

## بررسی Ige در سرم کودکان نفروزی حساس به درمان استروئیدی

مریم کشاورز<sup>۱\*</sup>، فریده خسروی<sup>۲</sup>، بهروز نیک‌بین<sup>۳</sup>، ملکنج هنرمند<sup>۴</sup>، عبدالفتاح صراف‌نژاد<sup>۵</sup>

- ۱- کارشناس ارشد، گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۲- مربی، گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۳- استادیار، گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۴- استادیار، گروه نفروlogy، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۵- استادیار، گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

پذیرش مقاله: ۸۶/۸/۱۳

دریافت مقاله: ۸۶/۵/۳۱

### چکیده

هدف: نفروز یا نفروز لیپوئیدیک باعث هشتاد درصد از موارد نشانگان نفروتیک کودکان می‌باشد که با عوارض کلیوی تشخیص داده می‌شود. پروتئینوری از عوارض اصلی آسیب به سد گلومرولی کلیه است و نقش Ige در ایجاد آسیب‌های گلومرولی ممکن به نظر می‌رسد. در این تحقیق میزان Ige سرمی کودکان مبتلا به نفروز هنگام حمله یا عود بیماری، هنگام درمان استروئیدی و بعد از درمان استروئیدی تعیین شد تا نقش احتمالی Ige در بروز نفروز بررسی گردد. مواد و روش‌ها: مطالعه بر روی کودکان حساس به درمان استروئیدی انجام گرفت و برای اندازه‌گیری میزان Ige، از روش الایزای ساندویچی با دقت ۵ Iu/ml استفاده گردید.

نتایج: میانگین Ige سرم مبتلایان هنگام حمله یا عود بیماری ۲۷۴/۸ Iu/ml با انحراف معیار ۱۴/۶ می‌باشد. هنگام درمان استروئیدی میانگین Ige سرم ۱۷۶/۵۹ Iu/ml با انحراف معیار ۱۴/۸۲ می‌باشد و بعد از قطع درمان استروئیدی میانگین Ige سرم ۲۳۴/۹ Iu/ml با انحراف معیار ۱۴/۵۸ در نظر گرفته شد.

نتیجه‌گیری: کاهش میزان Ige در هنگام درمان استروئیدی مشاهده شد که معنی‌دار نمی‌باشد. با وجود این مواردی از کاهش شدید Ige از هنگام حمله بیماری تا قطع درمان استروئیدی دیده شد. بنابراین، به نظر می‌رسد عوامل حساسیت‌زا در برخی افراد باعث حمله یا عود بیماری می‌شود؛ در مجموع نقش Ige در ایجاد نفروز، کم اهمیت است.

کلید واژگان: نفروز، نشانگان نفروتیک با تغییرات جزئی، Ige، پردنیزولون.

### ۱- مقدمه

کودکان ۶ تا ۸ ساله است و در پسران بیشتر از دختران مشاهده می‌شود. در حالی که ۲۰٪ نشانگان نفروتیک بالغین از نوع نفروز لیپوئیدیک است و نسبت مذکر به مؤنث مساوی است که با عوارض کلیوی شناخته می‌شود. مهمترین عوارض

در دوران کودکی نفروز (Nefrosis) یا نفروز لیپوئیدیک (Lipoidic nefrosis) یکی از شایع‌ترین بیماریهای کلیوی است که باعث ۸۰٪ از موارد نشانگان نفروتیک (Nephritic syndrome) کودکان می‌باشد. اوج شیوع آن در

آمده است؛ به طوری که ۳۷/۵٪ الگوی MGL، ۱۱٪ الگوی FSGS (Diffuse Mesangial Proliferation) DMP و ۵۱/۵٪ الگوی (Focal and Segmental Glomerulosclerosis) نشان می‌دهند [۷].

## ۲- مواد و روش‌ها

جمعیت انسانی مورد مطالعه شامل کودکان مبتلا به نفروزی بوده که به درمان استروئیدی پاسخ دادند. در طی درمان از پردنیزولون (Prednisolone) استفاده شد و درمان به این صورت انجام گرفت که ابتدا به مدت ۴ هفته، روزانه ۶۰ میلی‌گرم پردنیزولون به ازای هر متر مربع بدن تجویز شد و متعاقب آن ۴ هفته دیگر، یک روز در میان ۴۰ میلی‌گرم پردنیزولون به ازای هر مترمربع از سطح بدن تجویز گردید، یا اینکه بیماران در ۴ هفته دوم، سه دفعه متیل پردنیزولون به میزان روزانه ۱ گرم به ازای هر ۱/۷۳ مترمربع در هر نوبت دریافت نموده‌اند که در صورت پاسخ به درمان و شروع بهبودی این کودکان به درمان استروئیدی، حساس محسوب می‌شوند.

تحقیق حاضر بر روی ۶۶ نمونه سرم مربوط به ۲۲ کودک مبتلا صورت گرفته است. بدین ترتیب که از هر بیمار در سه مرحله ۵ میلی‌لیتر خون گرفته شد و سرم جدا شده، در صورتی که امکان بررسی فوری وجود نداشت، در ۷۰- درجه سانتیگراد منجمد شد. این سه مرحله عبارتند از: هنگام حمله یا عود بیماری، دوره بهبودی هنگام درمان استروئیدی و دوره بهبودی پس از قطع درمان استروئیدی. چون میزان IgE سرمی به‌طور طبیعی بسیار جزئی است، از روش الایزا (Enzyme Linked Immunosorbent Assay: ELISA) و از کیت الایزی با دقت ۵ Iu/ml استفاده گردید. سپس مقدار ۲۰ میکرولیتر از کنترل، استانداردها و نمونه‌های سرم در چاهک‌های کیت ریخته شد و بعد از در نظر گرفتن زمان‌های انکوباسیون (Incubation) و استفاده از بافرهای موجود در کیت میزان IgE موجود در هر نمونه سرم، کنترل و استاندارد

آن عبارتند از: پرتئینوری (Proteinuria) بیش از ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن در شبانه روز، کاهش آلبومین شدید به میزان ۲/۵ گرم یا کمتر در دسی‌لیتر، ورم، افزایش چربی، لیپیدوری (Lipiduria) و افزایش انعقاد پذیری سرم [۱-۳]. لازم به ذکر است که پرتئینوری یکی از عوارض اصلی آن است که از تغییر نفوذپذیری سد پالایش گلومرولی نسبت به پروتئین ناشی می‌شود. سایر عوارض نشانگان نفروتیک و عوارض متابولیک آن تماماً ثانویه و باعث از دست دادن پروتئین در ادرار هستند و می‌توانند با شدت کمتری نسبت به پرتئینوری ظاهر شوند؛ یا حتی ممکن است در مبتلایان به پرتئینوری شدید وجود نداشته باشد [۱].

در مایع روئی کشت سلول‌های تک هسته‌ای، خون محیطی کودکان بیمار، افزایش میزان IgE (Immunoglobulin-E) و میزان IL-4 (Interleukin-4) در هنگام عود دیده می‌شود؛ در حالی که در دوره بهبودی، میزان IgE به حد طبیعی می‌رسد، اما میزان IL-4 اندکی کاهش می‌یابد. علاوه بر این، یک ارتباط مستقیم بین مقادیر IgE و IL-4 با میزان پرتئینوری در ۲۴ ساعت دیده می‌شود [۴]. این یافته‌ها تأییدی است بر نظر برخی از محققان، که هم‌زمان با ظهور عوارض حساسیت، حملات نفروزی صورت می‌گیرد. در حال حاضر، ارتباط حساسیت شدید زودرس در نفروز لیپوئیدیک و برخی از دسته ژن‌های HLA (Human leukocyte Antigen)، مورد تأکید عده‌ای از محققین است [۵].

در بررسی‌های انجام شده در نیمی از کودکان مبتلا، رسوبات آنتی‌بادی‌ها و کمپلمان (Complement) بر روی گلومرول‌های کلیوی مشاهده گردیده است [۶]. الگوی پاتولوژیک آسیب، در اکثر جوامع بیش از ۷۵٪ از نوع (Minimal Glomerular Lesion) MGL می‌باشد.

درحالی که در بررسی که به مدت ۴ سال در جمعی از کودکان ایرانی مبتلا صورت گرفت نتایج متفاوتی به‌دست

اطمینان ۹۵٪ میانگین ۸۰/۵۹ (حد پایین) و ۲۷۵/۵۹ (حد بالا) و مقدار حداقل به دست آمده ۱۴ Iu/ml و مقدار حداکثر در این نتایج ۸۰۰ Iu/ml می باشد (جدول ۱).

۳- در هنگام دوره بهبودی و بعد از قطع درمان استروئیدی، میانگین Ige سرمی ۲۳۴/۹ و انحراف معیار ۲۷۰/۹ می باشد. حدود اطمینان ۹۵٪ میانگین بین ۱۱۴/۹ Iu/ml (حد پایین) و ۳۵۴/۹ Iu/ml (حد بالا) و مقدار کمترین ۸ Iu/ml و بیشترین ۸۰۰ Iu/ml می باشد (جدول ۱).

۴- اختلاف میانگین میزان Ige در هنگام حمله یا عود بیماری یا دوره بیماری تحت درمان استروئیدی با  $t = 2/19$  و  $df = 21$  ( $2/19 > 2/08$ )  $p < 0/01$  معنی دار می باشد. در حالی که اختلاف میانگین میزان Ige در هنگام و بعد از درمان استروئیدی با  $t = 1/38$  و  $df = 21$  ( $1/38 < 2/08$ ) معنی دار نمی باشد. اختلاف میانگین Ige سرمی در هنگام حمله یا عود بیماری و دوره بهبودی بعد از قطع درمان استروئیدی با  $t = 1/07$  و  $df = 21$  ( $1/07 < 2/08$ ) معنی دار می باشد (جدول ۱).

بر حسب میزان رنگ در طول موج ۴۵۰ نانومتر به وسیله دستگاه قرائت الیزا به دست آمد. در ادامه به کمک مقدار متوسط جذب نوری برای هر یک از استانداردها منحنی استاندارد بر روی کاغذ میلی متری رسم شد. به طوری که یک محور جذب نوری بر حسب OD (Optical Density) و محور دیگر بر حسب میزان Ige و واحد Iu/ml باشد؛ سپس به کمک این نمودار، میزان جذب نوری هر نمونه با واحد Iu/ml محاسبه گردید.

### ۳- نتایج

۱- در هنگام حمله یا عود بیماری میانگین Ige سرمی ۲۷۴/۸ Iu/ml با انحراف معیار ۲۴۸/۷ می باشد. با حدود اطمینان ۹۵٪ میانگین ۱۶۴/۵۱ Iu/ml حد پایین و ۳۸۵/۰۹ Iu/ml حد بالا و مقدار حداقل به دست آمده ۲۰ Iu/ml و مقدار حداکثر اندازه گیری شده ۸۰۰ Iu/ml می باشد (جدول ۱).

۲- در هنگام درمان استروئیدی، میزان متوسط Ige سرمی بیمار ۱۷۶/۵۹ Iu/ml و انحراف معیار ۲۱۶/۵۴ است. حدود

جدول ۱ توصیف آماری میزان Ige سرمی در سه مرحله بیماری (بر حسب Iu/ml)

| مرحله بیماری   |                       | شاخص آماری                    |              |
|--|-----------------------|-------------------------------|--------------|
| هنگام عود بیماری   | هنگام درمان استروئیدی | بعد از درمان استروئیدی        |              |
| ۲۷۴/۸  | ۱۷۶/۵۹                | ۲۳۴/۹                         | میانگین      |
| ۱۶۴/۵۱   | ۸۰/۵۹                 | ۱۱۴/۹                         | حد پایین     |
| ۳۸۵/۰۹   | ۲۷۵/۵۹                | ۳۵۴/۹                         | حد بالا      |
| ۱۴/۶   | ۱۴/۸۲                 | ۱۴/۵۸                         | انحراف معیار |
| ۲۰   | ۱۴                    | ۸                             | مقدار حداقل  |
| ۸۰۰  | ۸۰۰                   | ۸۰۰                           | مقدار حداکثر |
| اختلاف معنی دار میانگین Ige هنگام عود بیماری و هنگام درمان استروئیدی       |                       | $t = 2/19$ $df = 21$ معنی دار |              |
| اختلاف معنی دار میانگین Ige هنگام درمان استروئیدی و بعد از درمان استروئیدی |                       | $t = 1/38$ $df = 21$ بی معنی  |              |
| اختلاف معنی دار میانگین Ige بعد از درمان استروئیدی و هنگام عود بیماری      |                       | $t = 1/07$ $df = 21$ بی معنی  |              |

## ۴- بحث

نمی‌توان معلوم کرد که افزایش میزان IgE سرمی، که در برخی از کودکان مبتلا به نفروز دیده می‌شود، عامل بیماری است و یا اینکه خود آن از تبعات بیماری می‌باشد.

در تحقیق حاضر، میزان IgE سرمی در دوره عود یا حمله بیماری با دوره بهبودی هنگام درمان استروئیدی، اختلاف معنی‌داری را با  $P < 0.01$  نشان می‌دهد؛ در حالی که میزان IgE سرمی در دوره عود یا حمله بیماری و دوره بهبودی بعد از قطع درمان استروئیدی تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهند. به نظر می‌رسد این مورد بنابر تأثیر استروئید مصرفی بر سیستم ایمنی و در جهت کاهش تولید IgE باشد که این اثر از مدت‌ها قبل شناخته شده است [۵]. در مجموع، در ۲۲ کودکی که مورد بررسی قرار گرفتند، ارتباطی بین ابتلا به نفروز با میزان IgE سرمی، دیده نشد؛ در حالی که در ۱۵ مورد، کاهش میزان IgE سرمی در هنگام حمله یا عود بیماری تا دوره بهبودی بعد از قطع درمان استروئیدی مشاهده شد. ۵ مورد از بیماران نیز کاهش شدیدی در IgE سرمی از هنگام حمله یا عود بیماری تا قطع درمان استروئیدی را نشان دادند (جدول ۱). به این ترتیب می‌توان گفت که در کودکان ایرانی نیز مانند سایر جوامع در مواردی عوامل حساسیت‌زا می‌تواند عامل بروز حمله یا عود بیماری باشد. اما در مجموع میزان IgE سرمی از عوامل اصلی بروز حملات نفروزی نیست.

## ۵- سپاسگزاری

بدین وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از زحمات بی‌دریغ استاد ارجمندم جناب آقای دکتر محمد وجگانی مدیر محترم گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران تقدیم می‌دارم.

برخورد با یک ماده حساسیت‌زا و بروز واکنش حساسیت‌زا به عنوان شروع عود نفروز از مدت‌ها قبل شناخته شده بود و برخی از نفرولوژیست‌ها حداقل در مواردی علت نفروز را حساسیت می‌دانند [۸]. سطح افزایش یافته IgE سرمی در این موارد، دلیلی بر نقش حساسیت است، به ویژه هنگامی که آزمایش آزادسازی محتویات گرانول‌های بازوفیل بیماران نیز مثبت باشد [۹]. در مطالعه‌های انجام شده بر روی ۴۰ بیمار مبتلا به نفروز به وسیله لارنت (Laurent) اهمیت فراوانی زمینه حساسیت‌زا و نفروز بررسی گردید.  $\frac{3}{4}$  از بیماران سابقه حساسیت داشته و یا اینکه افراد خانواده آنها به نوعی مبتلا به آن بودند. در نیمی از بیماران، سطح افزایش یافته تعداد اسیدوفیل‌های IgE سرمی دیده می‌شود یا آزمایش آزادسازی محتویات گرانول‌های بازوفیلی با نتیجه مثبت داشتند که به همین علت ارتباط قوی‌تری با بروز نفروز در آنها مشاهده می‌شود [۹]. مواردی از رابطه تیتراژ IgE در کودکان مبتلا به نفروز با فراوانی حملات نفروزی [۱۰] و همچنین جواب‌های ضعیف این افراد به درمان استروئیدی [۱۱] گزارش شده است. لازم به ذکر است که در رسوب‌های بافت کلیوی اکثر این بیماران IgE یافت نشده است [۱۳] و در عین حال، گزارش‌هایی از ارتباط نداشتن میزان تیتراژ IgE سرمی با وقوع حملات نفروزی در دست می‌باشد [۱۲]. IL-4 که به وسیله سلول‌های T و ماست‌سل‌ها (Mast cells) تولید می‌شود، سائتوکاین (Cytokine) کلیدی برای سوئیچ سلول‌های B به درجه IgE و وقوع حساسیت شدید زودرس می‌باشد [۱۴، ۱۵]. از طرف دیگر، چند شکلی ژن IL-4 و گیرنده IL-4 شناخته شده است [۱۶]. با وجود این گزارش‌ها

## ۶- منابع

- [2] Nash M, Edelman A, Chester J, Burnstein M, Brnet Jy. Pediatric Kidney Disease, 2<sup>nd</sup> ed., USA. Little, Brown 1992; p: 1267-84.
- [3] Barrat T, Martin A, Godfrey J, Clork T. Pediatric

- [۱] برنر برادی. بیماری کلیه و اختلالات اسیدوباز، اصول طب داخلی هاریسون ۱۹۹۸. ترجمه محسن اسفندی، سید علی یاری، چاپ اول، تهران، ۱۳۷۶.

- Nephrology, 3<sup>rd</sup> ed., Baltimore, Williams 1994; p: 767-87.
- [4] Kang J, Bai KM, Wang BL, Yao Z, Pang XW, Chen WF. Increased Production of interleukin 4 in children with simple idiopathic nephrotic syndrome. *Chin Med J* 1994; 107(5): 347-50.
- [5] Takeichi S, Tazawa M, Morooka M, Minowa S, Yasaki T. Long term follow – up study of children with Minimal change Nephrotic Syndrome. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1997; 39(2): 155-60. (Japanese).
- [6] Sedman A. Nutritional management of the children with mild to Moderate chronic renal failure. *J Pediatric* 1996; 129(2): 513-8.
- [7] Mehta M, Bagga A, Pande P, Bajaj G, Srivastava RN. Behavior problems in nephrotic syndrome. *Indian Pediatr* 1995; 32(12): 1281-6.
- [8] Desanctis AG, Fontana VJ, Spain WC. The role of allergy in nephrosis. *N Y State J Med* 1956; 56(24): 3907-10.
- [9] Laurent J, Rostoker G, Robeva R, Bruneau C, Lagrue G. Is adult idiopathic nephrotic syndrome food allergy? Value of oligoantigenic diets. *Nephron* 1987; 47(1): 7-11.
- [10] Yap HK, Yip WC, Lee BW, Ho TF, Teo J, Aw SE, Tay JS. The incidence of atopy in steroid-responsive nephrotic syndrome: clinical and immunological parameters. *Ann Allergy* 1983; 51(6): 590-4.
- [11] Hu JF, Liu YZ. Elevated serum IgE levels in children with nephrotic syndrome, a steroid-resistant sign? *Nephron* 1990; 54: 275.
- [12] Laurent J, Rostoker G, Lheritier M, Wirquin E, Lagrue G. Idiopathic nephrotic syndrome: the prognosis is not linked to the total serum IgE level. *Nephron* 1989; 52: 283-4.
- [13] Shu KH, Lian JD, Yang YF, Lu YS, Wang JY. Serum IgE in primary glomerular diseases and its clinical significance. *Nephron* 1988; 49: 24-8.
- [14] Rosenwasser LJ. Interleukin-4 and the genetics of atopy. *N Engl J Med* 1997; 337: 1766-7.
- [15] Brown MA, Hural J. Functions of IL-4 and control of its expression. *Crit Rev Immunol* 1997; 17: 1-32.
- [16] Marsh DG, Neely JD, Breazeale DR, Ghosh B, Freidhoff LR, Ehrlich-Kautzky E, Schou C, Krishnaswamy G, Beaty TH. Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. *Science* 1994; 254: 1152-6.