

## ارزیابی سطح سرمی پاسخ های Th1 و Th2 در بیماران مبتلا به مراحل مختلف بیماری مزمن کلیه

علیرضا رفیعی (M.D.) \* عطیه مخلوق (M.D.)<sup>+</sup> صادق هاشمی نسب (M.D.)<sup>\*\*\*</sup>  
عارف حسینیان امیری (M.D.)<sup>\*\*\*\*</sup> فرشیده عابدیان (M.Sc.)<sup>\*\*\*\*\*</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** اختلالات سیستم ایمنی یکی از مشکلات اساسی بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیه (CKD) می باشد که ناشی از عملکرد نامناسب کلیه ها و انباشت توکسین های اورمیک (Uremic toxins) در این بیماران است. سلول های T کمکی نوع Th1 و Th2، الگوی سیتوکاینی (Cytokine) خاص تولید می نمایند که بر اساس آن می توان نوع پاسخ های ایمنی را مشخص کرد. هدف از مطالعه حاضر تعیین سطح سیتوکاین های IFN- $\gamma$  و IL-13 در بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیه می باشد. ارتباط بین سطح سرمی IFN- $\gamma$  و IL-13 با تظاهرات بالینی بیماری نیز مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه مورد-شاهدی تعداد ۳۰ بیمار مبتلا به بیماری مزمن کلیه تحت همودیالیز (HD)، ۳۰ بیمار مبتلا به نارسایی مزمن کلیه (CRF) بدون نیاز به همودیالیز و ۶۰ فرد سالم مورد بررسی قرار گرفتند. عملکرد کلیه با اندازه گیری کراتینین سرم، اوره و آلبومین ارزیابی شد. سطح سرمی مولکول های IL-13 و IFN- $\gamma$  با روش ELISA ساندویچی اندازه گیری شد.

**یافته ها:** یافته های این مطالعه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح پلاسمایی IL-13 و IFN- $\gamma$  بین بیماران و افراد سالم می باشد. به طوری که سطح پلاسمایی IL-13 در بیماران همودیالیزی نسبت به افراد کنترل و بیماران CRF افزایش معنی دار نشان داد ( $P=0/001$ ). غلظت پلاسمایی IL-13 در بیماران همودیالیزی، CRF و افراد شاهد به ترتیب  $13/7 \pm 3/9$  pg/ml،  $4/5 \pm 3/3$  و  $7 \pm 3/4$  بود در حالی که سطح سرمی IFN- $\gamma$  در بیماران CRF به طور معنی داری بیشتر از بیماران تحت همودیالیز و افراد سالم می باشد (به ترتیب  $38/8 \pm 18/8$ ،  $17/4 \pm 8/78$ ،  $12/5 \pm 8/9$  pg/ml). حال آن که بین بیماران دیالیزی و افراد سالم اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P < 0/05$ ). همچنین سطح سرمی IL-13 ارتباط مستقیمی با دوره دیالیز نشان داد ( $P=0/03$ ،  $r=0/4$ ).

**استنتاج:** در بیماران مبتلا به مراحل نهایی بیماری مزمن کلیه تحت همودیالیز تناسب پاسخ های Th1/Th2 به سمت Th2 تمایل دارد که با افزایش غلظت پلاسمایی IL-13 و کاهش IFN- $\gamma$  مشخص می شود و بنابراین به نظر می رسد این عدم توازن پاسخ ها نقش به سزایی در بروز اختلالات سیستم ایمنی این بیماران داشته باشد.

**واژه های کلیدی:** بیماری مزمن کلیه، همودیالیز، IL-13، IFN- $\gamma$

E-mail : makhlogh@gmail.com

<sup>+</sup>مؤلف مسئول: دکتر عطیه مخلوق- ساری، بیمارستان امام خمینی، بخش داخلی، گروه نفرولوژی

\* دانشیار ایمونولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

\*\* استادیار نفرولوژی، گروه داخلی، بیمارستان امام خمینی، دانشکده پزشکی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

\*\*\* دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

\*\*\*\* متخصص داخلی، بیمارستان امام خمینی، دانشکده پزشکی ساری، استادیار دانشگاه علوم پزشکی مازندران

\*\*\*\*\* کارشناس ارشد ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی و میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۰/۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۶/۲/۷ تاریخ تصویب: ۸۷/۲/۱۸

## مقدمه

ترشح سیتوکاینی به دو دسته لئوسیت‌های T کمکی نوع یک (Th1) و لئوسیت‌های T کمکی نوع دو (Th2) تقسیم می‌نمایند. سلول‌های T کمکی نوع یک (Th1) سیتوکاین‌های اینترلوکین دو (IL-2)، اینترفرون گاما (IFN- $\gamma$ ) و فاکتور نکروز دهنده تومور بتا (TNF- $\beta$ ) را ترشح می‌نمایند که عمدتاً در ایمنی سلولی دخالت دارند. در حالی که سلول‌های Th2 قادر به تولید سیتوکاین‌های مختلف فعال‌سازی سلول B و واکنش‌های آلرژیک نقش دارند. این که آیا در مبتلایان به بیماری مزمن کلیه نقص فعالیت سلول‌های Th1 یا Th2 غالب است بخوبی مشخص نشده است؛ به همین علت در مطالعه اخیر وضعیت تولید IFN- $\gamma$  و IL-13 به ترتیب به عنوان نماینده پاسخ‌های Th1 و Th2 در مراحل مختلف بیماری مزمن کلیه ارزیابی شد.

## مواد و روش‌ها

## جمعیت تحت مطالعه

جمعیت مورد مطالعه شامل ۳۰ بیمار مبتلا به نارسایی مزمن کلیه تحت همودیالیز (۱۱ مرد و ۱۹ زن)، ۳۰ بیمار مبتلا به نارسایی مزمن کلیه (۱۵ مرد و ۱۵ زن) مراجعه کننده به بخش داخلی بیمارستان‌های امام خمینی و فاطمه زهرا (س) ساری و ۶۰ فرد سالم (۳۲ مرد و ۲۸ زن) می‌باشد که از نظر سن و جنس مشابه با بیماران بودند. هیچ یک از افراد تحت مطالعه مبتلا به عفونت‌های حاد، بیماری‌های خود ایمن، بیماری‌های قلبی و عروقی (نظیر انفارکتوس میوکارد) یا بدخیمی نبودند. افراد شاهد از افرادی انتخاب شدند که در مصاحبه و معاینات بالینی و آزمایشات معمول طبی سالم بوده و فاقد اختلالات کلیوی بودند. در تمام بیماران CRF سطح کراتینین سرم بیشتر از ۲ mg/dl بوده و تنها درمان‌های نگهدارنده

سیستم ایمنی در بیماران دیالیزی، پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال، دچار اختلالات متعددی می‌شود. علی‌رغم پیشرفت‌های شگرفی که در سال‌های اخیر برای درمان جایگزین کلیه نارسا صورت گرفته است ولی پیشرفت چندانی در بهبود وضعیت ایمنی بیماران اورمیک انجام نشده است. به طوری که شیوع زیاد عفونت‌های باکتریایی و ویروسی و همین‌طور سرطان‌ها موید ناکارآمدی سیستم ایمنی این بیماران می‌باشد (۱). مطالعات نشان می‌دهند که شیوع زیاد مرگ و میر، بویژه مرگ و میر با علت قلبی و عروقی، می‌تواند ناشی از وضعیت اورمی در این دسته از بیماران باشد که موجب اختلال در سیستم دفاعی آنها گشته است (۲). به طوری که اختلالات سیستم ایمنی ممکن است ناشی از وضعیت اورمیک بوده یا پیامد انجام دیالیز در این بیماران باشد (۳،۴). هرچند مکانیسم دقیق بروز این اختلالات سیستم ایمنی به خوبی مشخص نشده است (۴)، برخی مطالعات اختلال عملکرد نوتروفیل‌ها، کاهش تعداد لئوسیت‌های CD4 به CD8 و کاهش تعداد لئوسیت‌های B را در این بیماران گزارش نموده‌اند (۵).

بیماران اورمیک هم دچار سرکوب سیستم ایمنی می‌باشند که آنها را مستعد ابتلا به عفونت‌ها می‌نماید، و هم درحالتی از فعالیت مزمن سیستم ایمنی به سر می‌برند. فعالیت سیستم ایمنی در این بیماران شامل فعالیت مزمن لئوسیت‌های T و مونوسیت‌ها می‌شود (۶). در بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیه فعالیت سلول‌های T، بسته به نوع آن، منجر به تولید سیتوکاین‌های<sup>۱</sup> پیش التهابی و ضد التهابی می‌گردد. مطالعات نشان می‌دهند در بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیه فراوانی آپوپتوز سلول‌های پلی مورفونوکلر و تک هسته‌ای از جمله لئوسیت‌ها، زیاد می‌باشد (۷).

لئوسیت‌های T کمکی (Th) را براساس الگوی

1. Cytokine

Tukey-Kramer test استفاده شد. برای تعیین همبستگی بین متغیرها از رگرسیون خطی پیرسون استفاده گردید. اختلافات بیشتر از ۹۵ درصد دامنه اطمینان در تمام آزمایشات با مقدار  $P < 0.05$  از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

## یافته ها

در این مطالعه ۳۰ بیمار مبتلا به نارسایی مزمن کلیه تحت همودیالیز، ۳۰ بیمار مبتلا به نارسایی مزمن کلیه و ۶۰ فرد بالغ سالم مورد ارزیابی قرار گرفتند. میانگین سن بیماران دیالیزی، بیماران CRF و افراد شاهد به ترتیب  $58/13 \pm 13/5$ ،  $53/67 \pm 15/4$  و  $51/03 \pm 13/03$  سال می باشد. تمامی جمعیت مورد مطالعه دارای نتیجه منفی در آزمایش CRP<sup>۱</sup> بودند. خصوصیات بالینی افراد تحت مطالعه در جدول شماره ۱ آورده شده است. در تمام بیماران غلظت سرمی آلبومین و هماتوکریت کاهش در حالی که غلظت کراتینین به طور چشمگیری نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است.

### میزان تولید IL-13 و IFN- $\gamma$ در بیماران با نارسایی مزمن کلیه

میانگین تولید IL-13 در بیماران تحت همودیالیز، مبتلایان به CRF و افراد شاهد به ترتیب  $13/7 \pm 3/9$ ،  $3/4 \pm 6/7$  و  $4/5 \pm 3/3$  pg/ml می باشد. همان طور که در نمودار شماره ۱ دیده می شود، سطح سرمی IL-13 در بین گروه های تحت مطالعه متفاوت می باشد. به طوری که میزان تولید IL-13 در بیماران تحت همودیالیز به طور معنی داری از مبتلایان به نارسایی مزمن کلیه و افراد سالم بیشتر است (به ترتیب  $P = 0.001$  و  $P < 0.001$ ). غلظت IL-13 در بیماران CRF گرچه بیشتر از افراد سالم است ولی این اختلاف از نظر آماری معنی داری نمی باشد ( $P = 0.11$ ).

دریافت می نمودند. بیماران دیالیزی حداقل از ۶ ماه قبل از مطالعه تحت همودیالیز منظم ۲ تا ۳ بار در هفته قرار داشتند. دیالیز در این گروه به صورت خونی (همودیالیز) و با استفاده از سیستم مخزن مرکزی با غشاهای کوپرافان و محلول های استاندارد دیالیز انجام گردید. نحوه اجرای این تحقیق در کمیته منطقه ای اخلاق در پژوهش های علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران به تصویب رسیده است.

### نمونه گیری

نمونه های خون در افراد تحت همودیالیز نیم ساعت قبل از شروع اولین همودیالیز در هفته از طریق فیستول وریدی- شریانی اخذ گردید. سرم نمونه های خون این بیماران و سایر افراد تحت مطالعه بعد از سانتریفوژ با سرعت ۱۴۵۰g به مدت ۱۰ دقیقه به دست آمد و تا انجام آزمایشات در  $8^{\circ}\text{C}$ - نگهداری شد.

### اندازه گیری سطح سرمی IFN- $\gamma$ و IL-13

سطح سرمی IL-13 و IFN- $\gamma$  با استفاده از روش سنسجش ایمنی به کمک آنزیم (EIA)<sup>۱</sup> با استفاده از کیت های ELISA<sup>۲</sup> اختصاصی (Bender Medsystem Viena, Austria) و براساس دستورالعمل شرکت تولید کننده و با استفاده از دستگاه خواننده الیزا مدل ELX800 اندازه گیری شد. حد شناسایی این کیت ها برای IL-13 و IFN- $\gamma$  به ترتیب  $1/5$  pg/ml و  $1$  pg/ml بود. تمام نمونه به صورت دوتایی مورد سنسجش قرار گرفتند.

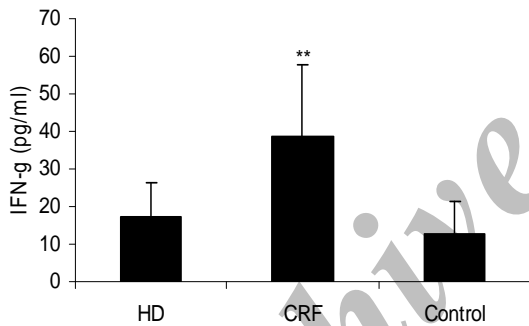
### آنالیز آماری

نتایج به صورت میانگین داده ها  $\pm$  انحراف معیار ارائه گردید و با نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۱ مورد ارزیابی قرار گرفت. برای مقایسه میانگین متغیرها در گروه های مورد مطالعه از آزمون ANOVA یک طرفه استفاده شد. برای تعیین اختلاف بین گروه ها از تست

1. electroimmunoassay  
2. enzyme-linked immuno-electro-diffusion assay  
3. C-reactive protein

جدول شماره ۱: خصوصیات بالینی بیماران تحت همودیالیز، مبتلایان به نارسایی مزمن کلیه و افراد سالم

P-value	کنترل سالم	نارسایی مزمن کلیه (CRF)	همودیالیز (HD)	
۰/۰۷	۵۱/۰۳±۱۳/۰۳	۵۳/۶۷±۱۵/۰۴	۵۸/۱۳±۱۳/۵	سن (سال)
۰/۳	۲۸/۳۲	۱۵/۱۵	۱۹/۱۱	جنس (مرد/زن)
۰/۰۰۱	۰/۸۲±۰/۱۲	۳/۸±۱/۷۴	۷/۱۵±۲/۷	کراتینین سرم (mg/ml)
۰/۰۳	۵/۸±۰/۲۴	۵/۱±۰/۷	۴/۳۷±۰/۷	آلبومین سرم (g/dl)
۰/۰۰۸	۳۵/۷±۷/۳	۱۱۴/۴۷±۵/۹	۱۱۵/۱±۳۲/۰۴	اوره (mg/dl)
۰/۰۴	۴۱/۸۵±۷/۵۷	۳۴/۵۱±۴/۴۱	۲۹/۴۸±۴/۸	هماتوکریت (%)
<۰/۰۰۱	۲۳/۸±۱۱/۶	۳۵/۹±۲۱/۹	۵۱/۸±۳۳/۵	ESR (mm/h)
۰/۴	۳/۱۴±۱/۳۳	۲/۱۸±۱/۰۷	۲/۰۳±۰/۸۲	لنفوسیت (× ۱۰ <sup>۳</sup> /ml)
۰/۲۵	۷/۱۵±۱/۳۹	۷/۹۵±۲/۴۷	۷/۱۷±۲/۱۴	گلبولهای سفید (× ۱۰ <sup>۳</sup> /ml)
-	-	-	۳۲/۶۳±۲۶/۱۳	دوره همودیالیز (ماه)
-	-	-	۳/۹۲±۰/۲۶	مدت همودیالیز (ساعت)
-	-	-	۲/۸۷±۰/۴۳	دفعات دیالیز در هفته



نمودار شماره ۲: سطح سرمی IFN- $\gamma$  در بیماران دیالیزی و مبتلایان به نارسایی مزمن کلیه و افراد سالم. این نمودار نشان دهنده افزایش معنی دار تولید IFN- $\gamma$  در بیماران CRF در مقایسه با بیماران تحت دیالیز و افراد شاهد می باشد (P=۰/۰۰۱).

### تاثیر دوره دیالیز بر سطح سرمی IFN- $\gamma$ و IL-13

به منظور ارزیابی تاثیر مدت دیالیز بر سطح خونی IFN- $\gamma$  و IL-13، بیماران همودیالیزی بر اساس دوره دیالیز به سه گروه طبقه بندی شدند. بیماران تحت همودیالیز کوتاه مدت (۴ نفر)، همودیالیز میان مدت (۲۰ نفر) و ۶ بیمار نیز تحت همودیالیز طولانی مدت (میانگین دوره دیالیز از آغاز همودیالیز در این سه گروه

سطح سرمی IFN- $\gamma$  در بیماران دیالیزی، مبتلایان به CRF و افراد شاهد به ترتیب  $۱۷/۴ \pm ۸/۷۸$ ،  $۳۸/۸ \pm ۱۸/۸$  و  $۱۲/۵ \pm ۸/۹$  پیکوگرم در میلی لیتر است. در بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیه میزان تولید IFN- $\gamma$  (نمودار شماره ۲) به طور چشمگیری بیشتر از بیماران دیالیزی و افراد شاهد است (P<۰/۰۰۰۱). در حالی که سطح سرمی این سیتوکاین بین افراد سالم و گروه بیماران دیالیزی اختلاف معنی داری نداشت (P=۰/۳۵۲).

نمودار شماره ۱: سطح سرمی IL-13 در بیماران دیالیزی و مبتلایان به نارسایی مزمن کلیه و افراد سالم. همان طور که دیده می شود میزان IL-13 در بیماران دیالیزی از بیماران CRF و افراد سالم بیشتر می باشد (P=۰/۰۰۱).

تحت همودیالیز و در گروه بیماران با نارسایی مزمن کلیه نیز اختلاف معنی داری مشاهده نشد (به ترتیب  $P=0/98$  و  $P=0/305$ ).

#### ارتباط بین غلظت پلاسمایی IL-13 و IFN- $\gamma$ با خصوصیات بالینی بیماران دیالیزی

به منظور مشخص نمودن عوامل تاثیر گذار در بروز اختلالات سیستم ایمنی بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیه تحت همودیالیز، ارتباط برخی از پارامترهای اساسی با غلظت پلاسمایی IL-13 و IFN- $\gamma$  با استفاده از رگرسیون خطی پیرسون بررسی شد. همان طور که در جدول شماره ۴ مشاهده می شود سطح سرمی IL-13 ارتباط معنی داری با مدت دیالیز ( $t=0/4$ ,  $P=0/035$ ) و به طور معکوس با هماتوکریت ( $t=0/4$ ,  $P=0/004$ ) دارد. اگرچه این ارتباط با شدت کمتر در بیماران مبتلا به CRF نیز مشاهده شد ( $t=0/38$ ,  $P=0/04$ ), بین سطح سرمی IFN- $\gamma$  و پارامترهای بالینی بیماران دیالیزی ارتباط قابل توجه مشاهده نشد.

به ترتیب:  $1/3 \pm 10/5$ ,  $7/7 \pm 23/9$  و  $26/9 \pm 76/5$  (ماه) قرار گرفتند. همان طور که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است، اختلاف معنی داری بین غلظت پلاسمایی این سیتوکاین ها با دوره انجام همودیالیز مشاهده نشد ( $P>0/05$ ).

#### تاثیر بیماری زمینه ای ابتلا به نارسایی مزمن کلیه بر غلظت سرمی IL-13 و IFN- $\gamma$

برای مشخص شدن ارتباط بین علل ابتلا به بیماری مزمن کلیه و سطح سرمی سیتوکاین های فوق، بیماران دیالیزی و CRF بر اساس علل زمینه ای ابتلا به نارسایی مزمن کلیه به سه زیر گروه ۱۰ تایی طبقه بندی شدند. غلظت سرمی IL-13 در هر گروه از بیماران بر اساس علل اولیه نارسایی مزمن کلیه مقایسه گردید. همان طور که در جدول شماره ۳ نشان آمده است، غلظت سرمی IL-13 در بیماران همودیالیزی و CRF با علت اولیه دیابت ملیتوس، فشار خون و سایر علل اختلاف معنی داری نداشت (به ترتیب  $P=0/11$ ,  $P=0/25$ ). مقایسه سطح سرمی IFN- $\gamma$  با توجه به بیماری زمینه ای در گروه بیماران

جدول شماره ۲: تاثیر دوره همودیالیز بر سطح سرمی IL-13 و IFN- $\gamma$ .

P-value	همودیالیز طولانی مدت ( $<48$ ماه)	همودیالیز میان مدت ( $48-120$ ماه)	همودیالیز کوتاه مدت ( $<12$ ماه)	دوره دیالیز	سیتوکاین
0/342	$17/42 \pm 1/62$	$13/15 \pm 3/41$	$11/02 \pm 5/64$		IL-13 (pg/ml)
0/403	$16/92 \pm 7/4$	$18/2 \pm 9/3$	$14/1 \pm 9/9$		IFN- $\gamma$ (pg/ml)

جدول شماره ۳: مقایسه سطح سرمی IL-13 و IFN- $\gamma$  در بیماران تحت همودیالیز و مبتلایان به نارسایی مزمن کلیه با توجه به علل زمینه ای ابتلاء

P-value	سایر علل	فشار خون	دیابت ملیتوس	علل زمینه ای	گروه
0/11	$14/1 \pm 4/82$	$15/4 \pm 2/54$	$11/73 \pm 3/5$		گروه تحت همودیالیز IL-13 (pg/ml)
0/25	$19/25 \pm 7/5$	$13/6 \pm 10/23$	$19/34 \pm 0/8$		IFN- $\gamma$ (pg/ml)
0/98	$6/8 \pm 3/4$	$6/5 \pm 3/8$	$6/85 \pm 3/5$		گروه CRF IL-13 (pg/ml)
0/305	$42/7 \pm 16/5$	$42/6 \pm 19/4$	$31/24 \pm 19/8$		IFN- $\gamma$ (pg/ml)

جدول شماره ۴: ارتباط بین سطح سرمی IL-13 و IFN- $\gamma$  با برخی از پارامترهای بالینی بیماران تحت همودیالیز

IFN- $\gamma$ (همبستگی یا r)	IL-13 (همبستگی یا r)	SD $\pm$ میانگین	
۰/۱	-۰/۰۹	۵۸/۱۳ $\pm$ ۱۳/۵	سن (سال)
-۰/۱۷	۰/۴ *	۳۲/۶۳ $\pm$ ۲۶/۱۳	مدت دیالیز (ماه)
-۰/۱۸	۰/۲۴	۷/۵ $\pm$ ۲/۷	کراتینین سرم (mg/ml)
-۰/۰۱	۰/۰۲۱	۴/۳۷ $\pm$ ۰/۷	آلبومین (g/dl)
-۰/۱۸	۰/۲	۱۱۵/۱ $\pm$ ۳۲/۰۴	اوره (mg/dl)
۰/۱۵۱	-۰/۴ **	۲۹/۴۸ $\pm$ ۴/۸	هماتوکریت (%)
۰/۲۷	-۰/۲۷	۲۳/۸ $\pm$ ۱۱/۶	ESR (mm/h)
۰/۳۴	۰/۲۴	۲/۰۳ $\pm$ ۰/۸۲	لنفوسیت ( $\times 10^3/ml$ )
۰/۱۸۳	۰/۰۸	۷/۱۷ $\pm$ ۲/۱۴	گلبولهای سفید ( $\times 10^3/ml$ )

\* و \*\* به ترتیب نشان دهنده ارتباط معنی دار در سطح  $P=0/035$ ،  $P=0/004$ .

## بحث

نشانگر افزایش نسبت لنفوسیت‌های Th2 به Th1 در این بیماران است. نتایج مطالعات قبلی در این باره متناقض می‌باشند، به طوری که برخی نشان داده‌اند بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیه عمدتاً پاسخ‌های نوع Th1 را نشان می‌دهند (۹)، در حالی که سایر مطالعات بیانگر غالبیت داشتن پاسخ‌های Th2 در این بیماران می‌باشد (۱۰، ۱۱). نتایج مطالعه ما نشان داد گرچه فعالیت مزمن سیستم ایمنی در بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیه دیده می‌شود ولی کینتیک پاسخ ایمنی در مراحل مختلف این بیماری متفاوت است. به طوری که در بیماران CRF بدون دیالیز افزایش غلظت پلاسمایی IFN- $\gamma$  همراه با کاهش سطح سرمی IL-13 نشان دهنده فعالیت بیشتر لنفوسیت‌های Th1 است و سپس با شدت گرفتن اورمی، پاسخ‌های ایمنی منجر به غلبه پاسخ‌های نوع Th2 در بیماران دیالیزی می‌شود که با کاهش شدید IFN- $\gamma$  همراه با افزایش سطح سرمی IL-13 مشخص می‌شود. سایر مطالعات نیز وجود التهاب مزمن را در نارسایی مزمن کلیه نشان داده‌اند (۱۲، ۱۳). به طوری که غلظت سیتوکاین‌های پیش التهابی نظیر TNF- $\alpha$ ، IL-6 و IL-18

در این مطالعه سطح سرمی سیتوکاین‌های IFN- $\gamma$  و IL-13 در بیماران مبتلا به مراحل مختلف بیماری مزمن کلیه (مبتلایان به اختلال مزمن کلیه و بیماران دیالیزی) مورد بررسی قرار گرفت تا بتوان مکانیسم‌هایی که منجر به اختلال پاسخ‌های دفاعی در این بیماران می‌شود را تعیین نمود. نتایج این مطالعه نشان داد که در بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیه نسبت به افراد شاهد، درصد زیادی از لنفوسیت‌ها فعال گشته‌اند، به طوری که درصد زیادی از این سلول‌ها به‌طور خود بخودی سیتوکاین‌های Th1 و Th2 را تولید نمودند که نتیجه فعالیت سلول‌های T در اثر وضعیت اورمی در این بیماران است. این یافته با مطالعات دیگر هم راستا می‌باشد که وجود حالتی از فعالیت مزمن سیستم ایمنی را در این بیماران نشان داده‌اند (۹).

در بیماران دیالیزی سطح سرمی IL-13 به مراتب بیشتر از بیماران CRF و افراد شاهد می‌باشد اگرچه غلظت پلاسمایی این مولکول در مبتلایان به نارسایی مزمن کلیه نسبت به افراد شاهد بیشتر می‌باشد ولی این تفاوت از نظر آماری معنی‌داری نبود. افزایش تولید IL-13 و کاهش غلظت پلاسمایی IFN- $\gamma$  در بیماران دیالیزی

آپوپتوز است که با بیان کم ژن ضد آپوپتوزی BCL2 و افزایش آپوپتوز از مسیر واکنش Fas و لیگاند Fas بروز می کند (۱۷). بنابراین غلبه پاسخ های Th2 نسبت به Th1 در اثر شرایط اورمی این بیماران منجر به التهاب مزمنی می گردد که باعث افزایش لنفوسیت های غالب (لنفوسیت های Th2) می شود که به افزایش تولید IL-13 می انجامد. این یافته با نتایج سایر محققین هم راستا می باشد که نشان دادند افزایش سطح سرمی CD30 می تواند شاخصی برای پیش بینی میزان رد پیوند کلیه باشد (۱۸).

شیوع زیاد سرطان و توبرکلوزیس در طی مرحله اولیه همودیالیز ناشی از وضعیت نامناسب تغذیه و کاهش شدید ایمنی سلولی در این بیماران است (۱۹) که عمدتاً ناشی از قسطیت یافتن پاسخ های Th2 در این مرحله است ولی با انجام درمان بتدریج توازن Th1 به Th2 به طور نسبی برقرار می گردد (۲۰). در این مطالعه ارتباطی بین سطح سرمی IL-13 و IFN- $\gamma$  با دوره بیماری مشاهده نشد، شاید کمی تعداد بیماران تحت همودیالیز کوتاه مدت و طولانی مدت عامل اصلی محدودکننده در این زمینه باشد. به طوری که بیماران تحت همودیالیز کوتاه مدت یا طولانی مدت تنها درصد بسیار کمی از بیماران دیالیزی را شامل می شدند.

در مجموع، می توان گفت که در بیماران مبتلا به مراحل نهایی بیماری مزمن کلیه تحت همودیالیز توازن پاسخ های Th1/Th2 به سمت Th2 تمایل می یابد که با کاهش سطح سرمی IFN- $\gamma$  و افزایش سطح IL-13 مشخص می شود. به نظر می رسد این عدم توازن نقش به سزایی در بروز اختلالات سیستم ایمنی این بیماران داشته باشد.

## سپاسگزاری

این مقاله حاصل نتایج پایان نامه ی صادق هاشمی نصب دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران می باشد.

در بیماران CRF بیشتر از افراد سالم گزارش شده است (۱۴). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سطح سرمی IL-13 در بیماران تحت همودیالیز به مراتب بیشتر از بیماران مبتلا به CRF و افراد سالم می باشد. همچنین غلظت این مولکول در سرم بیماران CRF تقریباً بیشتر از افراد سالم دیده شد. این یافته نشان می دهد میزان تولید IL-13 که موید فعالیت سلول های Th2 می باشد، یک پدیده مرتبط با دوره بیماری است؛ به طوری که سطح سرمی این سیتوکاین در بیماران مبتلا به CRF که کلیرانس کلیه بالاتر از ۱۰ میلی لیتر در دقیقه داشته اند از افراد شاهد بیشتر می باشد. این گرایش افزایشی در تولید IL-13 در بیماران تحت دیالیز بخوبی وجود ارتباط مستقیم معنی دار بین سطح سرمی این سیتوکاین و دوره دیالیز را نشان داد. همچنین وجود ارتباط معکوس بین سطح سرمی IL-13 و هماتوکریت در مطالعه ما با یافته های سایر محققین هماهنگ می باشد که نشان داده اند در بیماران دیالیزی که پاسخ مطلوبی به درمان با اریتروپویتین نداشتند سطح سیتوکاین های ضد التهابی نظیر IL-10 بالا می باشد (۱۵، ۶).

بنابراین می توان تصور نمود که فعال شدن مزمن سلول های T و مونوسیت های بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیه در اثر وضعیت اورمی حاکم در این بیماری که در ابتدا با تولید سیتوکاین های نوع Th1 نظیر IFN- $\gamma$  همراه است خود به طور پیش رونده منجر به سنتز و آزاد شدن رسپتورها و سیتوکاین های نوع Th2 می گردد که بیانگر قسطیت یافتن پاسخ های نوع Th2 در مراحل نهایی نارسایی مزمن کلیه است.

Alvarez-lara و همکاران (۲۰۰۴) نشان داده اند نسبت لنفوسیت های Th1 در مقایسه با سلول های Th2 در بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیه (CKD) کاهش می یابد (۱۶). کاهش تعداد سلول های Th1 ناشی از افزایش حساسیت لنفوسیت های Th1 این بیماران به فرآیند

## References

1. Bloembergen WE, Port FK. Epidemiological perspective on infections in chronic dialysis patients. *Adv Renal Replace Th* 1996; 3(3): 201-207.
2. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergström J. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). *Nephrol Dial Transpl* 2001; 15(7): 953-960.
3. Beaurain G, Naret C, Marcon L, Grateau G, Drüeke T, Urena P, Nelson DL, Bach JF, Chatenoud L: In vivo T cell preactivation in chronic uremic hemodialyzed and non-hemodialyzed patients. *Kidney Int* 1989; 36(4): 636-644.
4. Donati D, Degiannis D, Combates N, Raskova J, Raska K JR. Effects of hemodialysis on activation of lymphocytes: Analysis by an in vitro dialysis model. *J Am Soc Nephrol* 1992; 2(10): 1490-1497.
5. Cendroglo M, Jaber BL, Balakrishnan VS, Perianayagam M, King AJ, Pereira BJ. Neutrophil apoptosis and dysfunction in uremia. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10(1): 93-100.
6. Macdougall IC. Could anti-inflammatory cytokine therapy improve poor treatment outcomes in dialysis patients?. *Nephrol Dial Transpl* 2004; 19 [Suppl]: v73-78.
7. Martí n-Malo A, Carracedo J, Ramí rez R et al. Effect of uremia and dialysis m
- odality on mononuclear cell apoptosis. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11(15): 936-942.
8. Mosmann T.R., Sad S. The expanding universe of T cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996; 17(3): 138-146.
9. Sester U, Sester M, Hauk M, Kaul H, Kö hler H, Girndt M. T-cell activation follows Th1 rather than Th2 pattern in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transpl* 2000; 15(8): 1217-1223.
10. Libetta C, Rampino T, Dal Canton A. Polarisation of T-helper lymphocytes toward the Th2 phenotype in uremic patients. *Am J Kidney Dis* 2001; 38(2): 286-295.
11. Yokoyama T, Nitta K, Futatsuyama K et al. Identification of T helper cell subsets in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Nephron* 2001; 89(2): 215-218.
12. Knerr K, Futh R, Hensen P, Mohne W, Heinig A, Kleophas W, Scherbaum WA, Martin S. Chronic inflammation and hemodialysis reduce immune competence of peripheral blood leukocytes in end-stage renal failure patients. *Cytokine* 2005; 30(3): 132-138.
13. Amore A, Coppo R. Immunological basis of inflammation in dialysis. *Nephrol Dial Transpl* 2002; 17(Suppl. 8): 16-24.
14. Chiang CK, Hsu SP, Pai MF, Peng YS, Ho TI, Liu SH, Hung KY, Tsai TJ, Hsieh



- BS. Plasma interleukin-18 levels in chronic renal failure and continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Blood Purificat* 2005; 23(2): 144-148.
15. Macdougall IC. Could anti-inflammatory cytokine therapy improve poor treatment outcomes in dialysis patients?. *Nephrol Dial Transpl* 2004; 19 [suppl 5]:v73-v78.
16. Alvarez-Lara MA, Carracedo J, Ramirez R, Martin-Malo A, Rodriguez M, Madueno JA, Aljama P. The imbalance in the ratio of Th1 and Th2 helper lymphocytes in uraemia is mediated by an increased apoptosis of Th1 subset. *Nephrol Dial Transpl* 2004; 19(12): 3084-3090.
17. Meier P, Spertini F, Blanc E, Burnier M. Oxidized low-density lipoproteins activate CD4+ T cell apoptosis in patients with end-stage renal disease through Fas engagement. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(1): 331-342.
18. Wang D, Wu GJ, Wu WZ, Yang SL, Chen JH, Wang H, Lin WH, Wang QH, Zeng ZX, Tan JM. Pre- and post-transplant monitoring of soluble CD30 levels as predictor of acute renal allograft rejection. *Transpl Immunol* 2007; 17(4): 278-282.
19. Maisonneuve P, Agodoa L, Gellert R, Stewart JH, Buccianti G, Lowenfels AB, Wolfe RA, Jones E, Disney APS, Briggs D, McCredie M, Boyle P: Cancer in patients on dialysis for endstage renal disease: An international collaborative study. *Lancet* 1999; 354(9173): 93-99.
20. Rysz J, Banach M, Cialkowska-Rysz A, Stolarek R, Barylski M, Drozd J, Okonski P. Blood Serum Levels of IL-2, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in Patients on Maintenance Hemodialysis. *Cell Mol Immunol* 2006; 3(2): 151-154.