VIA MEDICA

ORIGINAL PAPER

Acta Angiol.
Vol. 15, No. 3–4, pp. 101–107
Copyright © 2009 Via Medica
ISSN 1234–950X
www.angiologia.pl

Urine haemosiderin: a marker of chronic venous insufficiency

Hemosyderyna wydalana w moczu jako marker przewlekłych zaburzeń żylnych

Radosław Piotrowicz[1], Tomasz Grzela[1], Arkadiusz Jawień[1], Magdalena Kuligowska-Prusińska[2]

[1]Chair and Department of General Surgery, *Collegium Medicum* in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University, Torun, Poland (Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej *Collegium Medicum* Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu)

[2]Department and Division of Diagnostic Laboratory, *Collegium Medicum* in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University, Torun, Poland (Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej *Collegium Medicum* Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu)

Abstract

Background. *Chronic venous insufficiency (CVI) is one of the most significant health problems of developed countries. Tissue deposits of iron play an important role in the pathogenesis of trophic skin changes. The purpose of the study was to test the correlation of clinical severity of venous insufficiency with urine excretion of hemosiderin.*

Material and methods. *Urine sediments were stained for hemosiderin granules with Perl reagent. The urine samples of 76 persons representing various categories of venous insufficiency were evaluated.*

Results. *There was no correlation between clinical category of venous insufficiency and number of hemosiderin granules noticed in urine.*

Conclusions. *Thus, hemosiderinuria cannot be a marker of severity of venous disturbances.*

Key words: hemosiderin, chronic venous insufficiency, chronic venous disturbances, marker of venous disease, Perl reagent

Streszczenie

Wstęp. *Ze względu na dużą powszechność występowania przewlekłe zaburzenia żylne stanowią poważny problem społeczny krajów rozwiniętych. Istotną rolę w patomechanizmie rozwoju zmian troficznych skóry w przebiegu niewydolności żylnej odgrywają tkankowe depozyty związków żelaza. Celem badania była ocena wydalania hemosyderyny w moczu u osób z objawami przewlekłych zaburzeń żylnych.*

Materiał i metody. *Badano osad pochodzący z moczu, w którym wybarwiano kryształy hemosyderyny za pomocą roztworu Perla. Przebadano 76 osób, u których niewydolność żylna była w różnych stopniach zaawansowania klinicznego.*

Wyniki. *Nie wykazano istnienia związku pomiędzy liczbą wydalanych w moczu kryształów a stopniem nasilenia patologii układu żylnego.*

Address for correspondence:
Radosław Piotrowicz
Katedra i Klinika Chirurgii Ogolnej
Szpital Wojewódzki im. dr. J. Biziela
ul. K. Ujejskiego 75, 85–168 Bydgoszcz
tel: +48 (52) 365 52 32, fax: +48 (52) 365 57 82
e-mail: piotrowicz1@wp.pl

Wnioski. *Hemosyderyny nie można traktować jako wyznacznika nasilenia patologii żylnej.*

Słowa kluczowe: hemosyderyna, przewlekła niewydolność żylna, przewlekłe zaburzenia żylne, roztwór Perla, wyznacznik niewydolności żylnej

Acta Angiol 2009; 15, 3–4: 101–107

Introduction

Chronic venous insufficiency (CVI) is one of the most significant health problems of developed countries. In a Polish cross-sectional, multicentre, epidemiologic study, 40,095 subjects were evaluated. Signs of CVI were found in almost half of adult Polish people (more often in women than men, 50.99% vs. 38.33%, respectively). Varicose veins were found in 34% of subjects (36% of women and 28% of men). Of note, in 25% of subjects, the varices were bilateral. Skin trophic changes were noted in 4.5–6.0% of the general population (12% of all subjects with CVI) [1]. The occurrence of active venous ulcers concerns about 0.3% of the adult population of well-developed countries. Opened or healed ulcers are found in 1% of the general population. In Poland, active ulcers are found in 0.5% of the adult population, and the occurrence of active or healed ulcers is 1.5% [1]. Pathogenesis of skin changes and venous ulcers is not completely understood. The theory of fibrin cuffs [5] has been replaced by leukocyte entrapment chronic inflammation theory [6, 7]. There is increasing interest in the role of iron tissue deposits as a result of chronic venous disorder [8]. Iron has been recognized as a cause of skin discoloration seen in grade 4a of the CEAP classification for a long time [9–11]. Chronic venous hypertension results in increased permeability of microcirculation vessels. This causes filtration of serum proteins and red blood cells through the extracellular space of the skin [2]. Extravasated blood cells are subjected to fagocitose by tissue macrophages called siderophages. Concentration of ferritin in siderosomes appears to be a result of macrophage haemoglobin metabolism releasing iron ions. Iron ions are transformed into hemosiderin stored in the cells as well as in the extracellular space over the course of time. Macrophages overload with hemosiderin are found in the groin lymph nodes of subjects with chronic venous insufficiency. Iron compounds cause skin discoloration by themselves and by stimulation of melanin. Chronic skin inflammation is stimulated and sustained by extravasated red blood cells, free haemoglobin, and iron particles. Iron particles are attributed to the induction of free radicals and the activation

Wstęp

Przewlekłe zaburzenia żylne (CVI) są jednym ze znaczących problemów zdrowotnych współczesnych społeczeństw krajów uprzemysłowionych. Według polskiego przekrojowego, wieloośrodkowego badania epidemiologicznego, którym objęto 40 095 osób, CVI we wszystkich stadiach zaawansowania dotyczyły łącznie niemal połowy dorosłych Polaków (częściej kobiet — 50,99% niż mężczyzn — 38,33%). Żylaki stwierdzono łącznie u 34% badanych (36% kobiet i 28% mężczyzn), przy czym aż u 25% badanych występowały one jednocześnie na obu kończynach. Zmiany troficzne skóry stwierdzono u około 4,5–6% populacji ogólnej (u około 12% chorych z objawami CVI) [1]. Czynne owrzodzenia żylne goleni występują u około 0,3% dorosłej populacji krajów uprzemysłowionych. Owrzodzenia czynne i zagojone (blizny po owrzodzeniach) stwierdza się łącznie u około 1% populacji [2–4]. W Polsce czynne owrzodzenie żylne występuje u około 0,5% dorosłych, zaś czynne lub zagojone owrzodzenie u 1,5% [1]. Pomimo tak ogromnej wagi społecznej tego problemu dotychczas nie udało w pełni poznać patomechanizmu powstawania zmian troficznych i rozwoju owrzodzenia. W latach 80. XX wieku powstała teoria mankietów fibrynowych [5], została ona stopniowo wyparta przez hipotezę pułapki leukocytarnej [6] i związanego z tym przewlekłego stanu zapalnego [7]. Ostatnio wzrasta zainteresowanie rolą tkankowych depozytów żelaza, które powstają w przebiegu przewlekłych zaburzeń żylnych [8]. Od dawna uważano, że są one odpowiedzialne za powstawanie przebarwień skóry, do których dochodzi stadium 4a w skali klinicznej klasyfikacji CEAP [9–11]. Przewlekłe nadciśnienie żylne prowadzi do wzrostu przepuszczalności naczyń mikrokrążenia, co powoduje przenikanie białek osocza, jak również erytrocytów do przestrzeni pozanaczyniowej skóry [12]. Wynaczynione krwinki czerwone ulegają fagocytozie przez makrofagi tkankowe, tak zwane syderofagi [13], które dokonują następnie rozkładu hemoglobiny, uwalniając z niej jony żelaza. Prowadzi to do akumulacji ferrytyny w ich syderosomach. Wraz z upływem czasu ulega ona przekształceniu do hemosyderyny zdeponowanej zarówno w komórkach, jak i macierzy pozakomórkowej. Ma-

of metalloproteinase — especially metalloproteinase 9 (MMP-9) [17–20]. Some papers have been published lately presenting increased urine excretion of haemosiderin in subjects with chronic venous insufficiency [21, 22]. It has previously been evaluated semiquantitatively in diseases with increased intravascular haemolysis. Haemosiderin is a non-water-soluble crystalline iron and protein complex. It is a product of partial ferritin lysosomal enzyme degradation. Found in urine, haemosiderin crystals come from exfoliated epithelium of renal tubules. These cells reabsorb iron complexes from glomerular filtration.

Haemosiderin measurement would be a cheap and easy test for venous insufficiency severity estimation. It could be a tool to evaluate the effectiveness of treatment of venous insufficiency by means of compression therapy, pharmacotherapy, and surgery. Of particular importance is the fact that this test evaluates the effects of therapy at the level of microcirculation.

The purpose of this study was to test the correlation of clinical severity of venous insufficiency according to CEAP classification with the number of urine hemosiderin granules.

Material and methods

Morning samples of urine were examined in the same way as for basal urinalysis. The middle 100 ml portions of urine stream were collected to avoid urethral pollutions, bladder sediments, and epithelial cells. Morning collection of urine was chosen in order to find an easy and cheap test. It allows the avoidance of problems with twenty-four-hour urine collection and minimized fluctuations in urine concentration secondary to water consumption. Subjects representing all clinical categories of venous insufficiency were introduced for analysis, starting from C0 — no signs of venous disturbances, through C2 — visible varicose veins and C4 — trophic skin changes, up to C6 — open venous ulcer. Exclusion criteria were restricted to kidney and liver insufficiency, congenital iron metabolism disturbances, and diseases with intravascular haemolysis, since the intention was to find a universal test. The above-mentioned diseases could significantly influence the results of analysis. 10 ml of urine was centrifuged. The residues were treated with Perl reagent (a mixture of 2% potassium cyanide and 2% HCl) for 10 minutes and centrifuged once again. The sediments were transferred on standard glass used for manual analysis of urine morphotic elements to standardize 1 μL volume. Hemosiderin granules were counted at 400X magnification.

krofagi obładowane związkami żelaza stwierdza się również w pachwinowych węzłach chłonnych u osób z objawami przewlekłych zaburzeń żylnych [14]. Związki żelaza (Fe) powodują powstawanie przebarwień skórnych na drodze bezpośredniej, jak również stymulując syntezę melaniny [15, 16]. Wynaczynione erytrocyty, uwolniona z nich hemoglobina oraz w późniejszych stadiach wolne cząstki Fe stymulują i podtrzymują toczący się w skórze goleni przewlekły stan zapalny. Wolnym cząstkom żelaza przypisuje się również zdolność do stymulacji powstawania wolnych rodników, jak również aktywacji metaloproteinaz (MMP) — szczególnie MMP-9 [17–20]. Ostatnio pojawiły się doniesienia o wzmożonym wydalaniu hemosyderyny w moczu u osób cierpiących na przewlekłe zaburzenia żylne [21, 22]. Dotychczas parametr ten oznaczano półilościowo u osób cierpiących na schorzenia przebiegające ze wzmożoną hemolizą śródnaczyniową [23].

Hemosyderyna jest nierozpuszczalnym w wodzie, krystalicznym kompleksem białkowo-żelazowym. Powstaje jako produkt częściowego rozkładu ferrytyny przez enzymy lizosomalne. W moczu kryształy hemosyderyny pochodzą ze złuszczonych komórek kanalików reabsorbujących związki żelaza, które uległy przefiltrowaniu w kłębuszkach nerkowych.

Ocena wydalania hemosyderyny w moczu mogłaby być tanim i łatwym do przeprowadzenia testem oceniającym nasilenie zmian związanych z niewydolnością żylną. Test ten mógłby weryfikować efektywność leczenia CVI za pomocą kompresjoterapii, leczenia operacyjnego oraz farmakoterapii. Co szczególnie istotne — metoda ta pozwoliłaby oceniać zastosowane leczenie na poziomie mikrokrążenia.

Celem pracy było sprawdzenie, czy istnieje korelacja pomiędzy stopniem klinicznego zaawansowania przewlekłych zaburzeń żylnych określanych według klasyfikacji klinicznej CEAP a ilością wydalanych w moczu kryształów hemosyderyny.

Materiał i metody

Ocenie poddawano próbki moczu oddawanego w godzinach porannych po przebudzeniu. Wzorem metodologii uzyskiwania moczu do badania ogólnego proszono badane osoby o oddanie do pojemnika o pojemności około 100 ml moczu pochodzącego ze środkowego strumienia. Miało to na celu uniknięcie zanieczyszczeń pochodzących z cewki moczowej oraz ewentualnych osadów, strontów i złuszczonych nabłonków pochodzących z pęcherza moczowego.

Wybór tej metody uzasadniony jest poszukiwaniem łatwego i taniego testu. Unika się niedogodności dobowej zbiórki moczu, a także wahania w stopniu zagęsz-

Statistical analysis

The most advanced signs of venous insufficiency found on either one of both legs were recorded as a clinical category of severity of venous insufficiency. Spearman test was used to find the correlation between number of haemosiderin granules found in the urine and the category of venous insufficiency.

Results

The urine samples of 76 persons representing various categories of venous insufficiency were evaluated. Mean age was 53.39 ± 12.68 years. There were 45 women and 31 men.

Figure 1 presents the number of cases in clinical categories of venous insufficiency.

In 18 cases, there were no signs of venous disturbances or reticular veins only (category C0 and C1). The varicose veins (C2), as the most advanced sign of disturbances, were the most common finding — 21 cases. Varicose veins were also present in the subjects with most advanced venous disease — categories C3––C6. Trophic skin changes, healed or open ulcers, were present in almost half of the cases.

It was impossible to estimate the haemosiderin in five samples (4.86%). The abundant sediment made it impossible to count the haemosiderin granules in all of these cases.

Single or few haemosiderin granules were the most common finding, but there range was 0 to 12 granules in the field. In five cases, there were complexes of haemosiderin granules forming crystals. Figure 2 presents these findings.

czenia moczu wynikających z dziennej podaży płynów. Badaniem objęto pacjentów z różnymi stopniami zaawansowania CVI — począwszy od osób bez zmian w układzie żylnym (C0), poprzez grupę z wyraźnie widocznymi żylakami (C2) i rozległymi zmianami troficznymi (C4) do chorych z czynnymi owrzodzeniami żylnymi (C6). Ponieważ założono na wstępie, ze badanie to ma mieć charakter uniwersalny w diagnozowaniu przewlekłych zaburzeń żylnych, kryteria wyłączenia ograniczono jedynie do niewydolności nerek, wątroby, chorób przebiegających z hemolizą i wrodzonych defektów metabolizmu żelaza, co znamiennie mogłoby wpływać na uzyskiwane wyniki. Z dostarczonej porcji moczu pobierano próbki o objętości 10 ml, które poddawano wirowaniu. Uzyskany osad traktowano odczynikiem Perla (mieszanka 2% cyjanku potasu i 2% HCl) przez 10 minut i ponownie wirowano. Osad nanoszono na płytkę, standardowo wykorzystywaną do manualnego badania elementów morfotycznych moczu. Pozwoliło to ujednolicić objętość każdorazowo ocenianego osadu na 1 μl. Kryształy hemosyderyny liczył ten sam badacz, stosując powiększenie 400-krotnie.

Analiza statystyczna

Zgromadzone dane poddano analizie statystycznej. Wyniki oceniano, uwzględniając najwyższy stopień niewydolności żylnej stwierdzany u danego pacjenta na jednej z kończyn. Występowanie ewentualnej korelacji pomiędzy stopniem zaawansowania CVI a liczbą zaobserwowanych kryształów hemosyderyny w moczu oceniano za pomocą testu korelacji rang Spermanna.

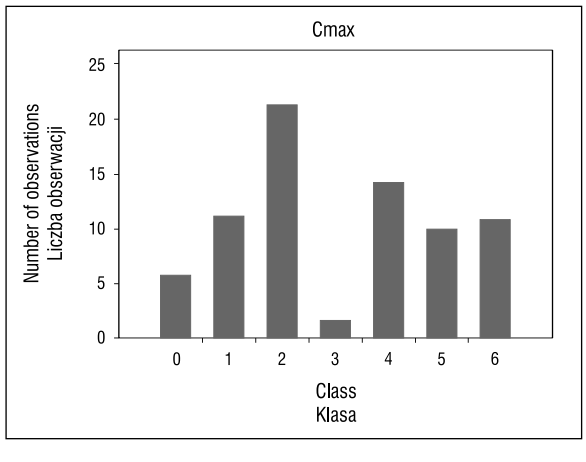

Figure 1. Number of cases in clinical categories of venous insufficiency according to CEAP classification

Rycina 1. Rozkład pacjentów w poszczególnych stopniach zaawansowania klinicznego przewlekłej niewydolności żylnej według CEAP

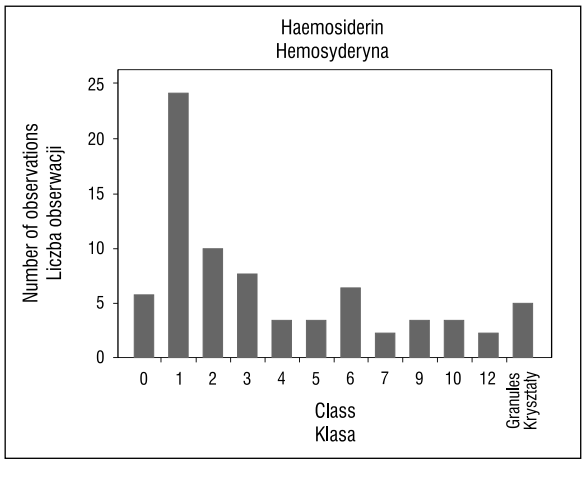

Figure 2. Occurrence of haemosiderin granules in the studied population

Rycina 2. Częstość występowania określonej liczby ziaren hemosyderyny w badanej populacji

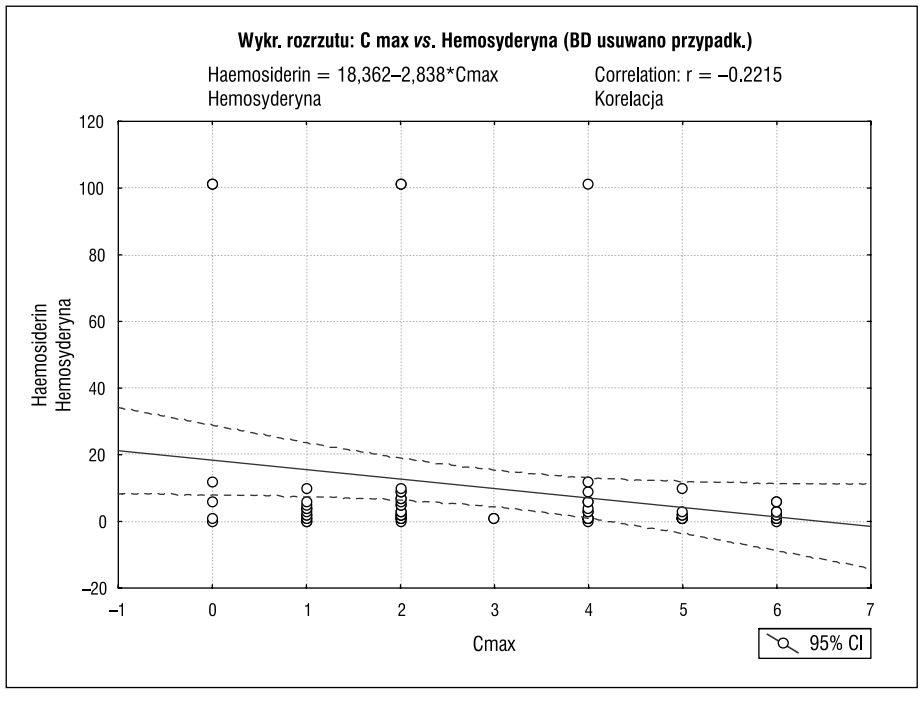

Figure 3. Correlation of the number of haemosiderin granules and clinical category of venous insufficiency. CI — confidence interval

Rycina 3. Zależność pomiędzy liczbą ziaren hemosyderyny stwierdzanej w moczu a zaawansowaniem klinicznym CVI. CI — przedział ufności

A correlation between clinical severity of venous insufficiency and number of urine haemosiderin granules was tested by Spearman test. A lack of correlation was noticed ($r = –0.203$; $p = 0.078$). There was no correlation between clinical category of venous insufficiency and number of haemosiderin granules noticed in urine. Thus, hemosiderinuria cannot be a marker of severity of venous disturbances. Figure 3 presents the correlation of these variables.

Discussion

In 5% of cases it was impossible to determine the number of haemosiderin granules. This could be a result of the high morning urine concentration or other metabolic disorders. Concomitant medication could also contribute to it. Analysis of the remaining urine samples did not show any correlation between clinical severity of venous insufficiency and number of haemosiderin granules excreted in urine. Morning samples of urine were tested that were ultrafiltrated in kidneys at night. This accounts for 25–50% of average daily excretion. It is possible that daily fluctuations of haemosiderin excretion and urine concentration interfered with our results. Analysis of a daily urine collection could possibly yield different results. Preparation and especially transfer of sediment onto the slide are crucial

Wyniki

Spośród poddanych ocenie próbek moczu w 5 przypadkach (4,86%) nie uzyskano wiążących wyników. Przyczyną niepowodzenia we wszystkich przypadkach był zbyt obfity osad uniemożliwiający ocenę i identyfikację kryształów hemosyderyny.

Do analizy włączono łącznie 76 osób w różnych klasach niewydolności żylnej według CEAP. Średni wiek badanej grupy wynosił 53,39 ± 12,68 roku. Przebadano łącznie 45 kobiet i 31 mężczyzn.

Rozkład najwyższego stwierdzanego stopnia zaawansowania CVI przedstawiono na rycinie 1.

U 18 chorych nie stwierdzono przedmiotowych objawów CVI lub występowanie jedynie teleangiektazji lub żył siateczkowatych (kategorie C0 i C1). Najliczniejszą grupę (21 chorych) stanowili pacjenci z żylakami kończyn dolnych jako najwyższą stwierdzaną na kończynie patologią. Żylaki występowały oczywiście także u chorych z bardziej zaawansowaną patologia żylną — przewlekłą niewydolnością żylną (kategorie C3–C6). Niemal u połowy badanych chorych występowały zmiany troficzne na kończynach dolnych oraz czynne lub zagojone owrzodzenie żylne.

W analizowanych próbkach najczęściej stwierdzano pojedyncze ziarnistości hemosyderyny, ale w całej grupie odnotowywano 0–12 ziarnistości w polu widze-

moments, demanding skill and experience. Too much supernatant left in the examined sample would dilute the granules and thus understate the granule concentration. It should be noted that microscopic evaluation and counting of haemosiderin granules is highly observation dependent. Experience of such observation plays a very important role. Skin iron metabolism could also be influenced by genetic factors.

Methodological failures can be noticed in the previous studies [21]. Zamboni et al. compared a control population of students aged 20–25 years with much older subjects with venous insufficiency — mean age 48 years. It seems that such a high age difference could have an influence on kidney function. There was also a difference in concomitant diseases and medications. The difference found in this research could be the result of factors other than venous insufficiency. There was no clear definition of the volume of sediment transferred to the glass for microscopic observation, and there was arbitrary scoring instead of comparison of medians.

In the present work, 1 μL of sediment was evaluated every time, in order to standardize the procedure. It could be that too small a volume of sampled sediment together with low concentrations of haemosiderin granules influenced our results.

Conclusions

Considering the lack of correlation between haemosiderin urine excretion and the severity of venous insufficiency in our research and the very promising results of previous studies, it seems worth continuing attempts to standardize and objectivise this method.

References

1. Jawień A, Grzela T, Ochwat A (2003) Prevalence of chronic venous insufficiency (CVI) in men and women of Poland. multicenter cross-sectional study of 40095 patients. Phlebology, 18: 110–122.
2. Fowkes FGR (1999) Prevelence and risk factors of chronic venous insufficiency. Chronic venous insufficiency. Servier International, 1.
3. Callam MJ (1994) Epidemiology of varicose veins. Br J Surg, 81: 167.
4. Adhikari A, Criqui M, Wooll V et al (2000) The epidemiology of chronic venous diseases. Phlebology, 15: 2.
5. Browse NL, Burnand KG (1982) The cause of venous ulceration. Lancet, 2: 243–245.
6. Coleridge Smith PD, Thomas P, Scurr JH, Dormandy JA (1988) Causes of venous ulceration: a new hypothesis. BMJ, 296: 1726–1727.
7. Wilkinson L, Bunker C, Edwards J, Scurr J, Smith P (1993) Leukocytes: their role in the etiopathogenesis of skin damage in venous disease. J Vasc Surg, 17: 669–675.
8. Ackerman Z, Seidenbaum M, Loewenthal E, Rubinow A

nia, a w 5 przypadkach skupiska ziarnistości hemosyderyny w postaci kryształów. Dane w formie histogramu przedstawiono na rycinie 2.

Zależność pomiędzy zaawansowaniem CVI a ilością wydalanych w moczu ziarnistości hemosyderyny określono za pomocą testu korealcji rang Spearmana. Wykazano brak zależności pomiędzy analizowanymi danymi ($r = –0{,}203$; $p = 0{,}078$). Nasilenie zmian obserwowanych na kończynie nie miało związku z ilością wydalanej w moczu hemosyderyny. Wydalanie hemosyderyny nie może więc być traktowane jako wyznacznik nasilenia patologii żylnej. Krzywą korelacji przedstawiono na rycinie 3.

Omówienie wyników

W części przypadków (niemal 5%) nie udało się ocenić ewentualnego wydalania hemosyderyny ze względu na duże ilości uzyskanego osadu. Mogło się do tego przyczynić zbyt duże zagęszczenie porannego moczu, występowanie zaburzeń metabolicznych w badanej grupie, jak również wydalanie w moczu powszechnie przyjmowanych przez badane osoby leków. Analiza pozostałych próbek nie wykazała występowania korelacji pomiędzy stopniem zaawansowania klinicznego przewlekłych zaburzeń żylnych a ilością wydalanych z moczem kryształów hemosyderyny. Ocenie poddano mocz powstający w godzinach nocnych — stanowi on około 25–50% dobowego wydalania. Możliwe jest, że istnienie wahań w wydalaniu hemosyderyny oraz istotnych różnic pod względem stopnia zagęszczenia moczu w ciągu doby nie pozwoliło znaleźć takich współzależności. Być może analiza moczu zebranego w ciągu doby dostarczyłaby odmiennych wyników. Przygotowanie próbek moczu wymaga wprawy i doświadczenia. Momentem szczególnie wrażliwym jest przenoszenie odwirowanego osadu z probówki na szkiełko mikroskopowe — bezpośrednio przed zliczaniem kryształów. Pozostawienie zbyt dużej ilości supernatantu rozcieńcza elementy osadu i zaniża ich oznaczenie. Należy również mieć na uwadze, że obserwacja mikroskopowa próbek jest badaniem wysoce subiektywnym, a uzyskane wyniki w bardzo dużym stopniu zależą od doświadczenia wykonującej to badanie osoby. Możliwy jest również wpływ czynników genetycznych na cykl przemian żelaza w skórze osób cierpiących na przewlekłą niewydolność żylną [24].

W dotychczas opublikowanych badaniach również można odnotować braki metodologiczne [21]. Zamboni i wsp. w pierwszej z badanych grup porównywali wyniki ilości wydalanej hemosyderyny w dwóch zasadniczo różnych grupach — grupę kontrolną stanowili studenci, a więc osoby w wieku około 20–25 lat, średni wiek osób

(1988) Overload of iron in the skin of patients with varicose ulcers: possible contributing role of iron accumulation in progression of the disease. Arch Dermatol, 124: 1376–1378.
9. Allegra C, Antignani PL, Bergan JJ et al (2003) The "C" of CEAP: suggested definitions and refinements: an International Union of Phlebology conference of experts. J Vasc Surg, 37: 129–131.
10. Cuttell PJ, Fox JA (1982) The aetiology and treatment of varicose pigmentation, Phlebologie, 35: 381–389.
11. Mayers HL (1965) Topical chelatation therapy for varicose pigmentation . American College of Angiology. Angiology, 17: 66–68.
12. Eklof B, Bergan JJ, Gloviczki P et al (2004) American Venous Forum International Ad Hoc Committee for Revision of the CEAP Classification Revision of the CEAP classification for chronic disorders: consensus statement. J Vasc Surg, 40: 1248–1252.
13. Rivera MRP, Ishihara M, Mihara M (2003) A case of non-selective phagocytosis of hemosiderin. Arch Dermatol Res, 295: 19–23.
14. Maiborodin IV, Pavliuk EG, Egorov VA, Shevela AI, Maiborodina VI, Savchenko SV (2006) Hemosiderin and siderophages in inguinal lymph nodes in chronic venous insufficiency of the legs. Arkh Patol, 68: 23–25.
15. Daehwan K, Won Hyoung K (2002) Role of dermal melanocytes in cutaneous pigmentation of stasis dermatitis. J Korean Med Sci, 17: 648–654.
16. Shibata T, Prota G, Mishima Y (1993) Non-melanosomal regulatory factors in melanogenesis. J Invest Dermatol, 100: S274–S280.
17. Zamboni P, Scapoli G, Lanzara V et al (2005) Serum iron and MMP-9 variations in limbs affected by chronic venous disease and venous leg ulcers. Dermatol Surg, 31: 644––649.
18. Zamboni P, Izzo M, Tognazzo S et al (2006) The overlapping of local iron overload and HFE mutation in venous leg ulcer pathogenesis. Free Radic Biol Med, 40: 1869–1873.
19. Herouy Y, Mellios P, Banderir E et al (2001) Inflammation in stasis dermatitis upregulates MMP-1, MMP-2 and MMP-13 expression. J Dermat Science, 25: 198–205.
20. Gurjar MV, Deleon J, Sharma RV, Bhalla RC (2001) Role of reactive oxygen species in IL-1-stimulated sustained ERK activation and MMP-9 induction. Am J Phys, 281: H2568––H2574.

z przewlekłą niewydolnością żylną wyniósł 48 lat. Wydaje się, że tak duża różnica wieku może mieć wpływ na funkcjonalny stan nerek, obie grupy różniły się także pod względem występowania chorób współistniejących. Uzyskiwana różnica w zakresie wydalania hemosyderyny nie musi być więc czystą pochodną zaburzeń żylnych. Wątpliwości może również budzić brak jednoznacznego określenia objętości badanego osadu oraz arbitralnie przyjęta zależnie od liczebności stwierdzanych kryształów gradacja (*scoring*) zamiast porównywania median.

W niniejszym badaniu każdorazowo zliczano kryształy hemosyderyny w osadzie moczu o objętości 1 μl, dążąc do powtarzalności i obiektywizacji dokonywanych ocen. Możliwe jednak, że przy niewielkich ilościach stwierdzanych kryształów dokonywano oceny zbyt małej objętości osadu, co mogło istotnie wpłynąć na uzyskiwane wyniki.

Wnioski

Niepotwierdzenie zależności pomiędzy patologią żylną i wydalaniem hemosyderyny w badaniu przeprowadzonym przez autorów niniejszej pracy w konfrontacji z bardzo obiecującymi wynikami dotychczasowych doniesień wskazuje na celowość dalszych ocen metody, konieczność jej unifikacji i obiektywizacji.

21. Zamboni P, Izzo M , Fogato L, Carandina S, Lanzara V (2003) Urine hemosiderin: A novel marker to assess the severity of chronic venous disease. J Vasc Surg, 37: 132––136.
22. Tan J, Smith A, Abisi S, Eastham D, Burnand KG (2007) Tissue and urinary haemosiderin in chronic leg ulcers. Eur J Vasc Endovasc Surg, 34: 355–360.
23. Hoffbranda V, Catovsky D, Tuddenhame E (2005) Postgraduate haematology. Blackwell Science.
24. Zamboni P, Izzo M, Tognazzo S et al (2006) The overlapping of local iron overload and HFE mutation in venous leg ulcer pathogenesis. Free Radic Biol Med, 40: 1869––1873.