مقاله پژوهشی

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلوتو در بیماران همودیالیز و پیوند کلیه

تیمور قاضی‌زاده[۱]، امیر قربانی حق جو[۲]، حسن ارگانی[۳]، سینا رئیسی[٤]، جاوید صفا[٥]، جواد علی اصغری[٦]، نادره رشتچی‌زاده[۷]

تاریخ دریافت ۱۳۹٤/۰٥/۲٥ تاریخ پذیرش ۱۳۹٤/۰۷/۳۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: هدف مطالعه حاضر ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی سطوح سرمی کلوتو با بررسی ۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین (8-OHdG) به‌عنوان یک مارکر آسیب اکسیداتیو اسیدهای نوکلئیک در بیماران همودیالیز و پیوند کلیه می‌باشد.

مواد و روش کار: نمونه‌های سرمی از ۴۵ بیمار تحت همودیالیز و ۴۵ بیمار پیوند کلیه پایدار جمع‌آوری گردید. سطوح سرمی کلوتو، iPTH،8OHdG و ویتامین D (25(OH) D) با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: سطوح سرمی کلوتو در گروه همودیالیز به نحو معنی‌داری بالاتر بود ($p\leq0.001$). اما در سطوح سرمی (8-OHdG) تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نگردید ($p=.242$). سطوح سرمی هورمون پاراتیروئید در بیماران همودیالیز به نحو معنی‌داری بالاتر از گروه پیوند کلیه بود درحالی‌که همبستگی معنی‌داری بین سطوح سرمی کلوتو و iPTH در هیچ‌کدام از دو گروه موردمطالعه مشاهده نگردید.

بحث و نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که سطوح بالای کلوتو در گروه همودیالیز یک پاسخ ثانویه به غلظت بالای هورمون پاراتیروئید و یا فقط به دلیل مصرف داروهای سرکوب‌کننده ایمنی در بیماران پیوند کلیه باشد

کلیدواژه‌ها: ۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین; کلوتو; همودیالیز; پیوند کلیه

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره نهم، ص ۷۵۳-۷۴۳، آذر ۱۳۹٤

آدرس مکاتبه: آذربایجان شرقی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات کاربردی داروئی، تلفن: ۳۳۳۶۳۲۳۴-۰۴۱

Email: ghorbaniamir@hotmail.com

مقدمه

بیماری مزمن کلیه به مجموعه نارسایی‌های عملکردی و ساختاری کلیه اطلاق می‌شود که بر مبنای میزان فیلتراسیون گلومرولی به پنج مرحله تقسیم می‌شود و مرحله آخر آن به‌عنوان بیماری مرحله آخر کلیه شناخته می‌شود (۱). در این مرحله آسیب عملکردی کلیه تقریباً غیرقابل‌بازگشت بوده و برای جلوگیری از ایجاد اورمی، بیمار تحت عمل دیالیز یا درنهایت پیوند کلیه قرار می‌گیرد (۲، ۳). مطالعات انجام‌شده حاکی از آن است که استرس اکسیداتیو، نقش مهمی در ایجاد آسیب در ارگان‌های مختلف ایفا می‌کند و نقش آن در افرادی که دارای نارسایی کلیوی هستند بالاتر از حالت نرمال بوده و همچنین نشان داده شده است که همودیالیز یا پیوند کلیه خود می‌تواند باعث افزایش آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو در این دسته از بیماران گردد (۴، ۵). گونه‌های واکنشگر اکسیژن با تهاجم به انواع مختلفی از اجزای سلولی ازجمله لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA باعث آسیب سلولی و درنهایت ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شوند. یکی از مارکرهای دقیق آسیب DNA که در اثر گونه‌های واکنشگر اکسیژن تولید می‌شود، 8-OHdG می‌باشد (۶، ۷). همچنین مطالعات نشان داده است که، افزایش میزان گونه‌های واکنشگر اکسیژن و پیشرفت استرس اکسیداتو به‌طور معکوسی با میزان فیلتراسیون گلومرولی و میزان عملکرد کلیه ارتباط دارد و

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات کاربردی داروئی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[۲] استاد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات کاربردی داروئی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران (نویسنده مسئول)

[۳] استاد نفرولوژی، مرکز تحقیقات کاربردی داروئی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[٤] دانشجوی دکترای بیوشیمی بالینی، بخش آزمایشگاههای بالینی، بیمارستان کودکان تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[٥] دانشیار نفرولوژی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[٦] نفرولوزیست، گروه اورولوژی، بیمارستان شهید مدرس، مرکز تحقیقات اورولوژی و نفرولوژی، داشناگه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران، تهران، ایران

[۷] استاد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

استرس اکسیداتیو باعث تسریع روند آسیب کلیوی می‌شود که درنهایت موجب کاهش عملکرد کلیه می‌شود(۸، ۹). مطالعات جدیدتر نشان داده است که باوجود مارکرهای متنوع در بررسی استرس اکسیداتیو و آسیب بافتی ناشی از آن، 8-OHdG دارای ارزش بالایی می‌باشد که غلظت آن در سرم بیماران به دنبال آسیب بافتی افزایش می‌یابد. همچنین برخلاف استرس اکسیداتیو، کلوتو به‌عنوان یک پروتئین محافظت‌کننده از کلیه عمل می‌کند که در خود کلیه به مقدار زیادی تولید می‌شود. این پروتئین به دو فرم غشایی و ترشحی وجود دارد (۱۰، ۱۱). فرم غشای کلوتو به‌عنوان کوفاکتور، فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲۳ عمل می‌کند که باعث توقف ترشح هورمون پاراتیروئید می‌شود. فرم ترشحی کلوتو دارای عملکردهای متفاوت و متنوعی می‌باشد(۱۲). کلوتو می‌تواند آسیب کلیه را کاهش دهد، باعث تسریع روند بهبودی کلیه بعد از ایسکمی شود، سرعت نارسایی کلیه را کاهش دهد و مشکلات بیماران مزمن کلیه را مانند اختلالات مواد معدنی را کمتر کند (۱۳). استرس اکسیداتیو می‌تواند بیان کلوتو در بافت‌ها را کاهش دهد (۱۴). در مطالعات قبلی نشان داده است که میزان دفع ادراری کلوتو، در بیماران مرحله آخر کلیه ، با میزان عملکرد کلیه مرتبط است. به همین دلیل سطوح کم کلوتو در سرم این بیماران مشاهده شده است (۱۵، ۱۶).هدف مطالعه حاضر ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی سطوح سرمی کلوتو با بررسی ۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین (8-OHdG) به‌عنوان یک مارکر آسیب اکسیداتیو اسیدهای نوکلئیک در بیماران همودیالیز و پیوند کلیه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در مرکز تحقیقات کاربردی داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد و توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز به شماره ۵/۴/۵۱۲۹ مورد تأیید قرار گرفته است. نمونه‌های بیماران از تاریخ آذرماه ۱۳۹۲ تا تاریخ اردیبهشت ما ۱۳۹۳ جمع‌آوری شد. در این مطالعه ۴۵ بیمار همودیالیز (۲۵ مرد و ۲۰ زن) و ۴۵ بیمار پیوند کلیه (۲۴ مرد و ۲۱ زن) موردمطالعه قرار گرفتند. رضایت‌نامه کتبی از همه بیماران گرفته شد. معیارهای خروج از مطالعه شامل موارد زیر بودند: استعمال سیگار، مصرف آنتی‌اکسیدان، بیماری عفونی، نارسایی قلبی، بدخیمی، بیماری کبدی و کم‌خونی شدید (هموگلوبین کمتر ۱۰ گرم بر دسی لیتر). همه بیماران پیوند کلیه اریتروپوئتین دریافت کرده‌اند. معیارهای ورود به مطالعه در بیماران پیوند کلیه مصرف سه داروی سرکوب‌کننده ایمنی شامل سیکلوسپورین، سل سپت و پردنیزولون می‌باشد و هم‌چنین نبود شواهدی مبنی بر رد پیوند حداقل در سه ماه گذشته است. همه بیماران همودیالیز و پیوند کلیه مکمل ویتامین D فعال (۰،۲۵ میلی‌گرم در روز) دریافت کرده‌اند. علت ایجاد نارسایی کلیوی شامل نفروپاتی دیابتی، گلومرونفریت مزمن، بیماری پلی کیستیک کلیه، نفروپاتی فشارخون ایسکمی، نفروپاتی تخریبی و نامشخص می‌باشد (جدول یک). همه بیماران همودیالیز دارای شرایط ثابت بوده و تحت همودیالیز منظم حداقل طی ۱۴ ماه گذشته بوده‌اند (سه بار در هفته هر بار ۴ ساعت). همه نمونه‌ها بعد از یک ناشتای ۱۲ ساعته از وریدهای محیطی بیماران گرفته شد، در بیماران همودیالیز قبل از شروع دیالیز و در بیماران پیوند کلیه قبل از مصرف داروهای سرکوب‌کننده ایمنی. سرم نمونه‌های طی ۳۰ دقیقه جدا شد و در دمای ۷۰- تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شد. سطوح سرمی کراتینین، آلبومین، اوره، کلسترول تام، تری گلیسیرید و HDL با روش رنگ سنجی آنزیمی توسط دستگاه اتوآنالیزور (Abbott analyzer, Abbott laboratories, Abbott Park, North Chicago, IL) و LDL توسط فرمول Friedewald محاسبه گردید. سطوح سرمی فسفر و کلسیم توسط کیت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد. سطوح سرمی کلوتو توسط روش الایزا (Glory Science, USA, Catalog No: 20120821) و توسط دستگاه الایزا ریدر (STATFAX-2100, Multi-detection Multi Plate Reader, USA) اندازه‌گیری شد. سطوح سرمی 8-OHdG با کیت الایزا (Biospes, China, Catalog No:BYEK1218)، سطوح سرمی 25 OH-D2,D3 با روش الایزا (DIA source, Belgium, Catalog No:KAP1971) و میزان هورمون پاراتیروئید کامل با کیت الایزا (IBL, Germany, Catalog No:NM59041) اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری توسط نرم‌افزار SPSS 18 انجام گردید. برای آنالیزهای غیر پارامتریک کمترین-بیشترین مقدار و برای آنالیزهای پارامتریک میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید. تفاوت بین گروه‌ها توسط آزمون Mann–Whitney U برای داده‌های غیر پارامتریک و توسط آزمون independent sample t-test برای داده‌های پارامتریک گزارش گردید. برای تعیین همبستگی بین پارامترهای بیوشیمیایی از Pearson and Spearman coefficient استفاده گردید. در تمامی تست‌ها $p<0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

جدول یک، خصوصیات کلی ۴۵ بیمار همودیالیز و ۴۵ بیمار پیوند کلیه را نشان می‌دهد. همان طور که در جدول یک نشان داده شده است هیچ تفاوت معنی‌داری بین سن و جنس بین دو گروه وجود ندارد. با توجه به پروفایل لیپیدی، غلظت سرمی کلسترول تام، HDL و LDL در گروه همودیالیز بالاتر از گروه پیوند کلیه بود

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

($p<0.05$) ولی غلظت سرمی تری‌گلیسرید در دو گروه تقریباً برابر بود ($p>0.05$). غلظت سرمی کلسیم در گروه پیوند کلیه بالاتر بود ولی مقدار فسفر در گروه همودیالیز بالاتر بود. همان طور که در جدول نشان داده شده است سطوح سرمی هورمون پاراتیروئید در بیماران همودیالیز به نحو معنی‌داری بالاتر از گروه پیوند کلیه بود ولی بین سطوح سرمی 8-OHdG در دو گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. مقدار سرمی کلوتو بدون در نظر گرفتن جنس، در گروه همودیالیز بالاتر می‌باشد. بین زن و مرد در هر دو گروه تفاوت معنی‌داری بین سطح کلوتو وجود نداشت. همچنین غلظت سرمی ویتامین D غیرفعال در گروه پیوند کلیه بالاتر از گروه همودیالیز بود. همبستگی بین کلوتو و 8-OHdG در گروه همودیالیز و برای مردان این گروه در شکل یک نشان داده شده است. همبستگی معنی‌داری بین این دو فاکتور در گروه همودیالیز مشاهده گردید. ($r=0.465$, $p=0.003$) (شکل یک). در مردان گروه همودیالیز یک همبستگی مثبت بینانی دو فاکتور مشاهده گردید ($r:0.521$, $p:0.002$) (شکل دو) ولی در زنان گروه همودیالیز همبستگی قابل توجهی مشاهده نشد ($r:0.292$, $p:0.525$). هم‌چنین در گروه پیوند (هم مردان و هم زنان) هیچ همبستگی معنا داری پیدا نشد. در گروه پیوند کلیه هیچ همبسگتی معنی‌داری بین کلوتو و سن مشاهده نگردید ($r=0.157$, $p=0.357$) ولی در گروه همودیالیز یک همبستگی معنی‌دار و منفی مشاهده شد ($r= -0.319$, $p=0.037$)(شکل سه). همچنین قابل ذکر است که هیچ همبستگی معنی‌داری بین کلوتو و iPTH در هیچ‌کدام از دو گروه مشاهده نشد [همودیالیز ($r=0.067$, $p=0.667$)، پیوند کلیه ($r=-0.027$, $p=0.886$)]. بین کلوتو و ویتامین D هم همبستگی معنی‌داری در هیچ‌کدام از دو گروه مشاهده نشد] همودیالیز($r=0.271$, $p=0.087$) ، پیوند کلیه [($r=-0.040$, $p=0.803$).

جدول (۱): خصوصیات و فاکتورهای بیماران همودیالیز و پیوند کلیه

متغیر	گروه همودیالیز (تعداد=۴۵)	گروه پیوند کلیه (تعداد=۴۵)	p-value
سن (سال)	۵۳ (۳۳-۶۸)	۴۷ (۲۲-۶۲)	۰،۰۶۸
جنسیت (مرد/زن)	۲۰/۲۵	۲۱/۲۴	۰،۸۳۲
تشخیص بیماری، تعداد (٪)	-	-	۰،۴۰۳
نفروپاتی دیابتی	۱۵ (٪۳۳،۳)	۲۰ (٪۴۴،۴)	-
گلومرونفریت دیابتی	۴ (٪۸،۹)	۳ (٪۶،۷)	-
بیماری پلی کیستیک کلیه	۶ (٪۱۳،۳)	۳ (٪۶،۷)	-
نفروپاتی ایسکمی فشار خون	۱۲ (٪۲۶،۷)	۱۰ (٪۲۲،۲)	-
نفروپاتی تخریبی	۵ (٪۱۱،۱)	۹ (٪۲۰)	-
علت نامشخص	۲ (٪۴،۴)	۰ (٪۰)	-
طول مدت دیالیز (ماه)	۲۹،۵۶±۹،۶	۱۹،۵۶±۴،۳(قبل از پیوند)	□۰،۰۰۱
درمان متداول (٪)	-	-	-
کلسیم کربنات	٪۸۲،۲	-	-
ونوفر	٪۷۳،۳	-	-
هپارین	٪۱۰۰	-	-
اریتروپوئتین	٪۱۰۰	-	-
سیکلوسپورین	-	٪۱۰۰	-
پردنیزولون	-	٪۱۰۰	-
سل سپت	-	٪۱۰۰	-
کلسیم (میلی‌گرم/دسی لیتر)	۷،۵۴±۱،۳۶	۹،۲۴ ±۰،۸۷	□۰،۰۰۱

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

فسفر (میلی‌گرم/ دسی لیتر)	۶،۱۵ ±۰،۸۳	۳،۷۷ ±۰،۶۵	□۰،۰۰۱
کراتینین (میلی‌گرم/ دسی لیتر)	۷،۴۰ (۳،۵۰-۱۰،۴۰)	۱،۶ (۰،۸-۶،۱۰)	□۰،۰۰۱
کلسترول (میلی‌گرم/ دسی لیتر)	۱۴۴،۸۷ ±۸۶ .۲۷	۱۷۲،۵۸ ±۱۴،۸۱	□۰،۰۰۱
LDL-C (میلی‌گرم/دسی لیتر)	۷۸،۲۴ ±۲۴،۱۷	۸۸،۹۹ ±۲۰،۲۳	۰،۰۲۵
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم/ دسی لیتر)	۱۵۸،۳۶ ±۷۳،۰۳	۱۸۲،۲۴ ±۳۶،۲۸	۰،۰۵۴
HDL-C (میلی‌گرم/ دسی لیتر)	۳۴،۹۵ ±۱۱،۴۶	۴۷،۱۳ ±۱۱،۹۰	□۰،۰۰۱
اوره (میلی‌گرم/ دسی لیتر)	۱۰۹،۳۳ ±۲۳،۹۷	۴۲،۰۷ ±۱۰،۹۲	□۰،۰۰۱
آلبومین (میلی‌گرم/ دسی لیتر)	۳،۷۲ ±۰،۴۷	۴،۴۲ ±۰،۴۶	□۰،۰۰۱
ALT (IU/L)	۲۲،۳۳ ±۱،۸۳	۲۱،۱۹ ±۲،۰۲	۰،۰۰۷
AST (IU/L)	۱۸،۷۹ ±۱،۷۲	۱۹،۴۲ ±۱،۸۱	۰،۰۹۵
کلوتو (نانو گرم/ میلی لیتر)	۹،۱۹ ±۴،۶۵	۵،۶۹ ±۱،۶۵	□۰،۰۰۱
8-OHdG (نانو گرم/ میلی لیتر)	۲۰،۴۶ (۱۵،۵۷-۲۱۴،۰۹)	۱۷،۷۳ (۱۵،۶۵-۶۷،۱۲)	۰،۲۴۲
iPTH (نانو گرم/ میلی لیتر)	۲۲۳،۳۵ (۳۴،۲۹-۹۶۱،۲۳)	۴۱،۹۸ (۱۵،۹۵-۵۱۶،۱۳)	□۰،۰۰۱
25(OH) D (نانو گرم/ میلی لیتر)	۲۹،۵۰ ±۷،۸۷	۳۵،۵۰ ±۴،۶۵	□۰،۰۰۱

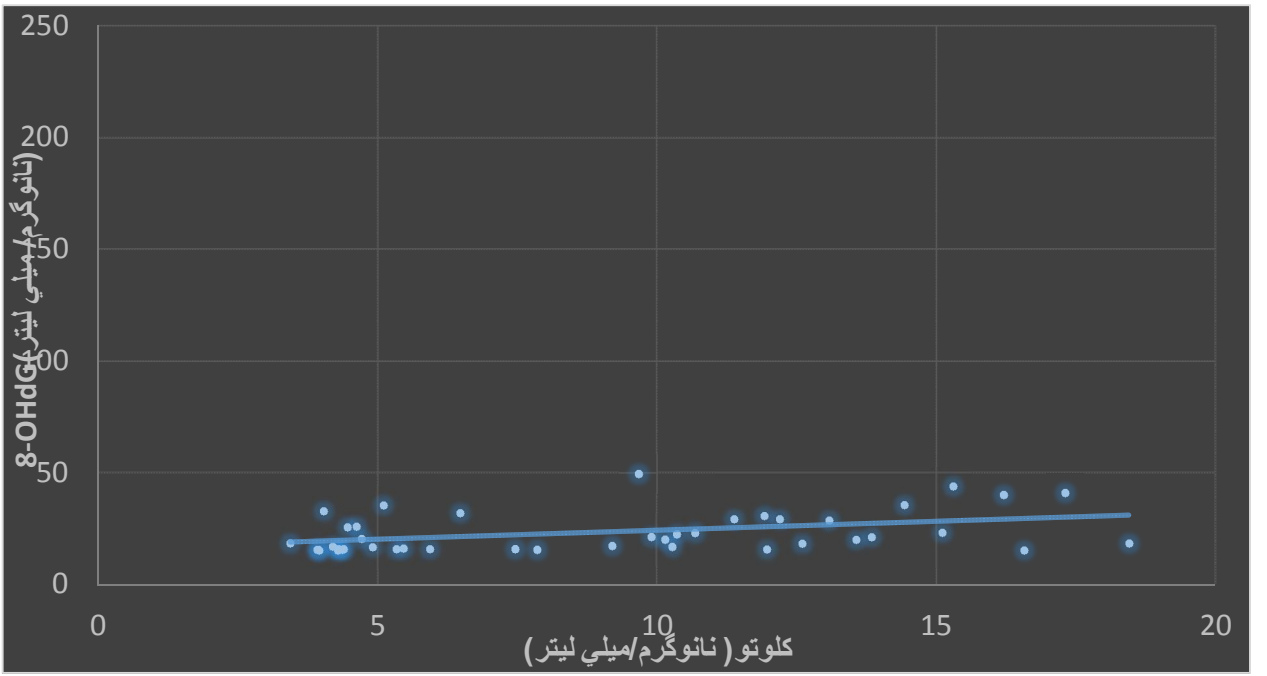
LDL-C: لیپوپروتئین با چگالی کم، HDL-C: لیپوپروتئین با چگالی بالا، ALT: آلانین آمینوترانسفراز، AST: آسپارتات آمینوترانسفراز، 8-OHdG: ۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین، iPTH: هورمون پاراتیرئید کامل، 25(OH) D: ۲۵ هیدروکسی کوله کلسیفرول

جدول (۱): سطوح کلوتو و 8-OHdG در مردان و زنان

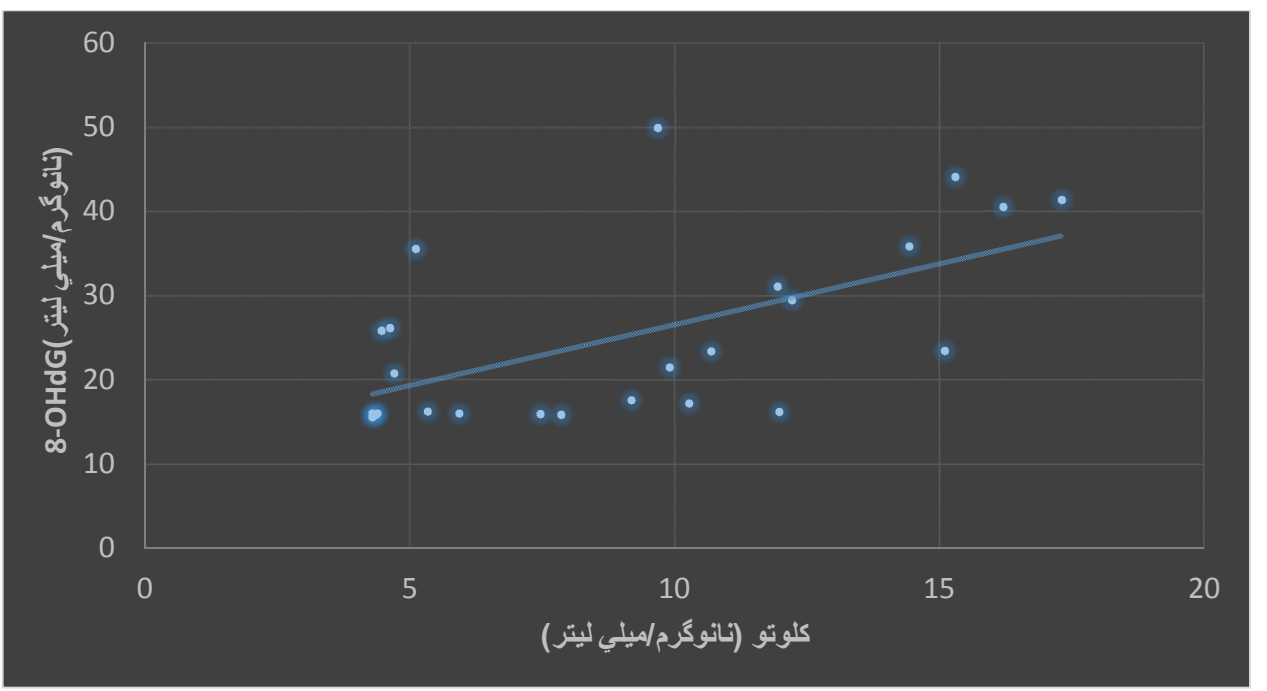
متغیر	جنسیت		p-value
	مرد	زن	
کلوتو (نانوگرم/ میلی لیتر)	۹،۱۴ ±۴،۳۹	۹،۲۷ ±۵،۱۶	۰،۹۳۳
همودیالیز کلوتو (نانوگرم/ میلی لیتر)	۵،۷۸ ±۱،۸۵	۵،۹۵ ±۱،۴۱	۰،۷۲۱
پیوند کلیه p-value	۰،۰۰۲	۰،۰۱۳	
8-OHdG (نانو گرم/ میلی لیتر)	۲۱،۵۷ (۱۵،۶۵-۴۹،۹۷)	۱۸،۷۶ (۱۵،۵۷-۲۱۴،۰۹)	۰،۴۳۱
همودیالیز 8-OHdG (نانو گرم/ میلی لیتر)	۱۶،۸۴ (۱۵،۶۵-۴۴،۰۶)	۱۸،۲۳ (۱۵،۸۱-۶۷،۱۳)	۰،۴۵۳
پیوند کلیه p-value	۰،۱۴۱	۰،۸۴۳	

8-OHdG: ۸-هیدروکسی ۲-دزوکسی گوانوزین

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

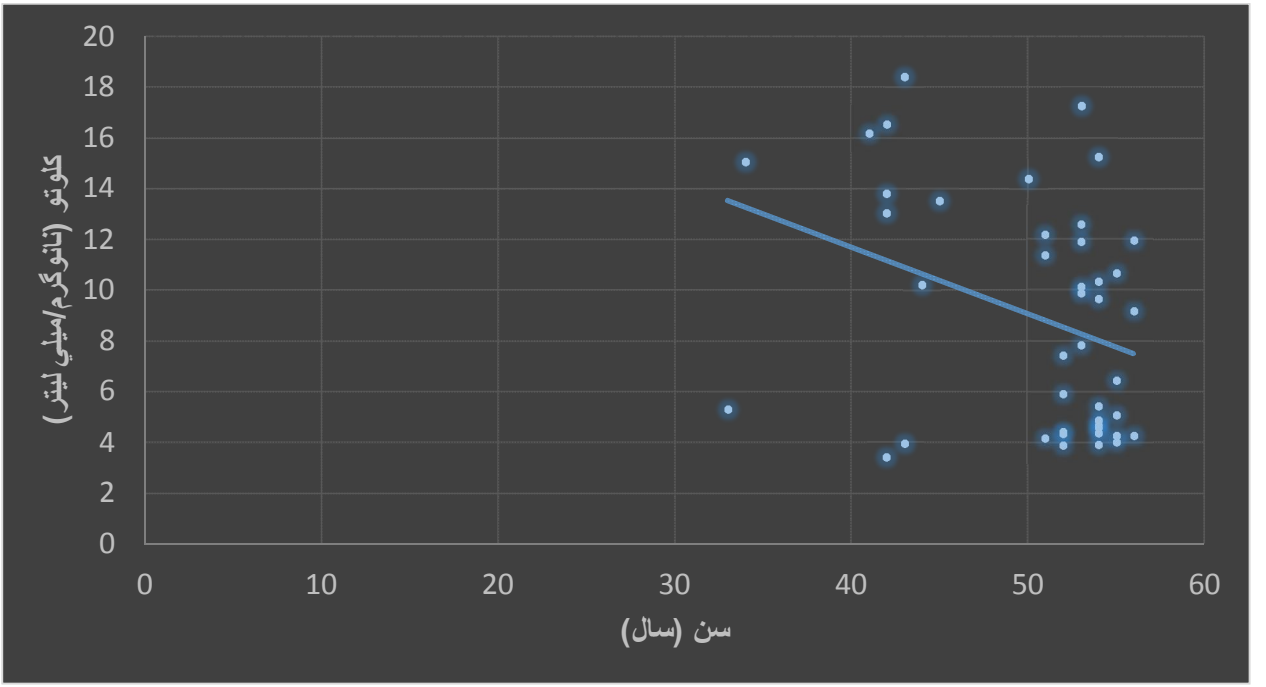


شکل (۱): همبستگی کلوتو با 8-OHdG (p:0.003, r:0.465)



شکل (۲): همبستگی کلوتو و 8-OHdG در مردان همودیالیز (p:0.002, r:0.521)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]



شکل (۳): همبستگی کلوتو و سن در گروه همودیالیز (p:0.037, r: -0.319)

بحث

آسیب عملکردی اندوتلیال، آترواسکلروز و درنهایت نارسایی قلبی ازجمله اختلالات شایع در بیماری مرحله آخر کلیه می‌باشد که از مقدار بالای آسیب اکسیداتیو ناشی می‌شود. این سطح بالای آسیب اکسیداتیو یکی از مشخصه‌های این بیماران می‌باشد که در اثر از بین رفتن تعادل بین دفاع آنتی‌اکسیدانی و عوامل ایجادکننده رادیکال‌های آزاد به وجود می‌آید (۱۷). دلایل مختلفی برای این حالت وجود دارد ازجمله: کاهش غلظت ویتامین C و سلنیم، کاهش غلظت داخل سلولی ویتامین E، افزایش سن، دیابت، اورمی و التهاب مزمن (۱۷). هم‌چنین کلوتو به‌عنوان پروتئینی که عمدتاً توسط کلیه تولید می‌شود دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۱۸، ۱۹). Yamamoto و همکارانش در مطالعه‌ای نشان داده‌اند که کلوتو می‌تواند باعث افزایش سطوح سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان یک آنزیم دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی شود (۲۰). در مطالعه‌ای که Mitobe و همکارانش روی سلول‌های کلیوی انجام دادند معلوم شد که افزایش استرس اکسیداتیو باعث کاهش بیان کلوتو می‌شود (۲۱). قبلاً معلوم شده است که بعضی از داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی مثل سیکلوسپورین باعث آسیب به کلیه می‌شوند. افزایش تولید گونه‌ها واکنشگر اکسیژن و تضعیف سیستم آنتی‌اکسیدانی علل ایجادکننده این آسیب کلیوی می‌باشند (۲۲-۲۴). با توجه به مطالعات قبلی انجام‌شده داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی (که توسط بیماران پیوند کلیه مصرف شده است) باعث کاهش سطح کلوتو می‌شود (۲۵، ۲۶). Yoon و همکارانش گزارش کرده‌اند که سیکلوسپورین در موش‌ها باعث ایجاد نفروپاتی مزمن و کاهش سطح کلوتو می‌شود (۲۶). در این مطالعه سطوح کلوتو در افراد همودیالیزی بالاتر از گروه پیوند کلیه بود که احتمالاً به دلیل مصرف داروهای سرکوب‌کننده ایمنی در گروه پیوند کلیه می‌باشد.

افزایش سطح هورمون پاراتیرئید در بیماران کلیوی باعث هیپوکلسمی، هیپرفسفاتمی و کمبود فرم فعال ویتامین D می‌شود که این حالت می‌تواند اصلی‌ترین علت ایجاد استئودیستروفی کلیوی در این بیماران می‌باشد (۲۷). یافته‌های حاصل از مطالعه ما نشان می‌دهد که سطوح سرمی هورمون پاراتیرئید در گروه همودیالیز بالاتر از گروه پیوند کلیه می‌باشد. هرچند این نتایج با نتیجه مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۲ هماهنگی دارد اما عدم بیان و توجیه این اختلاف در گروه‌های موردمطالعه از مواردی است که در مطالعات آینده مورد توجه قرار گیرد (۲۸). با توجه به نتایج مطالعات اخیر، مشخص شده است که کلوتو با اتصال به FGF23(فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲۳) می‌تواند جلوی ساخت و ترشح هورمون پاراتیرئید را بگیرد(۲۹). که در مجموع با این نتایج انتظار می‌رود در گروهی که سطوح کلوتو بالاتر است میزان هورمون پاراتیرئید کم‌تر باشد ولی نتایج خلاف این حالت را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد علت بیشتر بودن میزان هورمون پاراتیرئید در گروه همودیالیز بیشتر بودن میزان فسفر از حد نرمال (میلی‌گرم/دسی لیتر ۴،۱-۲،۴) و هم‌چنین کم‌تر بودن سطح سرمی کلسیم از حد نرمال (میلی‌گرم/دسی لیتر ۱۰،۲-

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

۸،۵) در این گروه باشد.البته علاوه بر این مکانیسم می‌توان علت دیگر را هم برای این حالت متصور شد.کلوتو می‌تواند تولید فرم فعال ویتامین D را کاهش دهد(۱۰) و از این طریق می‌تواند مانع از کاهش تولید هورمون پاراتیرئید در اثر افزایش فرم فعال ویتامین D شود.

هورمون پاراتیروئید باعث افزایش غلظت شکل فعال ویتامین D از طریق آنزیم هیدروکسیلاز کلیوی می‌شود (۳۰). شرکت فعال ویتامین D یک عامل مثبت در بیان ژن کلوتو می‌باشد و می‌تواند سطح کلوتو را افزایش دهد ازاین‌رو هورمون پاراتیروئید می‌تواند از طریق شکل فعال ویتامین D باعث افزایش تولید کلوتو شود (۳۰، ۳۱). شکل غیرفعال ویتامین D برخلاف شکل فعال می‌تواند باعث کاهش سطح کلوتو شود (۳۲). در مطالعه Hryszko و همکارانش مصرف مکمل ویتامین D غیرفعال باعث کاهش سطح کلوتو در بیماران همودیالیز شده است (۳۲). در این مطالعه همانند مطالعه ما هیچ ارتباط معنا داری بین سطوح کلوتو با ویتامین D غیرفعال و هورمون پاراتیروئید یافت نشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سطح سرمی ویتامین D غیرفعال در افراد پیوند کلیه بالاتر بود. سطح بالاتر هورمون پاراتیروئید و سطح پایین‌تر ویتامین D غیرفعال در بیماران همودیالیز می‌تواند علت بالاتر بودن کلوتو در این گروه بیماران را توجیه کند. بر مبنای مطالعات قبلی یک همبستگی معکوس معنادار بین سطح کلوتو و آسیب اکسیداتیو وجود دارد (۲۵، ۲۶). در گروه پیوند کلیه همبستگی معنی‌داری بین کلوتو و 8-OHdG یافت نشد که احتمالاً به دلیل کاهش سطح کلوتو ناشی از مصرف داروهای سرکوب‌کننده ایمنی در این بیماران می‌باشد. در مردان گروه همودیالیز همبستگی مثبت و معنی‌داری بین کلوتو و 8-OHdG یافت شد در حالی که در زنان همین گروه همبستگی قابل توجهی مشاهده نشد که احتمالاً به دلیل اثر هورمون‌های جنسی زنانه می‌باشد. Barp و همکارانش و هم‌چنین kum-kick و همکارانش گزارش کرده‌اند استروژن‌ها خصوصاً استریول و استرادیول آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که باعث ایجاد اثر آنتی‌اکسیدانی اضافی برای محافظت سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو در زنان می‌شود (۳۳، ۳۴). هم‌چنین Razmara و همکارانش گزارش کرده‌اند که مکانیسم مشخصی برای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هومون های استروژنی وجود دارد. در این مکانیسم استروژن‌ها باعث کاهش گونه‌های واکنشگر اکسیژن و استرس اکسیداتیو از طریق فعال سازی آنزیم منگنز سوپر اکسید دیسموتاز میتوکندریایی می‌شود (۳۵). همبستگی مثبت بین کلوتو و 8-OHdG در مردان گروه همودیالیز احتمالاً یک مکانیسم جبرانی باشد که در آن کلوتو برای مقابله با سطح استرس اکسیداتیو افزایش یافته است. سطح بالای استرس اکسیداتیو باعث کاهش تولید کلوتو در کلیه می‌شود (۲۱) اما شاید در مراحل اولیه یا افزایش کم استرس اکسیداتیو، مقدار کلوتو به‌طور متناسب با استرس اکسیداتیو افزایش یابد. Nadeem و همکارانش در مطالعه‌ای گزارش کرده‌اند که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بیماران مزمن ریوی در مقایسه با افراد سالم غیرسیگاری بیشتر بوده است (۳۶) که می‌تواند دلیلی احتمالی همبستگی مثبت کلوتو و استرس اکسیداتیو در مطالعه ما باشد هم‌چنین همانطور که قبلاً ذکر شد کلوتو از طریق همین آنزیم خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود را اعمال می‌کند. نتایج مطالعه حاضر حاکی آن است که تفاوت معناداری بین سطح کلوتو در مردان و زنان هیچ از دو گروه وجود ندارد. اما در مطالعه Pederson و همکارانش سطح کلوتو به نحو معناداری در زنان بالاتر از مردان بود. برخلاف مطالعه ما که افراد موردمطالعه از بیماری مرحله آخر کلیه رنج می‌بردند در مطالعه Pederson و همکارانش افراد سالم موردمطالعه قرار گرفته‌اند که احتمالاً دلیل اصلی اختلاف بین این دو مطالعه می‌باشد(۳۷).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که با افزایش سن، سطح سرمی کلوتو کاهش می‌یابد (۳۸، ۳۹). Yamazaki و همکارانش در مطالعه‌ای نشان دادند که میزان کلوتو در مردان سالم همراه با افزایش سن کاهش می‌یابد (۳۶). هم‌چنین Semba و همکارانش در مطالعه‌ای نشان دادند که غلظت سرمی کلوتو در افراد بزرگسال جوان بیشتر از سالمندان می‌باشد (۳۹). بر طبق مطالعه Hu et و همکارانش احتمالاً دو دلیل برای این روند وجود دارد. اول، تعداد نفرون های فعال با افزایش سن کاهش می‌یابد به همین دلیل مقدار تولید و رهاسازی کلوتو به درون خون کاهش می‌یابد. دلیل دیگر، احتمالاً کاهش کلوتو در کلیه بخشی از یک کاهش سیستماتیک در کل بدن باشد که باعث می‌شود کلیه‌ها به آسیب حساس‌تر باشند (۴۰). در بیماران همودیالیزی مطالعه حاضر همبستگی بین سن و کلوتو مطابق با مطالعات قبلی بود ولی در گروه پیوند کلیه همبستگی قابل توجهی یافت نشد که احتمالاً ناشی از مصرف داروهای سرکوب‌کننده ایمنی در گروه پیوند کلیه می‌باشد. به نظر می‌رسد که اثر این داروها بر روی کاهش کلوتو قویتر از اثر سن بر روی کاهش کلوتو باشد.

نتیجه‌گیری

غلظت سرمی کلوتو در بیماران همودیالیز بالاتر از بیماران پیوند کلیه می‌باشد که ممکن ناشی از یک پاسخ ثانویه به غلظت بالای هورمون پاراتیروئید یا غلظت سرمی پایین ویتامین D غیرفعال باشد و یا شاید حتی فقط به دلیل مصرف داروهای سرکوب‌کننده ایمنی در بیماران پیوند کلیه باشد که نیاز به مطالعات با طراحی‌های جدیدتر را طلب می‌نماید.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

تشکر و قدردانی

این طرح با حمایت مرکز تحقیقات کاربردی داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شده است که به این وسیله از کلیه مسئولین مرکز مربوطه تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

1. Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. Lancet 2012;379(9811):165-80.
2. Eryilmaz M, Ozdemir C, Yurtman F, Cilli A, Karaman T. Quality of sleep and quality of life in renal transplantation patients. Transplantation proceedings, Elsevier; 2005. p. 2072-6.
3. Sayin A, Mutluay R, Sindel S. Quality of life in hemodialysis, peritoneal dialysis, and transplantation patients. Transplantation proceedings, Elsevier; 2007. p. 3047-53.
4. Odetti P, Girabaldi S, Gurreri G, Aragno I, Dapino D, Pronzato MA, et al. Protein oxidation in hemodialysis and kidney Transplan. Metabol 1996;45(11):1319-22.
5. McGrath LT, Treacy R, McClean E, Brown JH. Oxidative stress in cyclosporin and azathioprine treated renal transplant patients. Clin chimica acta 1997;264(1):1-12.
6. de Groot H, Littauer A. Hypoxia, reactive oxygen, and cell injury. Free Radic Biol Med 1989;6(5):541-51.
7. Tarng D-C, Huang T-P, Wei Y-H, Liu T-Y, Chen H-W, Wen Chen T, et al. 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine of leukocyte DNA as a marker of oxidative stress in chronic hemodialysis patients. Am J kidney diseases 2000;36(5):934-44.
8. Cachofeiro V, Goicochea M, de Vinuesa SG, Oubiña P, Lahera V, Luño J. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. Kidney Int 2008;74:S4-S9.
9. Quiroz Y, Ferrebuz A, Romero F, Vaziri ND, Rodriguez-Iturbe B. Melatonin ameliorates oxidative stress, inflammation, proteinuria, and progression of renal damage in rats with renal mass reduction. Am J Physiology-Renal Physiol 2008;294(2):F336-F44.
10. Hu MC, Shi M, Zhang J, Quiñones H, Griffith C, Kuro-o M, et al. Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease .J Am Soc Nephrol 2011;22(1):124-36.
11. Pavik I, Jaeger P, Ebner L, Wagner CA, Petzold K, Spichtig D, et al. Secreted Klotho and FGF23 in chronic kidney disease Stage 1 to 5: a sequence suggested from a cross-sectional study. Nephrol Dial Transplan 2013;28(2):352-9.
12. Olauson H, Larsson TE. FGF23 and Klotho in chronic kidney disease. Current opinion in nephrology and hypertension 2013;22(4):397-404.
13. Hu MC, Kuro-o M, Moe OW. The emerging role of Klotho in clinical nephrology. Nephrol Dial Transplan 2012;27(7):2650-7.
14. Zhou XJ, Rakheja D, Yu X, Saxena R, Vaziri ND, Silva FG. The aging kidney. Kidney Int 2008;74(6):710-20.
15. Sugiura H, Tsuchiya K, Nitta K. Circulating levels of soluble α-Klotho in patients with chronic kidney disease. Clin Experimen Nephrol 2011;15(5):795-6.
16. Hu MC, Kuro-o M, Moe OW. Secreted klotho and chronic kidney disease. Adv Exp Med Biol 2012;728:126–57.
17. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end□stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. Nephrol Dial Transplan 2003;18(7):1272-80.
18. Wang Y, Kuro□o M, Sun Z. Klotho gene delivery suppresses Nox2 expression and attenuates oxidative stress in rat aortic smooth muscle cells

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

via the cAMP□PKA pathway. Aging cell 2012;11(3):410-7.

19. Nagai T, Yamada K, Kim H-C, Kim Y-S, Noda Y, Imura A, et al. Cognition impairment in the genetic model of aging klotho gene mutant mice: a role of oxidative stress. FASEB J 2003;17(1):50-2.
20. Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, Gurnani P, Nandi A, Kurosu H, et al. Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone klotho. J Biolo Chemis 2005;280(45):38029-34.
21. Mitobe M, Yoshida T, Sugiura H, Shirota S, Tsuchiya K, Nihei H. Oxidative stress decreases klotho expression in a mouse kidney cell line. Nephron Exp Nephrol 2005;101(2):e67-e74.
22. Ateşşahin A, Çeribaşı AO, Yılmaz S. Lycopene, a Carotenoid, Attenuates Cyclosporine□Induced Renal Dysfunction and Oxidative Stress in Rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2007;100(6):372-6.
23. Galletti P, Di Gennaro CI, Migliardi V, Indaco S, Della Ragione F, Manna C, et al. Diverse effects of natural antioxidants on cyclosporin cytotoxicity in rat renal tubular cells. Nephrol Dial Transplan 2005;20(8):1551-8.
24. Schmitz V, Klawitter J, Bendrick-Peart J, Schoening W, Puhl G, Haschke M, et al. Metabolic profiles in urine reflect nephrotoxicity of sirolimus and cyclosporine following rat kidney Transplan. Nephron Exp Nephrol 2009;111(4):e80-e91.
25. Han DH, Piao SG, Song J-H, Ghee JY, Hwang HS, Choi BS, et al. Effect of sirolimus on calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity using renal expression of KLOTHO, an antiaging gene. Transplan 2010;90(2):135-41.
26. Yoon HE, Ghee JY, Piao S, Song J-H, Han DH, Kim S, et al. Angiotensin II blockade upregulates the expression of Klotho, the anti-ageing gene, in an experimental model of chronic cyclosporine nephropathy. Nephrol Dial Transplan 2011;26(3):800-13.
27. Ho LT, Sprague SM. Renal osteodystrophy in chronic renal failure. Seminars in nephrology; 2002: New York, NY: Grune & Stratton; 2002. p. 488-93.
28. Argani H, Ghorbanihaghjo A, Panahi G, Rashtchizadeh N, Safa J, Meimand SM. Serum Fetuin-A and Pentraxin3 in hemodialysis and renal transplant patients. Clin Biochemis 2012;45(10):775-9.
29. Olauson H, Lindberg K, Amin R, Sato T, Jia T, Goetz R, et al. Parathyroid-specific deletion of Klotho unravels a novel calcineurin-dependent FGF23 signaling pathway that regulates PTH secretion. PLoS genetics 2013;9(12):e1003975.
30. Torres P-U, Prie D ,Molina-Bletry V, Beck L, Silve C, Friedlander G. Klotho: an antiaging protein involved in mineral and vitamin D metabolism. Kidney Int 2007;71(8):730-7.
31. Forster RE, Jurutka PW, Hsieh J-C, Haussler CA, Lowmiller CL, Kaneko I, et al. Vitamin D receptor controls expression of the anti-aging klotho gene in mouse and human renal cells. Biochem Biophys Res Commun 2011;414(3):557-62.
32. Hryszko T, Rydzewska-Rosolowska A, Gozdzikiewicz J, Brzosko S, Koc-Zorawska E, Zelazowska-Rutkowska B, et al. Cholecalciferol supplementation reduces soluble Klotho concentration in hemodialysis patients. Pol Arch Med Wewn 2013;123:277-81.
33. Kume-Kick J, Ferris DC, Russo-Menna I, Rice ME. Enhanced oxidative stress in female rat brain after gonadectomy. Brain Res 1996;738(1):8-14.
34. Barp J, Araújo ASdR, Fernandes TRG, Rigatto KV, Llesuy S, Belló-Klein A, et al. Myocardial antioxidant and oxidative stress changes due to sex hormones. Brazilian J Med Biolo Res 2002;35(9):1075-81.
35. Razmara A, Duckles SP, Krause DN, Procaccio V. Estrogen suppresses brain mitochondrial oxidative

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

stress in female and male rats. Brain Res 2007;1176:71-81.

36. Nadeem A, Chhabra SK, Masood A, Raj HG. Increased oxidative stress and altered levels of antioxidants in asthma. J Allergy Clin Immunol 2003;111(1):72-8.
37. Pedersen L, Pedersen SM, Brasen CL, Rasmussen LM. Soluble serum Klotho levels in healthy subjects. Comparison of two different immunoassays. Clin Biochemis 2013;46(12):1079-83.
38. Semba RD, Cappola AR, Sun K, Bandinelli S, Dalal M, Crasto C, et al. Plasma klotho and cardiovascular disease in adults. J Am Geriatrics Soc 2011;59(9):1596-601.
39. Yamazaki Y, Imura A, Urakawa I, Shimada T, Murakami J, Aono Y, et al. Establishment of sandwich ELISA for soluble alpha-Klotho measurement: Age-dependent change of soluble alpha-Klotho levels in healthy subjects. Biochem Biophys Res Commun 2010;398(3):513-8.

Hu MC, Kuro-o M, Moe OW. Klotho and Chronic Kidney Disease. Contrib Nephrol 2013;180:47–63.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

Original Article

EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF KLOTHO IN HEMODIALYSIS PATIENTS AND RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS

Teimour Ghazizadeh[1], Amir Ghorbani Haghjo[2], Hassan Argani[3], Sina Raeisi[4] , Javid Safa[5], Javad Aliasgari[6], Nadereh Rashtchizadeh[7]*

Received: 16 Aug , 2015; Accepted: 22 Oct , 2015

Abstract

***Background & Aims*:** The aim of this study was to evaluate serum levels of antioxidant property Klotho by examining 8-hydroxy-2'- deoxyguanosine (8-OHdG), as a marker of oxidative damage in nucleic acids in patients with hemodialysis and kidney transplantation.

***Materials & Methods*:** Serum samples from 45 patients undergoing hemodialysis and 45 patients with stable renal transplant recipients were collected. Klotho levels, 8OHdG, iPTH and vitamin D (25 (OH) D) were measured using standard methods.

***Results*:** Klotho level in hemodialysis patients was significantly higher ($p \leq 0.001$). Considering the serum levels (8-OHdG), there was no significant difference between the two groups ($p=0.242$). Serum parathyroid hormone levels in hemodialysis patients was significantly higher while the correlation between serum levels of iPTH and Klotho in none of the two groups were observed.

Conclusion: It seems that high levels of Klotho in hemodialysis patients is a secondary response to high levels of parathyroid hormone, or just due to the use of immunosuppressive drugs in renal transplant recipients.

Keywords: 8-hydroxy-2'- deoxyguanosine, Klotho, Hemodialysis patients, Renal transplant recipients

Address: Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
Tel: +98 4133363234
Email: ghorbaniamir@hotmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2015: 26(9): 753 ISSN: 1027-3727

[1] MSc Student in Clinical Biochemistry, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran (Corresponding Author)
[2] Professor in Clinical Biochemistry, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[3] Professor in Nephrology, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[4] Resident in Clinical Biochemistry, Division of Clinical Laboratory, Children's Hospital, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[5] Associate Professor in Nephrology, Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[6] Nephrologists, Department of Urology, Shahid Modarres Hospital, Urology and Nephrology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[7] Professor in Clinical Biochemistry, Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]