

## مقایسه سطح سرمی اریتروپوئین بیماران دیابتی نوع ۱ غیر آنمیک با و بدون میکروآلبومینوری با افراد سالم

زهرا پورنقشبند<sup>۱</sup>، اسفندیار حیدریان<sup>۲\*</sup>، شیرین اعظم پناه<sup>۱</sup>، تاج الملوک امامی<sup>۱</sup>، پیوند امینی<sup>۱</sup>، مسعود امینی<sup>۱</sup>

### چکیده

**مقدمه:** هم اکنون دیابت مهمترین عامل ایجاد آسیب کلیوی، بیماری‌های قلبی - عروقی و مرگ و میر در بیماران دیابتی می‌باشد. این بیماران از خطر بالا برای ابتلای به کم خونی برخوردار هستند. یکی از عوامل ایجاد کم خونی، کاهش سطح اریتروپوئین (Epo) در این بیماران است. مطالعات جامعی پیرامون تغییرات سطح سرمی Epo در طی مراحل بیماری دیابت نوع ۱ غیر آنمیک صورت نگرفته است. لذا هدف از این تحقیق بررسی و مقایسه سطح اریتروپوئین در بیماران دیابتی نوع ۱ غیر آنمیک با و بدون میکروآلبومینوری و افراد سالم بود.

**روش‌ها:** این مطالعه به صورت مقطعی و به روش نمونه‌گیری آسان بر روی ۴۷ بیمار دیابتی نوع ۱ (شامل ۲۳ نفر دارای آلبومینوری و ۲۴ نفر بدون آلبومینوری) و ۲۵ فرد سالم انجام گرفت. Epo به روش رادیو ایمنواسی و هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (Hct)، کراتینین (Cr)، BUN و آلبومین ادرار با دستگاه اتوآنالیزور تعیین مقدار شدند.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که سطح سرمی Epo بطور معنی‌داری در بیماران دیابتی با و بدون میکروآلبومینوری نسبت به افراد شاهد افزایش یافته بود ( $P < 0/05$ ). هر چند در گروه دیابتی بدون میکروآلبومینوری سطح سرمی Epo نسبت به گروه با میکروآلبومینوری بالاتر بود ولی تفاوت مشاهده شده معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ).  
**نتیجه‌گیری:** در بیماران دیابتی نوع ۱ غیر آنمیک با و بدون میکروآلبومینوری، یک افزایش اولیه Epo نسبت به افراد سالم رخ می‌دهد.

**واژگان کلیدی:** اریتروپوئین، دیابت نوع ۱، میکروآلبومینوری، نفروپاتی دیابتی، آنمی

۱- مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۲- گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

\* **نشانی:** اصفهان، خیابان خرم، بیمارستان حضرت صدیقه طاهره، طبقه همکف - مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم اصفهان،

آزمایشگاه بخش دیابت، تلفن: ۰۳۱۱-۳۳۵۹۹۳۳، فاکس: ۰۳۱۱-۳۳۷۳۷۳۳، پست الکترونیک: heidarian46@yahoo.com

## مقدمه

دیابت، مهمترین عامل آسیب کلیوی در کشورهای غربی و عاملی برای بروز بیماری‌های قلبی عروقی و مرگ و میر است [۲،۱]. بیماران دیابتی نفروپاتیک، آنمی شدیدتری را به سبب آسیب کلیوی نسبت به مبتلایان به سایر بیماری‌های مزمن نشان می‌دهند [۳ و ۴]. تاکنون چندین عامل ایجاد کننده آنمی در افراد دیابتی شناخته شده‌اند که یکی از آنها اریتروپوئین (Epo) است [۵]. Epo یک هورمون گلیکوپروتئینی و یکی از اعضای کلاس I سیتوکین‌ها با وزن مولکولی ۳۰/۴ kDa می‌باشد [۶،۷]. این هورمون در دوران جنینی توسط هیپوتوسیت‌ها و بعد از تولد به طور عمده توسط سلول‌های شبه فیبروبلاست پره توپولار واقع در کورتکس کلیه‌ها سنتز می‌شود [۸]. در اغلب مطالعات انجام شده، بیشترین عامل خطر مطرح مرتبط با شروع و توسعه آنمی در افراد دیابتی را بیماری‌های کلیوی دانسته‌اند که شامل بدی عملکرد کلیه‌ها و یا آلبومینوری می‌شود [۹] و به همین دلیل امروزه شناسایی عواملی که منجر به ممانعت یا کاهش پیشرفت نفروپاتی دیابتی و همچنین عواملی که باعث افزایش بهبودی نفروپاتی بیماران دیابتی می‌گردند، از دیدگاه بالینی مهم است [۵]. پیشرفت بیماری کلیوی در بیماران دیابتی به آرامی و طی یک مجموعه مراحل چندین ساله رخ می‌دهد [۱۰] و علامت اولین مرحله بالینی آن میکروآلبومینوری می‌باشد و ممکن است چندین سال قبل از وقوع نفروپاتی طول بکشد [۱۱]. اکثر مطالعات بیماری کلیوی را عامل کاهش Epo و علتی برای آنمی در بیماران دیابتی نوع ۱ و ۲ اعلام کرده‌اند [۹،۱۰]. با توجه به این که وجود آنمی یک عامل تحریک کننده جهت ترشح Epo می‌باشد، لذا در این مطالعه بیماران دیابتی نوع ۱ غیر آنمیک مورد بررسی قرار گرفتند و هدف از این مطالعه نیز مقایسه سطح سرمی Epo در بیماران دیابتی نوع ۱ غیر آنمیک تازه مبتلا شده به میکروآلبومینوری با بیماران دیابتی نوع ۱ غیر آنمیک بدون میکروآلبومینوری و افراد سالم می‌باشد.

## روش‌ها

این مطالعه به صورت مقطعی و با روش نمونه‌گیری آسان بر روی ۴۷ بیمار تازه مبتلا شده به دیابت نوع ۱ در محدوده سنی ۱۰ تا ۲۰ سال شامل ۲۳ نفر آلبومینوری و ۲۴ نفر بدون آلبومینوری دیابتی و ۲۵ نفر شاهد انجام شد. بیماران دیابتی از مراجعین بخش دیابت مرکز غدد و متابولیسم اصفهان بودند. معیارهای ورود به مطالعه شامل بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ غیر آنمیک با یا بدون میکروآلبومینوری و عدم وجود علائم کلینیکی و پاراکلینیکی نفروپاتی بود (آزمایش‌های Hb و MCV برای تشخیص وضعیت آنمی و آزمایش‌های BUN، Cr و میکروآلبومینوری برای تشخیص وضعیت کلیوی انجام گرفت). گروه شاهد از میان افرادی انتخاب شدند که از لحاظ علائم کلینیکی و پاراکلینیکی مذکور سالم و فاقد هرگونه علائم بیماری دیابت نوع ۱ بودند. از کلیه افراد نمونه‌گیری خون بعمل آمد و آزمایش‌های (Epo به روش رادیو ایمنوآسی با کیت شرکت DRG)، آلبومین ادرار، BUN و Cr با دستگاه اتوآنالایزر (مدل Liasys ساخت ایتالیا) و Hb و هماتوکریت (با دستگاه Sysmax مدل K ۱۰۰۰) انجام گرفت. جهت بررسی پارامترهای آزمایش شده در هر سه گروه از نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۳) و آزمون ANOVA و آزمون‌های تعقیبی Post Hoc جهت مقایسه و بررسی سطح سرمی Epo با وضعیت آلبومینوری، Hb، Cr، BUN و هماتوکریت استفاده گردید. کلیه مقادیر برحسب Mean  $\pm$  SD محاسبه گردید و P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

در جدول ۱ نتایج مربوط به مقایسه سطح سرمی Epo در بیماران دیابتی نوع ۱ با و بدون میکروآلبومینوری و شاهد ارائه شده‌اند. نتایج حاکی از اختلاف معنی‌دار در سطح سرمی Epo بین گروه‌ها می‌باشد ( $P < ۰/۰۵$ ). علاوه بر این در گروه دیابتی مبتلا به میکروآلبومینوری، سطح سرمی Epo نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود ( $P < ۰/۰۵$ ) ولی در مقایسه با گروه بدون میکروآلبومینوری معنی‌دار

نمود ( $P > 0/05$ ). در مقایسه سایر پارامترهای Hb ، Hct ،  
 BUN و Cr در گروه‌های مذکور اختلاف معنی‌داری  
 مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). ولی برای Cr در گروه‌های

دیابتی بدون میکروآلبومینوری و شاهد اختلاف معنی  
 داری مشاهده شد ( $P < 0/05$ ).

جدول ۱- مقایسه شاخص‌های سرمی و ادراری سه گروه مورد مطالعه

شاهد	گروه دیابتی مبتلا به میکروآلبومینوری	گروه دیابتی بدون میکروآلبومینوری	تعداد نمونه
۲۵	۲۳	۲۴	اریتروپوئیتین (mU/ml)
$12/3 \pm 4$	$20/53 \pm 13/2^{\ddagger}$	$22/6 \pm 13/4^{\ddagger}$	آلبومین ادرار (mg/L)
$21/8 \pm 5/2$	$45/3 \pm 18/6^{\ddagger}$	$19/2 \pm 5/5$	هموگلوبین (g/100)
$13/8 \pm 1/7$	$13/9 \pm 1/7$	$14/2 \pm 1/3$	هماتوکریت (%)
$41/9 \pm 4/1$	$41/3 \pm 4/3$	$41/9 \pm 3/7$	BUN (mg/dl)
$28/5 \pm 4/7$	$27/7 \pm 5/6$	$28/7 \pm 4$	Cr (mg/dl)
$0/96 \pm 0/17$	$0/9 \pm 0/17$	$0/8 \pm 0/12^{\ddagger}$	

\*مقادیر بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند.

$\ddagger$  بین گروه‌های دیابتی مبتلا به میکروآلبومینوری و شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/05$ ).

$\ddagger$  بین گروه‌های دیابتی بدون میکروآلبومینوری و شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/05$ ).

n=۴۷ نفر در گروه دیابتی

n=۲۵ نفر در گروه شاهد

مطالعه به روش مورد-شاهد و مقطعی صورت گرفته و آزمون آماری مورد استفاده ANOVA بوده است.

## بحث

سطح پایین سرمی Epo یک ویژگی متعارف در بیماران دیابتی نوع ۲ می‌باشد [۱۲]. برخی مطالعاتی که میزان سطح سرمی Epo با آنمی دیابتی را بررسی کرده‌اند، کمبود ترشح Epo در افراد دیابتی را مهمترین علت بروز آنمی معرفی کرده‌اند که همراه با نفروپاتی اتونومیک است [۱۲-۱۱]. مطالعات جامعی بر روی سطح سرمی Epo در افراد دیابتی نوع ۱ غیرآنمیک انجام نگرفته است ولی در این مطالعه مشخص شد که در افراد دیابتی نوع ۱ غیرآنمیک تازه مبتلا شده به میکروآلبومینوری یک افزایش سرمی Epo نسبت به افراد سالم مشاهده می‌شود که می‌بایستی با گذشت زمان و ایجاد نفروپاتی، سطح سرمی Epo کاهش و به دنبال آن ایجاد آنمی در این بیماران گردد. در رابطه با علت افزایش Epo در شروع عارضه میکروآلبومینوری بیماران دیابتی نوع ۱ غیرآنمیک می‌توان نکاتی را ذکر

کرد. Epo در حیوانات قادر است از بروز سکتة قلبی، مغزی، کلیوی جلوگیری کند به طوری که تزریق IU/kg ۵۰۰ - ۳۰۰ آن، باعث جلوگیری از نارسایی کلیه‌ها و آسیب به مورفولوژی کلیوی می‌شود و دلیل آن را به اثر محافظتی Epo در کاهش پدیده آپوپتوز سلولی نسبت می‌دهند [۱۵-۱۲]. در مطالعه دیگری که بر روی حیوانات پرخطر برای ابتلا به سکتة قلبی صورت گرفت، نشان داده شد که با تزریق Epo از پدیده مرگ سلولی در قسمت‌های میوکارد و در نتیجه بروز سکتة قلبی در آنها جلوگیری می‌شود [۱۶]. با توجه به وجود گیرنده‌های Epo در سلول‌های اندوتلیال، پانکراس و مغز [۱۶، ۱۲]، احتمالاً علت این افزایش اولیه Epo در افراد دیابتی نوع ۱ غیر آنمیک با و بدون میکروآلبومینوری نسبت به افراد سالم اینست که افراد دیابتی معمولاً بیشتر از سایر گروه‌ها در معرض سکتة هستند و احتمالاً این افزایش غلظت Epo در بیماران دیابتی غیرآنمیک نوعی واکنش اولیه در برابر

دفاعی اولیه بدن جهت حفاظت سیستم عصبی و شبکه‌ی از اثرات سوء جانبی استرس اکسیداسیون دیابتی می‌باشد. بنابراین با توجه به مطالب ذکر شده، احتمالاً افزایش Epo در بیماران دیابتی نوع ۱ غیر آنمیک با و بدون میکروآلبومینوری نسبت به افراد سالم نوعی واکنش در برابر عوارض سوء دیابت نظیر آسیب‌های قلبی، کلیوی یا عصبی می‌باشد. لذا برای درک بیشتر اثرات افزایش اولیه Epo در بیماران دیابتی نوع ۱ غیر آنمیک، نیاز به تحقیقات بیشتری می‌باشد.

### سپاسگزاری

حمایت مالی این پژوهش توسط مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام پذیرفته است. از کلیه پرسنل محترم آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم حضرت صدیقه طاهره دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که در این پژوهش ما را یاری نمودند، تشکر می‌نماییم.

عوارض جانبی به ویژه احتمال بروز سکتته در این بیماری می‌باشد. دلیل دیگری که می‌توان پیشنهاد کرد این است که با توجه به این که بیماری دیابت با التهاب مزمن و تغییر تعادل میان اکسیداسیون و احیاء و در نتیجه افزایش سیتوکین‌های التهابی همراه است [۱۷]، بنابراین احتمالاً افزایش Epo در افراد دیابتی نوع ۱ غیر آنمیک با و بدون میکروآلبومینوری نوعی پاسخ دفاعی بدن جهت مقابله با تغییرات بوجود آمده و ترشح سیتوکین‌های التهابی بدن می‌باشد. دلیل دیگر برای افزایش اولیه Epo در افراد دیابتی نوع ۱ غیر آنمیک با و بدون میکروآلبومینوری این است که با توجه به این که Epo دارای اثرات حفاظتی قوی حفاظت عصبی در مغز و شبکه‌ی می‌باشد [۱۸، ۱۹] و افزایش mRNA اریتروپوئین در افراد دیابتی به عنوان پیامد یک واقعه اولیه در شبکه‌ی چشم بیان می‌شود [۲۰]. لذا احتمالاً افزایش Epo در افراد دیابتی نوع ۱ غیر آنمیک، نوعی واکنش

### مآخذ

- Xue JL, Ma JZ, Louis TA, Collins AJ. Forecast of the number of patient with end – stae renal disease in the united State to the year 2010. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2753-2758.
- Keith DS, Nichols GA, Gullion CM, Brown JB, Simith DH. Longitudinal flow – up and outcomes among a population with chronic kidney disease in a large managed care organization. *Arch Intern Med* 2004; 164: 659-663.
- Bosman DR, Winkler AS, Marsden JT, Macdougall IC, Watkins PJ. Anemia with erythropoietin deficiency occurs early in diabetic nephropathy. *Diabetes* 2001; 24: 495-499.
- Thomas MC, Macisaac RJ, Tsalamandris C, Power D, Jerums G; Unrecognized anemia in pateint with diabetes : a cross – sectional survey. *Diabetes* 2003; 26: 1164-1169.
- Craig KJ, Williams JD, Riley SG, Smith H, Owens DR, Worthing D, and et al. Anemia and diabetes in the absence of nephropathy. *Diabetes Care* 2005; 28: 1118-1123.
- Wen D, Biossel JP. Erythropoietin structure function relationships. *J Biol Chem* 1994; 269: 22839-22846.
- Doral MS. The role of charbohydrate in erythropoietin action. *Endocrinology* 1985; 116: 2293-2299.
- Maxwell PH, Ferguson DJP, Nichollas LG, Iredale JP, Pugh W, Johnson MH, et al. Sites of erythropoietin production. *Kidney Int* 1997; 51: 393-401.
- Yun YS, Lee HC, Yoo NC, Song YD, Lim SK, Kim KR, and et al. Reduced Epo responsiveness to anemia in diabetic patients before advanced diabetic nephropathy. *Diab Res Clin Prac* 1999; 46: 223-229.
- Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E. The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983; 32(2): 64-78.
- Thomas S, Ramperrad M. Anemia in diabetes. *Acta Diabetol* 2004; 41: S13-S17.
- Symeonidis A, Kourakis AS, Psiroyiannis A, Leotsinidis M, Kyriazopoulou V, Vassilakos P, et al. Inappropriately low erythropoietin response for the degree of anemia in patients with nonisulin – dependent diabetes mellitus. *Ann Hematol* 2005; 85: 79-85.
- Inomata S, Itoh M, Imai H, Sato T. Serum level of erythropoietin a novel market reflecting the severity of diabetic nephropathy. *Nephron* 1997; 75: 425-430.

14. Fink GD, Fisher JW. Erythropoietin production of ter renal denevation of beta adrenergic blockade. *Am Physiol* 1967; 230: 508-513.
15. Beynon G. The influence of the autonomic nervous system in the control of erythropoietin secretion in the hypoxic rat. *Physiol Lond* 1997; 266: 347-360.
16. Jelkmann W. Erythropoietin, structure, control of production and function. *Physiol Rev* 1992; 72: 449-489.
17. Nikolov V, Kalaydjieva V, Logofetov A. Plasma erythropoietin activity in diabetic patient, studied by determining th <sup>59</sup>Fe incorporation in posthypoxic polycythemice. *Acta Physiol Pharmacol Bulg* 1989; 15(4): 37-40.
18. Jelkmann W: Effects of erythropoietin on brain function. *Curr Pharm Biotechnol* 2005; 6; 65-79.
19. Becerra SP, Amaral J. Erythropoietin: an endogenous retinal survival factor. *N Engl J Med* 2002 : 347; 1968-1970.
20. Hernandez C, Fonoliosa A, Garcia M, Higurea M, Catalan R, Miralles A, et al. Erythropoietin is expressed in the human retina and it is highly elevated in the vitreous fluid of patients with diabetic macular edema. *Diabetes Care* 2006; 29: 2028-2033.

