکن است منعکس کننده زمینه ژنتیکی و تغییر در روش‌هایی در نحوه درمان این بیماران طی ۲ دهه اخیر باشد. در اواخر سال ۱۹۹۰، بیماران زودتر تشخیص داده شده و با شروع درمان به موقع و وجود رژیم‌های درمانی موثرتر، مانع از بین رفتن عملکرد و تخریب مفاصل و عوارض دیررس(مانند آمیلوئیدوز) می‌شدند.^(۱۳) با توجه به این که مطالعه ما با روش استاندارد نمونه‌گیری و رنگ‌آمیزی صورت گرفت و مدت زمان ابتلای بیماران مشابه سایر مطالعات بود، این تفاوت در شیوع شاید به علت فاکتور نژادی، وجود درمان مناسب در دو مرکز دانشگاهی و یا فاکتورهای دیگر باشد. ارتباط قابل توجهی بین آمیلوئیدوز و طول دوره بیماری طولانی در مطالعات قبلی(مانند مطالعه منصور و همکاران) وجود داشته است(جدول شماره ۲).^(۱۳، ۱۴) اما در این مطالعه، بین دوره بیماری و آمیلوئیدوز ارتباط معنی‌داری نیافتیم. این مطالعه نشان می‌دهد که همانند مطالعات مشابه، شیوع پروتئینوری در بیماران با آمیلوئیدوز به طور قابل توجهی بالاتر از بیماران آمیلوئید منفی(۵۵٪) می‌باشد(اما میزان آن در تمامی بیماران کمتر از ۸۰۰ میلی‌گرم در ادرار ۲۴ ساعته بود). در این مطالعه تعداد مفاصل دفرمه در بیماران آمیلوئید مثبت، به طور قابل توجهی بالاتر از بیماران آمیلوئید منفی بود(مشابه مطالعه منصور و همکاران).^(۱۴)

از بیمارانی که از نظر آمیلوئید مثبت بودند، ۶ بیمار(۵۵٪) آمیلوئیدوز بالینی داشتند. تمام این ۶ نفر بدون سابقه مصرف داروهایی مانند طلا و دپنی‌سیلامین، پروتئینوری ۳۰۰-۸۰۰ mg در ادرار ۲۴ ساعته داشتند. به علت این که میزان دفع پروتئین زیاد نبود و از طرفی خطرات بیوپسی کلیه نیز در این بیماران افزایش داشت، اقدام به بیوپسی کلیه نشد. در پی گیری ۱۲ ماهه بیماران، هیچ تغییر قابل توجهی در میزان دفع پروتئین و افزایش کراتینین ایجاد نشد.

بحث

اگر چه حساسیت جستجوی آمیلوئید در بافت رکتوم (۹۰-۸۰٪) بیشتر از بافت چربی است^(۱)، آسپیراسیون نسج چربی اطراف ناف امروزه روش ارجح برای غربالگری بیماران از نظر وجود آمیلوئید می‌باشد. آسپیراسیون چربی روش ساده‌ای است که حتی در بیماران سرپایی با عوارض جانبی ناچیز قابل انجام است. البته لازم به یادآوری است که آسپیراسیون بایستی طوری انجام شود که نمونه کافی برای بررسی آمیلوئید به دست آید. آمیلوئیدوز در ۲۰-۱۵ درصد بیماران آرتریت روماتوئید(RA) در اتوپسی پیدا شده است.^(۱۱، ۱۲) در مطالعات مختلف شیوع این عارضه در جوامع مختلف متفاوت است. اختلاف در شیوع آمیلوئید در بیماران RA

جدول شماره ۲- مقایسه متغیرهای بالینی و آزمایشگاهی در بیماران آرتریت روماتوئید با آمیلوئید مثبت در مطالعات مختلف

Alishiri et al (with ASFA)	Anupam wakhl. et al (^{۱۳})(with ASFA)	Monsoury. et al (^{۱۴})(with ASFA)	
۲۲۰	۱۱۳	۱۱۲	تعداد بیماران
۱۱(۵)	۳۰(۲۶/۵)	۸(۷)	درصد و تعداد آمیلوئید مثبت
۴۵/۴	۷۳/۳	۶۲/۵	آمیلوئید تحت بالینی
۱۱	۳۰	۸	آنالیز رسوب چربی(تعداد)
۱۱	۲۳	۷	+۱
۰	۵	۱	+۲
۰	۲	۰	+۳
>۵	>۵	>۵	حداقل زمان ابتلا به بیماری
۴۶/۴۶±۱۳/۲۲	۴۶±۸/۷	۵۴(۴۱-۶۵)	سن(سال) میزان متوسط
۲/۹	۸/۲۲	۰/۸	زن/مرد
۱۰/۱۸±۹/۹۳	۱۰±(۵-۲۲)	۱۷(۱۲-۲۵)	مدت بیماری(متوسط سال ابتلا)
۵۶/۶۴±۳/۲۲	۳۶±۱۰	۳۲/۵(۲۲-۵۰)	سن شروع بیماری
۱۲	۴۸±۳۶(۱۲-۱۴)	-	مدت زمان پی‌گیری بیماری(ماه)
۸(٪۷۲/۷)	۲۵(۸۳/۳)	-	فاکتور روماتوئید مثبت(تعداد)
۶(٪۵۵)	۷(۲۳/۳)	۲(۲۵)	دفع پروتئین ادراری تعداد(درصد)

ASFA test: Abdominal subcutaneous fat aspiration. RF: Rheumatoid Factor.

نتیجه‌گیری

و گروه داخلی بیمارستان حضرت رسول(ص) و بیمارستان بقیه‌الاعظم(عج) که در انجام مراحل اولیه همکاری نمودند قدردانی می‌نمایم. این مطالعه تحت حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران صورت گرفت که مورد امتنان است.

منابع

- Husby G. Amyloidosis and rheumatoid arthritis, clin EXP Rheumatol 1985; 3: 173-80.
- Falk KH, Comenzo RL, Skinner M. The systemic amyloidoses. N Engl J Med 1997; 337: 898-909.
- Cohen AS. Amyloidosis. N Engl J Med 1967; 277: 522-30.
- Breedveld FC, Markusse HM, Macfarland JD. Subcutaneous fat biopsy in the diagnosis of amyloidosis secondary to chronic arthritis. Clin EXP Rheumatol 1989; 7: 407-10.
- Klemi PJ, Sorsa S, Happonen RP. Fine needle aspiration biopsy from subcutaneous fat: an easy way to diagnose secondary amyloidosis. Scand J Rheumatol 1987; 16: 429-431.
- Janssens J, Van Rijswijk MH, Meijer S, Ruinen L, Vander Hem GK. Systemic amyloidosis: a clinical survey of 144 cases. Neth J Med 1986; 29: 376-85.

این مطالعه نشان داد که در یک سری از بیماران ایرانی مبتلا به آرتریت روماتوئید، رسوب آمیلوئید شیوع پایینی(۵٪) دارد، اگر چه تعداد بیماران آمیلوئید مثبت برای نتیجه‌گیری دقیق خیلی کم است. یبوست، پروتئینوری و دفرمیتی مفاصل، علایم بارز بیماران ما بودند. حدود نیمی از بیماران با رسوب آمیلوئید، فاقد یافته بالینی(تحت بالینی) بودند. مطالعات پی‌گیری برای تعیین این که آیا این آمیلوئیدوز تحت بالینی در نهایت به آمیلوئیدوز بالینی تبدیل می‌شود، یافته لازم می‌باشد.

پیشنهاد می‌شود در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید با دفرمیتی مفاصل و شکایت یبوست طول کشیده و دفع پروتئین در آنالیز ادرار، بررسی از نظر عارضه آمیلوئیدوز صورت گیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از اساتید، دستیاران داخلی، کارکنان پاتولوژی

7- Kobayashi H, Tada S, Fuchigami T, Okuda Y, Takasugik Matsumoto T, et al. Secondary amyloidosis in patients with rheumatoid arthritis: diagnostic and prognostic value of gastroduodenal biopsy. *BR J rheumatol* 1996; 35: 44-9.

8- Gratacos J, Orellana C, Sanmarti R, Sole M, Collado A, Gomez Casanovos E, et al. Secondary amyloidosis in ankylosing spondylitis a systematic survey of 137 patients using abdominal fat aspiration. *J rheumatology* 1997; 24: 912-15.

9- Gertz MA, Kyle RA. Secondary systemic amyloidosis response and survival in 64 patients *medicine Baltimore* 1991; 70: 246-56.

10- Hazenberg ran Rijswijk MH. Clinical and therapeutic aspects of AA amyloidosis. *Baillieres clin rheumatol* 1994; 8: 661-90.

11- Mitchell DM, Spitz PW, Young DY, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF. Survival prognosis and causes of death in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1986; 29 pp: 706-714.

12- Mutru O, Laakso M, Isomaki H, Koota K. Ten year mortality and causes of death in patients with rheumatoid arthritis, *BMI* 1985; 290pp: 1197-1199.

13- Wakhlu A, Krisnani N, Hissaria P, Aggarwal A, Misra R. Prevalence of secondary Amyloidosis in Asian North Indian patients with Rheumatoid Arthritis. *Journal of Rheumatol* 2003; 30: 948-951.

14- Monsoury TMEL, Hazaenberg BPC, Badawi SAEL, Ahmed AH, Bijzet J, Limburg PC, et al. Screening for amyloid in subcutaneous fat tissue of Egyptian patients with rheumatoid arthritis: clinical and laboratory characteristics. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 42-47.

Prevalence of Amyloid in Long Standing Rheumatoid Arthritis by Abdominal Fat Pad Aspiration

^I **Gh.H. Alishiri, M.D.* ^{II} *J. Forghanizadeh, M.D.* ^{III} *R. Setarehshenas, M.D.*
^{III} *N. Shayanfar, M.D.* ^{IV} *M.B. Owlia, M.D.* ^V *A. Salimzadeh, M.D.*

Abstract

Background & Aim: Secondary amyloidosis(reactive) is an important late complication in chronic inflammatory disorder such as rheumatoid arthritis. The present study was undertaken to determine the prevalence of secondary amyloidosis in rheumatology patients with rheumatoid arthritis(RA) and assess associated clinical and laboratory characteristics.

Patients & Methods: In this cross-sectional study, 220 consecutive patients(167 female/53 male) with a history of minimal 5 years of RA were selected from 2 rheumatology clinics during 2001-2003. Abdominal subcutaneous fat pad aspiration(ASFA) was performed and specimens were stained with congo-red and observed under polarized light microscopy. Clinical and laboratory characteristic were then assessed via t-test, chi-square test & SPSS software.

Results: Amyloid was positive in 11 patients(5%) by ASFA and all had 1+ deposit. 7 (64%) patients had constipation and 6(55%) of them had proteinuria.

Conclusion: These Iranian patients with RA had a low prevalence of amyloid deposition, about half of them were subclinical. Follow-up studies are needed to investigate whether this subclinical amyloidosis will progress into clinically significant amyloidosis or not.

Key Words: 1) Rheumatoid Arthritis 2) Secondary Amyloidosis 3) Congo-red Staining

*I) Assistant Professor of Rheumatology, Baghiatallah Hospital, Mollasadra St. Vanak Sq. Bighiatallah Medical Sciences University. (*Corresponding Author)*

II) Professor of Rheumatology, Baghiatallah Hospital, Mollasadra St. Vanak Sq. Bighiatallah Medical Sciences University.

III) Assistant Professor of Pathology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

IV) Assistant Professor of Rheumatology, Yazd Shahid Sadooghi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

V) Assistant Professor of Rheumatology, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.