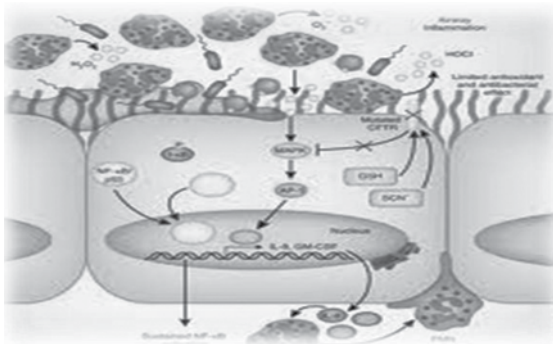


تشخیص آزمایشگاهی بیماری سیستیک فیبروزیس

ترشحات طبیعی یون سدیم و کلر است، ولی دلیل اینکه در عرق این بیماران کلر و کاتیونها به میزان بیشتری یافت می شود آن است که لوله های عرق این بیماران نسبت به یون کلر غیرقابل نفوذ بوده در نتیجه در هنگامی که عرق در کانال عرق به سمت سطح جریان می یابد، باز جذب کلر و کاتیون ها صورت نگرفته و میزان بیشتری در عرق دیده می شود و غلظت کلر و سدیم عرق در بیماران بیشتر و غلظت بی کربنات عرق کمتر از افراد نرمال است. اختلالات الکترولیت ها باعث شده گلیکوپروتئین های موکوسی از نظر شیمیایی تغییر کرده و حاوی نسبت بالایی از سیالیک اسید و زنجیره های بلند کربوهیدراتی است که موکوس را سفت و غلیظ و چسبنده می کند که عواقب آن درگیری پانکراس و روده و ریه و بیضه است. می توان گفت نقص حمل و نقل یون ها از جمله سدیم در غشا و سلول های اپیتلیال باعث کم آب شدن ترشحات و غلیظ شدن موکوس



ریه شده که انسداد مجاری تنفسی و در ادامه تخریب ثانویه ریه را به همراه دارد. به نظر می رسد TNF و IL-1 در پاتوژنز CF نقش دارد.

ارگان های که تحت تاثیر CF قرار می گیرد

پانکراس

مشخص ترین ضایعه پانکراس در سال های اول زندگی دیده می شود. در این میان، اتساع پانکراس، صاف شدن اپی تلیوم، بزرگی آسینی ها تا حد ایجاد کیست، وجود قطعات سفت ائوزینوفیلیک و یک فیروز منتشر با درجات مختلف

سیستیک فیبروزیس (CF) یک ناهنجاری ژنتیکی است که آسیب های سختی را در ریه ها، سیستم گوارش و اندام های دیگر در بدن پدیدار می نماید. CF بر سلول های سازنده ی موکوس، عرق و شیرابه ی گوارش تاثیر می کند. این مایعات که به طور طبیعی رقیق و لغزان است، در بیماران دچار CF به گونه ی غلیظ و چسبان می شود. بدین روی به جای کارایی روان کنندگی این مواد، در بیماران باعث بسته شدن لوله ها می شود. اما چرا نام این بیماری سیستیک فیبروزیس است؟ چون نخستین بار، در هنگام اتوبسی در پانکراس، کیست و جا پای زخم در بافت پانکراس دیده شد و برای تشخیص تفریقی آن، به آن سیستیک فیبروزیس گفته شد. گرچه این نام بازتاب دهنده ی مشخصات ثانویه بیماری است، تا ویژگی اولیه اش، ولی همچنان به این نام ماندگار شد. CF یک ناهنجاری اتوزومال مغلوب است. فرد هموزیگوت برای ژن سیستیک فیبروزیس باید از هر یک از والدین یک ژن را به ارث ببرد. اگر پدر و مادری که حامل ژن سیستیک فیبروزیس باشند، می تواند یک چهارم فرزندان هموزیگوت (بیمار)، یک دوم آن ها هتروزیگوت یا ناقل و یک چهارم آن ها سالم باشند. ژن سیستیک فیبروزیس روی بازوی بلند کروموزوم ۷ درباند ۳۱ قرار دارد. در همه ی بافت های فرد مبتلا تغییرات حاصل CF دیده می شود، ولی با توجه به بیان ژن در بافت های مختلف متفاوت است. بیشترین گرفتاری در اندام هایی دیده می شود که دارای بیان ژن هستند. همانند چیزی که در ریه /پانکراس/غدد عرق رخ می دهد. با مقایسه ژنومی CDNA شخص بیمار و سالم، اختلاف عمده ای در ردیف بازهای نوکلئیدی در حذف ۳ جفت باز، که منجر به حذف یک اسید آمینه (فنیل آلانین) شده و محل اسید آمینه شماره ۵۰۸ از زنجیره پلی پپتیدی می شود و با F508Δ نمایش داده می شود. موتاسیون های مختلفی در CF تعیین کننده تظاهرات بالینی بیماری هستند. ژن CF می تواند در انتقال یون ها در دو طرف غشا نقش دارد [CFTR].

کاهش عبور یون کلر از غشا سلول های اپی تلیال اختلال عمده ای است که در این بیماری مشاهده می شود. چنین می نماید که ناهنجاری موجود در بیماری به علت نارسایی در کانال آنیونی است. به نظرمی رسد که مولکول CFTR به طور مستقیم مسوول CF باشد. بررسی ها نشان داده که غدد عرق در بیماران CF دارای

سیستم تنفسی

شایع ترین علت مرگ، عفونت‌های مزمن تنفسی و یا نارسایی تنفسی است. برونش ها از یک ماده موکوسی و چرکی پر می شوند، قفسه سینه گرد شده، آمفیرم ریه ها و آبه ممکن است دیده شود. در ترشحات به دست آمده بیشتر (استافیلوکوکوس ائورئوس، پseudomonas آئروژینوزا) رشد می کند. مجاری فوقانی تنفسی نیز اغلب گرفتار است. عفونت مزمن سینوس ها کمابیش در همه ی بیماران دیده می شود. تیغه های بینی ممکن است به دلیل افزایش میزان حجم سلول های مترشحه موکوس متورم باشد. بیمار از دو سالگی ممکن است دچار پولیپ های بینی شود. حتی پس از برداشت جراحی پولیپ بینی دوباره عود می کند. علامت شایع در سال های اول زندگی برونشیت وسیع همراه با ویزینگ است.

تست های تشخیصی CF

تست عرق

در این روش با اندازه گیری میزان الکترولیت ها به تشخیص CF می پردازند. روشی برای اندازه گیری میزان $Na \cdot Cl$ در نمونه ی عرق است. کودکان طبیعی زیر ۱۴ سال بیشتر غلظت $NaCl$ در حدود ۳۰-۴۰ میلی والان در لیتر دارند و میزان $Na \cdot Cl$ بالای ۶۰ میلی اکی والان برای CF تشخیص است. البته امکان دارد در بعضی بیماران تست عرق منفی باشد. در باره ی تست عرق باید گفت:

- ۸۰-۶۰ mEq: آزمایش باید تکرار شود.
 - ۷۰-۴۵ mEq: مشکوک است که در این حالت نسبت سدیم به کلر خیلی کمک کننده است. اگر جواب بینابینی مربوط به یک فرد سالم باشد مقدار سدیم معمولاً از کلر بیشتر بوده و در مجموع سدیم و کلر زیر ۱۴۰ میلی اکی والان در لیتر بوده اما در فرد مبتلا به CF معمولاً بیشتر از ۱۴۰ است. در افرادی که ناقل CF هستند نمی توان بیماری را از طریق تست عرق مشخص کرد.
- اندازه گیری میزان Cl/Na از طریق تست عرق به دو صورت کمی و کیفی است:

روش کیفی

روش دقیقی نیست. در این روش انگشت بیمار بعد از تعریق به داخل محیط حاوی کرومات نقره فشار داده می شود در صورت مثبت بودن رنگ قرمز محیط به رنگ زرد تبدیل می شود. اساس تست اینگونه است که محیط حاوی کرومات نقره بوده و بعد از افزودن الکترولیت های عرق به داخل محیط کلر عرق با نقره رسوب کرده و رنگ قرمز کرومات نقره (در اثر تبدیل آن به کرومات پتاسیم) به رنگ زرد تبدیل می شود. در این تست در صورتی Cl عرق بیش از ۶۰ میلی اکی والان در لیتر باشد، نتیجه

دیده می شود. از نظر ماکروسکوپی نامنظم سفت و چروکیده می شود. در موارد خفیف تر تجمعات موکوس در مجاری کوچک با مختصر اتساع غدد آگزوکرین دیده می شود. اولین تظاهر درگیری پانکراس در CF سوجذب چربی و پروتئین و حجم زیاد مدفوع است. البته در بررسی ها نشان داده شده، که با وجود فقدان لیپاز پانکراس لیپولیز هنوز وجود دارد و شدت استئاتوره کما بیش متناسب با مصرف غذایی چربی است و دفع ازت از مدفوع در این بیماران بیش از سایر بیمارانی که اختلال مخاط روده ای دارند است. استئاتوره در بیماران نارسایی آگزوکرین پانکراس تا زمانی که ترشح لیپازتریپسین به ۱۰-۵ درصد طبیعی پائین نیافته باشد دیده نمی شود. علاوه بر نارسایی آگزوکرین پانکراس، هیپرگلاسمی، گلیکوزوری همراه با پلی اوری و کاهش وزن دیده شده است.

روده باریک

انسداد بیشتر در ناحیه انتهایی ایلئوم است. نشانه هایی همانند دفع مدفوع چرب، حجیم و با دفعات زیاد، وزن نگرفتن حتی در موارد مصرف زیاد غذا دیده می شود. مدفوع این بیماران دارای قطرات قابل دید چربی است. از نشان های تبییک این بیماری شکم بیرون زده، کاهش توده عضلانی بدن، رشد ضعیف و تکامل عقب افتاده است.

کبد

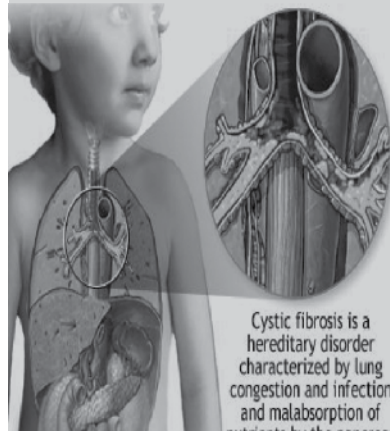
آتروفی سلول ها، فیبروز دور فضای پورت، افزایش مجاری صفراوی، از ویژگی های بافت کبد در بیماران مبتلا به CF است. یکی از علل **Fatty liver** در کودکان CF است. ضایعات انسدادی موضعی ناشی از پلاک های موکوسی حاوی صفرا باعث نامگذاری اسیدوز موضعی صفراوی برای این بیماران شده است که در نتیجه فشارهای وریدی باب موجب هایپراسپلنیم و خونریزی از واریس های مری می شود. با وجود درگیری شدید کبدی زردی به ندرت دیده می شود.

درصد زیادی از بیماران در رادیولوژی، تنگی مجرای مشترک کبدی در قسمت داخل پانکراسی آن دیده می شود.

افزایش سرمی میزان **ALP** شایع ترین، اختلال شیمیایی، نشان دهنده درگیری کبدی است. اگرچه به دلیل استخوان سازی و تکمیل و رشد استخوانی در حالت معمول **ALP** در کودکان زیاد است. میزان آنزیم های کبدی **AST** و **ALT** نشان دهنده میزان درگیری کبد هستند. زمان پروترومبین **PT** ممکن است نرمال یا طولانی باشد. هیپوآلبومینمی با پیشرفت بیماری کبدی دیده می شود.

کیسه صفرا و سیستم صفراوی

اغلب کیسه صفرا کوچک و چروکیده می شود، و بطور مشخص حاوی صفرای سفید و بی رنگ و ضخیم می باشد. مجاری سیستمیک ممکن است آتروفی شده یا توسط موکوس مسدود شده باشد.



مثبت حاصل می شود. قابل اعتمادترین تست تشخیصی CF اندازه گیری کلر و سدیم عرق است. زیرا در هیچ بیماری دیگری میزان سدیم و کلر به این اندازه بالا نمی رود.

۱ روش کمی

در سه مرحله انجام می گیرد:

- تحریک موضعی غدد عرق
- جمع آوری نمونه عرق
- آزمون شیمیایی عرق به منظور اندازه گیری Na/Cl

اساس تست

کلر با نیترات مرکوریک در مجاورت اندیکاتور دی فنیل کاربازید تیترو می شود. در این واکنش یون جیوه با کلر ترکیب شده، اولین قطره زیادی یون مرکوریک باعث رنگ بنفش. پایداری می شود که خاتمه عمل است.

• **جزئیات تکنیکی که در انجام آزمایش باید اهمیت داده شود:**

- ✓ جلوگیری از آلودگی پوستی
- ✓ تبخیر عرق و مواردی که باعث رقیق شدن عرق می گردد.
- ✓ نمونه گیری از پوست های ملتهب و متورم انجام نشود.
- ✓ عرق جمع آوری شده از کف دست و پا نامناسب است.
- ✓ عرق جمع آوری شده پس از فعالیت بدنی شدید برای انجام تست نامناسب است.
- ✓ فرد مورد آزمایش تب نداشته باشد.
- ✓ باید حداقل سن بیمار ۲۴ ساعت پس از تولد باشد.
- ✓ اندازه ی عرق برای انجام آزمایش دست کم ۵۰ میلی گرم است، ولی بهتر است که ۱۰۰ میلی گرم باشد، زیرا گاهی نیاز به تکرار پیش می آید.

مواردی که اندازه ی الکترولیت های عرق را تحت تاثیر قرار می دهد:

- ✓ وضع ژنتیک (هتروزیگوت و هموزیگوت)
- ✓ سن (در افراد طبیعی با افزایش سن میزان سدیم و کلر افزایش می یابد و غلظت پتاسیم با افزایش سن کاهش می یابد)

✓ رژیم غذایی (خصوصاً مصرف نمک)

✓ زمان روز و فصل سال

✓ سطح فعالیت فیزیکی

با استفاده از حرارت، یا دارو یا هر دوی آنها می توان غدد عرق را تحریک کرده و عرق را جمع آوری کنیم از داروهای به کار برده شده پیلوکارپین، فور متاید، مکولیل استفاده می شود.

جواب های مثبت کاذب

✓ اشکالات تکنیکی (آلودگی پوست و وسایل جمع آوری عرق/تبخیر عرق)

✓ در صورت ابتلای فرد به بعضی بیماری ها

جواب های منفی کاذب

✓ اشکالات تکنیکی (هر گونه مسائلی که باعث رقیق شدن عرق گردد.)

✓ در دوران نوزادی با عرق ناکافی

✓ در بیمارانی که ادم هیپو پروتئینی دارند.

تست بررسی عملکرد پانکراس

الف) روش مستقیم:

بهترین روش مطالعه عمل پانکراس گرفتن مایع دئودنال و مشاهده پاسخ آنزیمهای پانکراس و حجم آنها به دنبال تحریک داخل وریدی سکرترین و پانکروزیمین می باشد، که با اندازه گیری ویسکوزیته آسپیره دئودنوم افراد مبتلا به CF را تشخیص می دهد، زیرا ویسکوزیته به طور واضحی در ۹۰٪ بیماران افزایش می یابد و حجم مایع کاهش یافته و PH آن پایین تر از افراد نرمال است غلظت بی کربنات نیز کاهش می یابد. آنزیم های مورد بررسی تریپسین، کیموتریپسین، لپاز و آمیلاز است. برای افتراق انواع خاص نارسایی پانکراس می توان از اندازه گیری حجم برون ده محتوی بی کربنات و ترشح آنزیم در یک فاصله زمانی استفاده کرد.

ب) روش غیر مستقیم:

۱) اندازه گیری تریپسین و کیموتریپسین خون: در کودکان مبتلا به CF در روزهای ابتدایی زندگی سطح تریپسینوژن بالا است. افزایش سن به طور پیشرونده، سطح سرمی تریپسینوژن کاهش می یابد.

۲) اندازه گیری تریپسین و کیموتریپسین مدفوع: در

بیماران با نارسایی کامل پانکراس محتوی تریپسین مدفوع به طور واضحی کاهش یافته یا اصلا وجود ندارد.

۳) اندازه گیری چربی $24h$ مدفوع: افراد مبتلا با نارسایی پانکراس ممکن است $30g$ یا بیشتر چربی در روز دفع کنند، همچنین بیماران نیتروژن اضافی دفع می کنند.

۴) تست های جذبی: انواع تست های جذبی دهانی وجود دارد مانند: استفاده از ژلاتین یا کافئین برای هضم پروتئین و ویتامین A و LIPODOL برای اندازه گیری جذب چربی و گلوکز

۵) بررسی عمل اگزوکرین پانکراس با استفاده از داروی مصنوعی Bentriomide BT-PABA(N-benzoyl-L-Tyrosyl-P-amino-benzoic acid) در بیماران مبتلا به بیماری روده، کبد، کلیه ممکن است به طور کاذب نتایج غیر طبیعی دیده شود. سطح سرمی PABA در حدود ۹۰ دقیقه بعد از جذب BT-PABA اختصاصی تر از سطح ادراری آن است.

۶) پاسخ کلینیکی به تغییر رژیم غذایی

✓ اندازه گیری غلظت $Ca/Mg/Na$ اریتروسیت ها: این تست جهت جستجوی افراد هتروزایگوت پیشنهاد می شود. به طوری که میزان Na و Mg و روی در اریتروسیت ها در افراد مبتلا به CF به طور واضحی پائین تر از افراد سالم و هتروزایگوت ها است. در افراد هتروزایگوت میزان Na و Mg در اریتروسیت ها از افراد سالم پائین تر است و میزان Ca در اریتروسیتها افراد CF بیشتر است.

✓ اندازه گیری اختلاف پتانسیل اپی تلیوم بینی: در افراد مبتلا به CF میزان اختلاف پتانسیل اپی تلیوم تنفسی بسیار منفی تر از افراد نرمال است به طوری که در افراد غیر مبتلا به CF حدود اختلاف پتانسیل بین -36 تا -21 بوده ولی در افراد مبتلا به CF حدود اختلاف پتانسیل بین -33 تا -70 است.

✓ متد های مستقیم تعیین موتاسیون $\Delta F508$ در ژن افراد مبتلا به CF: این روش آنالیز سریع DNA را از خون کامل ولکه های خون روی کارتهای گاتری و تشخیص قبل از تولد CF از نمونه بیوپسی کرک های جفتی را امکان پذیر می سازد این تست در بیش از ۶۰٪ بیماران مبتلا موجب تشخیص مستقیم DNA می شود.

تشخیص پیش از تولد

الف) آنالیز آنزیم های میکروویلی های روده ای: در سه ماه دوم حاملگی سطح پائین ALP روده ای در مایع آمنیوتیک زنان حامله ای که دارای جنین مبتلا به CF هستند، دیده می شود. غیر از اندازه گیری ALP روده ای در مایع آمنیوتیک از روش اندازه گیری آنزیمهای گاماگلوتامیل ترانسفراز و ترهالاز روده ای در مایع آمنیوتیک نیز استفاده می شود.

ب) مطالعه DNA توسط روش RFLP(restriction frag-ment length polymorphism): این تست در زمانی که یکی از افراد خانواده مبتلا به CF باشد کاربرد دارد.

ج) تست های شناسایی CF بر مبنای Probe های خاص برای ژن های تازه کشف شده CF:

این روش ژنوتیپیک بیماری را در جنین گرفتار در هفته ۱۱-۱۲ حاملگی می توان تشخیص داد و همچنین با این روش می توان افراد ناقل را شناسایی کرد.

روش های اسکرینینگ نوزادان

الف) Immunoreactive trypsinogen assay (اندازه گیری تریپسینوژن خون): در نوزادان مبتلا به CF در روزهای ابتدایی زندگی سطح تریپسینوژن خون بالا است.

ب) تست مکنونیوم: این تست یک آزمایش تکمیلی برای نوزادانی است که تست تریپسین مثبت دارند. در صورت مثبت بودن تست مکنونیوم باید تست عرق صورت گیرد.

ج) اندازه گیری فعالیت لیپاز سرم: در نوزادان مبتلا به CF فعالیت لیپاز سرم افزایش دارد.

د) اندازه گیری غلظت کلر عرق: این روش نباید به عنوان اقدام تشخیص نهایی بکار برده شود. به ویژه در هنگامی که عرق نوزادان پایین باشد، تست باید دوباره تکرار شود.

منابع:

1. Levy H, Farrell PM. New challenges in the diagnosis and management of cystic fibrosis. *J Pediatr*. 2015; 166(6):1337-41. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2015.03.042>
2. Raskin S, Pereira-Ferrari L, Reis FC, Abreu F, Marostica P, Rozov T, et al. Incidence of cystic fibrosis in five different states of Brazil as determined by screening of p.F508del, mutation at the CFTR gene in newborns and patients. *J Cyst Fibrosis*. 2008; 7(1):15-22. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2007.03.006>
3. Disk FN, Fitzgerald DA. The impact of newborn screening and earlier intervention on the clinical course of cystic fibrosis. *Pediatric Respire Rev*. 2012; 13(4):220-5. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2012.05.003>
4. US National Committee for Clinical Laboratory Standards. Sweat testing: sample collection and quantitative analysis; approved guideline. 2nd ed. Wayne's (PA): US National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2000 Jun. Document No: C34-A2
5. Legrys VA. Assessment of sweat-testing practices for the diagnosis of cystic fibrosis. *Arch Pathol Lab Med*. 2001; 125(11):1420-4
6. Smyth AR, Bell SC, Bojcin S, Bryon M, Duff A, Flume P, et al. European Cystic Fibrosis Society Standards of Care: Best Practice guidelines. *J Cyst Fibrosis*. 2014; 13 Supple 1:S23-42. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2014.03.010>
7. Cirilli N, Padoan R, Raia V; ICFS Sweat Test Working Group. Audit of sweat testing: a first report from Italian Cystic Fibrosis Centre's. *J Cyst Fibrosis*. 2008; 7(5):415-22. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2008.03.005>
8. Castellani C, Southern KW, Brownlee K, Dankert Roelse J, Duff A, Farrell M, et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. *J Cyst Fibrosis*. 2009; 8(3):153-73 <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2009.01.004>
9. Mackay R, George P, Kirk J. Sweat testing for cystic fibrosis: A review of New Zealand laboratories. *J Pediatric Child Health*. 2006; 42(4):160-4. <https://doi.org/10.1111>