

## ارتباط پروهپسیدین با شاخص‌های سرمی در بیماران همودیالیز مزمن: بررسی ۵۴ بیمار

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۸/۱۷

### چکیده

رزینا عباسی لرکی<sup>۱\*</sup>

سپیده سیفی<sup>۲</sup>

محبوب لسان پزشکی<sup>۲</sup>

۱- گروه داخلی، بیمارستان امام سجاد (ع)،

دانشکده پزشکی، یاسوج، ایران

۲- گروه نفرولوژی، بیمارستان امام خمینی (ره)،

دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

\* نویسنده مسئول: یاسوج، بیمارستان امام سجاد (ع)،

دانشکده پزشکی، گروه داخلی، تلفن: ۰۷۴۱-۲۳۳۹۳۳

email: kian1380@yahoo.com

**زمینه و هدف:** پروهپسیدین، یک پروتئین مشتق از کبد است، که اولین بار به دلیل خواص ضد میکروبی آن مورد توجه قرار گرفت. تنظیم بروز و تولید آن تحت تاثیر عواملی مانند بار آهن و التهاب می‌باشد. پروهپسیدین، یک پروتئین تنظیم‌کننده منفی تعادل آهن است که افزایش آن سبب کاهش جذب روده‌ای و مهار گردش مجدد آهن از سیستم رتیکولاندوتلیال می‌گردد، لذا افزایش هپسیدین می‌تواند باعث القاء کم‌خونی شود. با توجه به وجود کم‌خونی و التهاب مزمن در بیماران همودیالیز، این مطالعه در جهت روشن شدن نقش این پروتئین و ارتباطات آن با سایر فاکتورهای کم‌خونی و التهاب در این بیماران انجام شده است. **روش بررسی:** سطح پروهپسیدین و ارتباط آن با متغیرهای آزمایشگاهی مربوط به کم‌خونی و التهاب را در ۵۴ بیمار همودیالیز مزمن با ثبات بالینی بررسی کردیم. از دو هفته قبل از مطالعه آهن دریافتی بیماران قطع شد، سپس پروهپسیدین با روش ELISA همراه با سایر متغیرها (آهن سرم، فریتین، ظرفیت اشباع ترانسفرین، درصد اشباع ترانسفرین، هماتوکریت، آلبومین، تری گلیسرید، کلسترول، ESR، CRP) اندازه‌گیری شد. **یافته‌ها:** در حالی که متوسط سطح پروهپسیدین در بیماران ما بالاتر از متوسط تعیین شده توسط کیت مورد نظر بود، پروهپسیدین با آهن سرم، فریتین، ظرفیت اشباع ترانسفرین، درصد اشباع ترانسفرین، هماتوکریت، آلبومین، تری گلیسرید، کلسترول، ESR، CRP ارتباط معنی‌داری نداشت ( $p > 0.05$ ). **نتیجه‌گیری:** هر چند سطح پروهپسیدین در جمعیت مورد مطالعه ما بالاتر از میزان طبیعی بود، اما میزان پروهپسیدین نشان دهنده و پیش‌بینی‌کننده هماتوکریت، وضعیت آهن، شرایط التهابی در بیماران همودیالیز مزمن نبود.

**کلمات کلیدی:** پروهپسیدین، همودیالیز، ترانسفرین.

### مقدمه

ورزش، تنگی نفس و بیماری‌های قلبی-عروقی (هیپرتروفی و اختلال عملکرد بطن چپ) نقش مهمی دارد.<sup>۱</sup> از آنجایی که یکی از شایع‌ترین علل ناخوشی و مرگ و میر در این بیماران، بیماری‌های قلبی-عروقی است، لذا توجه خاصی به رابطه این دو شده است. به دلیل تاثیر اورمی از طریق مهار ساخت گلبول قرمز و همچنین وجود وضعیت التهابی مدام در بیماران همودیالیزی، کم‌خونی بیماری مزمن نقش پررنگی پیدا کرده است.<sup>۲,۳</sup> التهاب ایجاد شده در این بیماران سبب تولید یک‌سری سیتوکین‌های التهابی مانند IL6, TNF $\alpha$  می‌شود. سیتوکین‌ها به طور مستقیم فعالیت بیولوژیک اریتروپویتین را مختل کرده و بروز آن را در کلیه کاهش می‌دهند. اینترلوکین‌ها و لیپو پلی‌ساکاریدها منجر به افزایش تولید پروهپسیدین از کبد نیز می‌شوند.<sup>۴-۷</sup> زن هپسیدین (Hepcidin) بر روی کروموزوم ۱۹ قرار دارد

کم‌خونی (Anemia) در بیماران همودیالیز مزمن شایع می‌باشد. بر اساس معیارهای تشخیصی سازمان بهداشت جهانی از کم‌خونی (هموگلوبین کمتر از ۱۳gr/dl در مردان و زنان بعد از سن یائسگی و کمتر از ۱۲gr/dl در زنان قبل از سن یائسگی) نزدیک به ۹۰٪ بیماران با میزان فیلتراسیون گلوبولین کمتر از ۳۰-۲۵ میلی‌لیتر در دقیقه از کم‌خونی رنج می‌برند.<sup>۱</sup> پاتوژنز کم‌خونی در بیماران همودیالیز پیچیده است. شایع‌ترین علت آن کاهش تولید اریتروپویتین و سپس کاهش بقاء گلبول قرمز می‌باشد. عواملی مانند کمبود مواد اولیه (آهن، اسید فولیک، ویتامین B12 و غیره) التهاب، عفونت، خونریزی، مسمومیت با آلومینیوم، همولیز و هیپرپاراتیرویدی نیز مطرح هستند. کم‌خونی در این بیماران در ایجاد علائمی مانند خستگی، افسردگی، کاهش تحمل

ترکیبات آهن دریافتی بیماران قطع گردید. بعد از اندازه‌گیری قد و وزن و تکمیل فرم اطلاعاتی از مسیر شریانی دیالیز نمونه‌گیری انجام شد. سرم توسط سانتریفوژ یخچال‌دار در  $4^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۰ دقیقه جدا گردید. سپس نمونه‌ها در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  تا تکمیل تعداد نمونه‌ها نگه‌داری شد. ۲۴ ساعت قبل از اندازه‌گیری مجدداً نمونه‌ها به ۸-۲ درجه منتقل شدند. پروهپسیدین با استفاده از کیت ELISA (شرکت DRG آلمان) اندازه‌گیری گردید. طبق توصیه شرکت سازنده مقادیر  $58/9-158/1\text{ng/ml}$  در محدوده ۹۵-۵٪ نرمال می‌باشد. متوسط میزان پروهپسیدین در مردان و زنان  $104/5\text{ng/ml}$  اعلام شده است.

Intraassay variation =  $4/07$ ، Interassay variation =  $6/68$  بعد از نمونه‌گیری ترکیبات آهن دوباره شروع شد. تمامی داده‌ها از جمله سن، قد، وزن، BMI، مدت دیالیز، علت نارسایی کلیه، بیماری‌های همراه، سابقه دریافت خون و ترکیبات آهن وارد نرم‌افزار SPSS و پیراست ۱۴ شده و ارتباط متغیرها با استفاده از آنالیز  $\chi^2$ ، Pearson correlation سنجیده شد.  $p < 0/05$  معنی‌دار قلمداد گردید.

### یافته‌ها

در جمعیت مورد مطالعه ما ۳۶ نفر مرد، ۱۸ نفر زن بودند. میانگین سنی  $51/3$  سال و میانگین BMI،  $25/05\text{kg/m}^2$  محاسبه شد. علت نارسایی کلیه در بیماران ما در جدول ۱ ذکر شده است. مسیر همودیالیز، فیستول شریانی- وریدی  $92/6$ ٪ (۵۰ نفر)، گرافت  $1/9$ ٪ (یک نفر)، کاتتر دائم  $1/9$ ٪ (یک نفر)، کاتتر موقت  $3/7$ ٪ (دو نفر) بود. ۴۰ نفر (۷۴٪) از جمعیت مورد مطالعه بیماری همراه (بیماری قلبی، پرفشاری خون) داشتند. متوسط سطح سرمی پروهپسیدین  $208/1\text{ng/ml}$  بود (متوسط نرمال  $104/5\text{ng/ml}$ ) (جدول ۲). در این بررسی ارتباط معنی‌داری بین پروهپسیدین و هماتوکریت دیده نشد. این ارتباط در

و سبب کدشدن پپتید پره پروهپسیدین  $84$  اسید آمینه‌ای می‌شود. سپس به پروهپسیدین  $60$  اسید آمینه‌ای شکسته شده و در پلاسما ظاهر می‌گردد.<sup>۸</sup> هپسیدین (پپتید آنتی میکروبیال کبدی، LEAP-1) یک واکنش‌گر فاز حاد می‌باشد که در پاسخ به افزایش بار آهن، عفونت، التهاب، اندوتوکسین و p53 به شکل بیولوژیک فعال هپسیدین-۲۵ تظاهر می‌یابد.<sup>۹</sup> پاسخ پروهپسیدین به واسطه BMP و همکاری Hemojuvelin از مسیر SMAD می‌باشد.<sup>۱۱</sup> پروهپسیدین با تسهیل اندوسیتوز و تخریب لیزوزومی فروپورتین (خارج‌کننده آهن از سلول) مانع جذب آهن از دئودنوم، مهار گردش آهن از ماکروفاژ خروج آهن از کبد و جفت می‌گردد.<sup>۱۲</sup> سیتوکین‌هایی مانند IL-1، IL-6، TNF $\alpha$  قادر به افزایش پروهپسیدین می‌باشند. هپسیدین تولید شده از این طریق نه تنها باعث احتباس آهن در منوسیت/ ماکروفاژ می‌شود بلکه مانع جذب آهن از روده و در نهایت القاء کم‌خونی می‌گردد.<sup>۶،۷</sup> متأسفانه نقش دقیق پروهپسیدین در کم‌خونی نارسایی کلیه مشخص نشده است و نتایج مطالعات واضح و روشن‌کننده موضوع نمی‌باشد. هرچند خیلی از مطالعات سطح بالاتری از پروهپسیدین را در بیماران اورمیک گزارش کرده‌اند، ولی علت دقیق آن مشخص نیست. احتمال دارد که افزایش پروهپسیدین به دلیل کاهش پاک‌سازی کلیوی، التهاب، افزایش بار آهن و تولید موضعی توسط بافت کلیه یا ترکیبی از این عوامل باشد. یکی از مسائلی که در بررسی این روابط مشکل‌ساز بوده است، تعیین و تاثیر روش سنجش پروهپسیدین می‌باشد. در بیماران همودیالیزی به دلیل کاهش حجم ادرار، اندازه‌گیری پروهپسیدین ادرار امکان‌پذیر نیست، از طرفی اندازه‌گیری پروهپسیدین پلاسما به روش ELISA در حال حاضر در دسترس است، ولی همچنان در مورد ارتباط پروهپسیدین و فرم فعال آن هپسیدین-۲۵ شک وجود دارد. مطالعه ما در جهت روشن‌تر شدن وضعیت پروهپسیدین و ارتباط آن با عوامل مربوط به کم‌خونی و التهاب می‌باشد.

### روش بررسی

این مطالعه، از نوع توصیفی تحلیلی مقطعی در اردیبهشت ۱۳۸۹ در مرکز همودیالیز بیمارستان امام خمینی (ره) تهران می‌باشد. جمعیت مورد مطالعه، ۵۴ نفر از بیماران همودیالیز بودند که حداقل به مدت شش ماه، هفته‌ای سه بار دیالیز می‌شدند. آن‌ها بیماری عفونی، التهابی فعال، بدخیمی و کبدی نداشتند. از دو هفته قبل از مطالعه

جدول ۱- فراوانی علل نارسایی کلیه در جمعیت مورد مطالعه

متغیر	تعداد	درصد
دیابت	۱۵	۲۷/۸
پرفشاری خون	۱۶	۲۹/۶
گلوومرولونفریت	۶	۱۱/۱
بیماری کیستیک	۳	۵/۶
سایر موارد	۱۴	۲۵/۹
مجموع	۵۴	۱۰۰/۰

جدول ۲: مقدار متوسط پروهپسیدین و مقایسه آن با متوسط نرمال

متغیر	میانگین	٪۹۵ حدود اطمینان میانگین	تعداد	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
پروهپسیدین	۲۰۸/۱۵۴	۱۸۰/۱۳۱ - ۲۳۶/۱۸۸	۵۴	۱۰۲/۶۸۸۹	۹۸/۷	۸۴۹/۵

جدول ۳: ارتباط بین پروهپسیدین و هماتوکریت و اندکس‌های آهن

متغیر	هماتوکریت	آهن سرم	ظرفیت اشباع آهن	درصد اشباع آهن	فریتین
پروهپسیدین ضریب همبستگی پیرسون	۰/۰۱۴	۰/۱۵	-۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۱۱
سطح معنی داری	۰/۹۲	۰/۲۹	۰/۱۵	۰/۱۹	۰/۴۲
تعداد	۵۴	۵۴	۵۴	۵۴	۵۴

جدول ۴: ارتباط بین پروهپسیدین، فاکتورهای التهابی و وضعیت لیپید

متغیر	ESR	CRP	آلبومین	تری گلیسرید	کلسترول
پروهپسیدین ضریب همبستگی پیرسون	-۰/۰۰۵	۰/۲۶	۰/۹۶	-۰/۲۴	-۰/۱۸
سطح معنی داری	۰/۹۷	۰/۰۵۳	۰/۵۰	۰/۸۶	۰/۱۹
تعداد	۵۴	۵۴	۵۴	۵۴	۵۴

نویسندگان، این مسئله غیر قابل توجه را به دلیل وجود کم‌خونی و اثرات مهاري آن بر روی بروز پروهپسیدین دانسته‌اند، زیرا بعد از درمان کم‌خونی سطح پروهپسیدین افزایش یافته بود. Hsu در مطالعه ۷۱ بیمار همودیالیز مزمن ارتباط معنی‌دار و مستقیمی بین هماتوکریت و پروهپسیدین گزارش کرد،<sup>۱۷</sup> در صورتی که Eleftheriadis در بررسی ۴۶ بیمار همودیالیز مزمن این رابطه را معنی‌دار اما معکوس یافت.<sup>۱۸</sup> در مطالعات Arabul، Taes و Kato مانند بررسی ما این ارتباط معنی‌دار نبود.<sup>۱۵،۱۹،۲۰</sup> ارتباط بین پروهپسیدین و آهن سرم، ظرفیت اشباع ترانسفرین، درصد اشباع ترانسفرین و فریتین در مطالعات Hsu، Mahmut، Kato، Eleftheriadis نیز معنی‌دار نبود. در بررسی ما، در بیماران همودیالیز رابطه بین پروهپسیدین با ESR، تری گلیسرید و کلسترول معنی‌دار نبود، این ارتباط در مطالعات Kato، Weiss، Eleftheriadis نیز به همین صورت گزارش گردید. در مورد CRP وضعیت به گونه‌ای دیگر بود.<sup>۱۳،۱۸،۲۰</sup> Arabul بین پروهپسیدین و CRP ارتباط معنی‌دار و قابل ملاحظه یافت،<sup>۱۵</sup> وضعیت مشابهی را نیز Malyszko گزارش کرد.<sup>۲۱</sup> در مطالعه ما ارتباط با CRP با  $p=۰/۰۵۳$  معنی‌دار نبود. با توجه به یافته‌های فوق به نظر می‌رسد پروهپسیدین در بیماران نارسای کلیه به دلایل متعددی که اهمیت هر

مورد Iron status نیز معنی‌دار نبود (جدول ۳). پروهپسیدین با وضعیت التهابی نیز ارتباط معنی‌داری نداشت (جدول ۴).

## بحث

کم‌خونی در بیماران همودیالیزی علل متعدد دارد، لذا برخورد بالینی با این مسئله پیچیده است. احتمال وجود هم‌زمان کم‌خونی فقر آهن، کمبود اریتروپویتین، التهاب مزمن و علل دیگر بررسی جداگانه و مستقیم آن‌ها را با مشکل مواجه می‌کند. لذا شناسایی نشانگرهای جدیدتری که بتواند ما را در تعیین صحیح علت کم‌خونی و درمان مناسب هدایت کند ضروری به نظر می‌رسد. اهمیت این مسئله با دانستن ارتباط کم‌خونی و التهاب با بیماری‌های قلبی-عروقی افزایش می‌یابد. از آن جایی که به نظر می‌رسد یکی از نشانگرهایی که بتواند این ابهامات را تا حدی روشن سازد، پروهپسیدین باشد، لذا ما را بر آن داشت که این ارتباط را در بیماران همودیالیز بررسی کنیم. در مطالعه ما سطح پروهپسیدین مانند مطالعات Weiss، Kulaksiz و Mahmut بالاتر از سطح طبیعی بود.<sup>۱۳-۱۵</sup> در یک مطالعه که توسط Tsuchihashi در سال ۲۰۰۸ در ۲۳ بیمار همودیالیز و ۱۰ کنترل سالم انجام شده بود، تفاوتی بین این دو گروه مشاهده نگردید<sup>۱۶</sup> و

شاید با افزایش تعداد جمعیت مورد مطالعه و یا استفاده از هپسیدین-۲۵ به جای پروهپسیدین بتوان نقایص موجود را برطرف کرد.

کدام از آنها دقیقاً مشخص نیست، بالاست. اما پروهپسیدین نمی‌تواند نشانگر خوبی از وضعیت التهابی میزان آهن بیمار باشد.

## References

- Kazmi WH, Kausz AT, Khan S, Abichandani R, Ruthazer R, Obrador GT, et al. Anemia: an early complication of chronic renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 2001;38(4):803-12.
- Levin A, Thompson CR, Ethier J, Carlisle EJ, Tobe S, Mendelssohn D, et al. Left ventricular mass index increase in early renal disease: impact of decline in hemoglobin. *Am J Kidney Dis* 1999;34(1):125-34.
- Macdougall IC, Cooper AC. Hyporesponsiveness to erythropoietic therapy due to chronic inflammation. *Eur J Clin Invest* 2005;35 Suppl 3:32-5
- Rosert J, Froissart M, Jacquot C. Anemia management and chronic renal failure progression. *Kidney Int Suppl* 2005;(99):S76-81.
- Ludwiczek S, Aigner E, Theurl I, Weiss G. Cytokine-mediated regulation of iron transport in human monocytic cells. *Blood* 2003;101(10):4148-54.
- Means RT Jr. Recent developments in the anemia of chronic disease. *Curr Hematol Rep* 2003;2(2):116-21.
- Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005;352(10):1011-23
- Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001;276(11):7806-10.
- Weizer-Stern O, Adamsky K, Margalit O, Ashur-Fabian O, Givol D, Amariglio N, et al. Heparin, a key regulator of iron metabolism, is transcriptionally activated by p53. *Br J Haematol* 2007;138(2):253-62.
- Pinto JP, Ribeiro S, Pontes H, Thowfeequ S, Tosh D, Carvalho F, et al. Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBPalpha. *Blood* 2008;111(12):5727-33.
- Babitt JL, Huang FW, Wrighting DM, Xia Y, Sidis Y, Samad TA, et al. Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nat Genet* 2006;38(5):531-9.
- Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, et al. Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004;306(5704):2090-3.
- Weiss G, Theurl I, Eder S, Koppelstaetter C, Kurz K, Sonnweber T, et al. Serum hepcidin concentration in chronic haemodialysis patients: associations and effects of dialysis, iron and erythropoietin therapy. *Eur J Clin Invest* 2009;39(10):883-90.
- Kulaksiz H, Gehrke SG, Janetzko A, Rost D, Bruckner T, Kallinowski B, et al. Pro-hepcidin: expression and cell specific localization in the liver and its regulation in hereditary hemochromatosis, chronic renal insufficiency and renal anemia. *Gut* 2004;53:735-43.
- Arabul M, Gullulu M, Yilmaz Y, Eren MA, Baran B, Gul CB, et al. Influence of erythropoietin therapy on serum prohepcidin levels in dialysis patients. *Med Sci Monit* 2009;15(11):CR583-7.
- Tsuchihashi D, Abe T, Komaba H, Fujii H, Hamada Y, Nii-Kono T, et al. Serum pro-hepcidin as an indicator of iron status in dialysis patients. *Ther Apher Dial* 2008;12(3):226-31.
- Hsu SP, Chiang CK, Chien CT, Hung KY. Plasma prohepcidin positively correlates with hematocrit in chronic hemodialysis patients. *Blood Purif* 2006;24(3):311-6.
- Eleftheriadis T, Kartsios C, Liakopoulos V, Antoniadi G, Ditsa M, Papadopoulos C, et al. Does hepcidin affect erythropoiesis in hemodialysis patients? *Acta Haematol* 2006;116(4):238-44.
- Taes YE, Wuyts B, Boelaert JR, De Vriese AS, Delanghe JR. Prohepcidin accumulates in renal insufficiency. *Clin Chem Lab Med* 2004;42(4):387-9.
- Kato A, Tsuji T, Luo J, Sakao Y, Yasuda H, Hishida A. Association of prohepcidin and hepcidin-25 with erythropoietin response and ferritin in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2008;28(1):115-21.
- Małyszko J, Małyszko JS, Hryszko T, Pawlak K, Mysliwiec M. Is hepcidin a link between anemia, inflammation and liver function in hemodialyzed patients? *Am J Nephrol* 2005;25(6):586-90.

## The relationship between pro-hepcidin and serum biochemical parameters in chronic hemodialysis patients: a study on 54 patients

Received: August 09, 2010 Accepted: November 08, 2010

### Abstract

Rozina Abbasi Larki MD.<sup>1\*</sup>  
Sepideh Seifi MD.<sup>2</sup>  
Mahboob Lesan Pezeshki MD.<sup>2</sup>

1- Department of Internal Medicine,  
Imam Sajad Hospital, Yasuj  
University of Medical Sciences,  
Yasuj, Iran.

2- Department of Nephrology, Imam  
Khomeini Hospital, Tehran  
University of Medical Sciences,  
Tehran, Iran.

**Background:** Prohepcidin, a liver-derived peptide with antimicrobial properties, is regulated by factors such as iron load and inflammation. Heparin is a central player in iron homeostasis. It downregulates the iron exporter ferroportin, thereby inhibiting iron absorption, release and recycling. Thus, prohepcidin increases the possibility of iron-limited erythropoiesis and development of anemia. In end-stage renal disease (ESRD), plasma hepcidin levels are elevated, which may contribute to iron deficiency in these patients. This study was undertaken to investigate the relationship between prohepcidin and serum biochemical parameters related to anemia and inflammation in the aforesaid patients.

**Methods:** Fifty-four stable patients with uremia who were on chronic hemodialysis were enrolled in the study. The patients were withheld from intravenous iron two weeks prior to laboratory measurements. Later, (total) prohepcidin was measured by ELISA method as were other parameters including serum iron, TIBC, TSAT, Hct, ferritin, albumin, CRP, ESR, cholesterol and triglyceride.

**Results:** Serum prohepcidin levels were higher than normal values in the patients, but they were not correlated to the serum iron, TIBC, TSAT, Hct, ferritin, albumin, cholesterol and triglyceride ( $p>0.05$ ). No significant association were also found with ESR ( $p=0.97$ ,  $r=-0.005$ ) or CRP ( $p=0.053$ ,  $r=0.26$ ).

**Conclusion:** Serum prohepcidin level was higher in chronic hemodialysis patients but it was not predictive of iron status or inflammatory conditions in these patients. Confirmation of these results may necessitate studies with larger sample sizes or measurement of the biologically active form of hepcidin.

**Keywords:** Hemodialysis, prohepcidin, TIBC, transferrin, TSAT.

\* Corresponding author: Dept. of Internal  
Medicine, Imam Sajad Hospital, Yasuj,  
Iran.  
Tel: +98-741-2233943  
email: kian1380@yahoo.com