

بررسی میزان سرمی بتادومیکروگلوبولین ($S\beta_2M$) در بیماران تحت درمان نگهدارنده همودیالیز با غشای سلولزی

دکتر ماهرو میراحمدیان، دانشیار گروه اپیدمیولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
سید عبدالرحیم رضایی، عضو هیئت علمی گروه اپیدمیولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
دکتر بهروز نیک‌بین، استاد گروه اپیدمیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

A Study of Serum β_2 - Microglobulin ($S\beta_2M$) in Hemodialysis Patients With Cellulosis Membrane ABSTRACT

β_2 microglobulin (β_2M) fibril has been recognized as the major factor of dialysis - related amyloidosis. Elevated serum levels are thought to be the basis for tissue deposition.

In order to evaluate the effect of cellulosis membrane (FB 110) and treatment duration on $S\beta_2M$ levels, we determined serum levels in 23 hemodialyzed patients with end - stage renal failure. $S\beta_2M$ levels were markedly elevated in all patients with a mean of 74.71 (SD=21.2 mg/l, range: 46 mg/l after 2 years hemodialysis - 123.8 mg/l after 10 years treatment) that statistically is higher than healthy subjects ($P<0.0001$). Serum β_2M in 19 healthy subjects was 2.36 (SD=0.4 mg/l, range: 1.58-3.3 mg/l).

Although in hemodialysis group, no significant correlation was found between $S\beta_2M$ and age or sex but increased serum levels of β_2M had significant correlation with duration of hemodialysis treatment ($r = 0.53$, $P<0.01$). Since the dialysis membrane has a very effective role in clearance of $S\beta_2M$, we suggest that the particular effort should be made towards improvement of dialysis membranes.

Key Words: β_2 Microglobulin, Hemodialysis, Dialysis Membranes, Cellulosis membranes, Amyloidosis

چکیده

می‌باشد ($P<0.0001$). بیشترین غلظت سرمی ($123.8/74.71$)
مربوط به بیماری است که ده سال تحت درمان همودیالیز قرار داشته
است و کمترین غلظت سرمی ($46/74.71$) مربوط به بیماری است که
تقریباً دو سال تحت این نوع درمان بوده است.

غلظت سرمی این پروتئین به جنسیت و سن ارتباطی نداشت،
اما به مدت زمان درمان با همودیالیز وابسته بود ($P<0.01$)
($r=0.53$). به علاوه غلظت سرمی β_2M در ۱۹ فرد سالم (به عنوان
شاهد) که همه آزمایشها و معاینات معمول برای آنها انجام می‌شد،
 2.36 ($SD=0.4$) mg/l در محدوده $1/58$ تا $3/33$ بود. که آزمونهای
آمارتی با آنها مقایسه می‌گردید. به دلیل نقش
بتادومیکروهموگلوبولین در بروز آمیلوئیدوزیس لازم است به

فیبریل‌های بتادومیکروگلوبولین (β_2M) یکی از عوامل
احتمالی در پانوژن آمیلوئیدوزیس وابسته به همودیالیز دراز مدت
می‌باشد. اختلال غیر قابل برگشت کلیه و استفاده از غشاهای
دیالیزی که زمینه سنتز بیشتر β_2M را فراهم می‌کنند و قادر به
برداشت آن نیز نمی‌باشند، سبب بالا رفتن سطح سرمی β_2M
می‌شود. با این پیش زمینه در مطالعه حاضر میانگین میزان سرمی
 β_2M در ۲۳ بیمار با اختلال کامل عملکرد کلیه‌ها که تحت درمان
نگهدارنده همودیالیز با غشای FB110 قرار داشتند ($SD=21/2$)
 $74/71$ mg/l بود که تقریباً ۳۱ برابر افراد سالم

غشاهای دیالیزی و اهمیت آنها در القای تولید یا برداشت این پروتئین در بیماران دیالیزی توجه شود.

مقدمه

از دست رفتن غیر قابل برگشت کلیه‌ها موجب برهم خوردن تعادل میکروشمیایی داخلی برای ادامه حیات تمامی ارگانه‌ها می‌شود. درمان نگهدارنده برای چنین افرادی همودیالیز، دیالیز صفاقی و پیوند کلیه است. به کمک دیالیز به همراه درمان حفاظتی می‌توان زندگی بسیاری از مبتلایان به نارسائی کامل کلیه را حفظ نمود. اما بجز عوارض مربوط به دستگاه و فرم دسترسی به جریان خون، همودیالیز طولانی باعث بروز بیماری‌های جدید ماهیچه‌ای - استخوانی می‌شود که دارای اتیولوژی یکسانی هستند و تحت عنوان آمیلوئیدوزیس وابسته به دیالیز طبقه‌بندی می‌شوند (۲،۱).

ویژگی این بیماری رسوب فیبریل‌های پروتئینی با ساختمان β -Sheet در مفاصل، پوست و بافت استخوانی می‌باشد و نشانه‌های ناخوشایندی چون (CTS) (۱)، بیماری‌های مفصلی منتشر، آسیب‌های لیستیک استخوان، تورم بافت‌های نرم و التهاب تاندونها همراه با پاره شدن ناگهانی آنها را به همراه دارد. رسوب فیبریل‌های آمیلوئیدی متشکل از بتادومیکروگلوبین (β_2M) و پروتئین A در ایجاد این عوارض نقش بارزی دارند (۳،۲).

عدم توانایی غشاهای دیالیزی در برداشت کامل این پروتئین‌ها، فعال سازی سیستم ایمنی و عدم سازگاری بیولوژیک غشا در دراز مدت باعث بروز عوارض فوق می‌شود (۲،۱ و ۴،۵).

بتادومیکروگلوبولین، پروتئینی با وزن مولکولی ۱۱۸۰۰ دالتن است که زنجیره سبک مولکول‌های مجموعه سازگاری بافتی اصلی (MHC) را تشکیل می‌دهد (۲).

فیبریل‌های β_2M یکی از عوامل موثر در پاتوژنز آمیلوئیدوزیس وابسته به همودیالیز شناخته شده است (۷،۲). به همین دلیل به این بیماری آمیلوئیدوزیس بتادومیکروگلوبولینی نیز گفته می‌شود، اما موارد غیر وابسته به β_2M نیز گزارش شده است (۸). کلیه مسئول فیلتراسیون و کاتابولیس $96/5\%$ این پروتئین و تنظیم غلظت سرمی آن است. ضریب فیلتراسیون گلمرول برای (β_2M) $0/7$ تا 1 است و غلظت پلاسمایی آن در افراد سالم نسبتاً ثابت (کمتر از $3/4\text{mg/l}$) می‌باشد (۹،۲).

اما از دست رفتن فعالیت کلیه‌ها و عدم توانایی غشاهای دیالیزی

معمولی در برداشت β_2M و عدم سازگاری بیولوژیک آنها زمینه مساعدی را برای رسوب این پروتئین در بافتها فراهم می‌کند. بالاترین غلظت سرمی این پروتئین و شیوع آمیلوئیدوزیس در بیمارانی که تحت درمان همودیالیز با غشای سلولزی و کوپرو آمونیوم (کوپروفان) بوده‌اند گزارش شده است (۴ و ۱۰ و ۱۱). ما در این مطالعه سعی کرده‌ایم که غلظت سرمی β_2M در افراد تحت درمان همودیالیز با غشای سلولزی و افراد سالم (به عنوان گروه کنترل) را مورد ارزیابی قرار دهیم. همچنین اثر عوامل دیگر از قبیل سن، جنس و مدت زمان دیالیز بر میزان سرمی β_2M را بررسی کنیم، سپس بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات دیگر آثار ناشی از غشای دیالیزی low-flux را تشریح کنیم.

روش و مواد

در این بررسی از ۲۳ بیمار با عدم کارکرد کامل کلیه تحت درمان نگهدارنده با همودیالیز در مرکز آموزشی و تحقیقاتی شهید هاشمی نژاد تهران بدون توجه به جنسیت، سن و مدت دیالیز نمونه‌گیری شد. نمونه‌گیری یک ساعت بعد از شروع دیالیز با غشای دیالیزی 110 FB (Nipro) انجام می‌شد.

پس از جمع‌آوری نمونه‌ها کار سنجش غلظت سرمی β_2M با روش EIA (Enzyme Immuno Assay, Behring, Germany) انجام گرفت. از ۲۳ بیمار مورد مطالعه ۱۱ نفر مرد و ۱۲ نفر زن با متوسط سنی ۳۲ سال (۱۶ تا ۴۹) و متوسط مدت دیالیز ۲۶/۱ ماه (۲ تا ۱۲۰ ماه) بودند.

جمعیت کنترل ۱۹ نفر از افراد سالم با میانگین سنی ۳۲/۵ سال (۲۲ تا ۴۷) بودند که تمام آزمایش‌های مربوط به کارکرد کلیه، آزمایش‌های معمول خون شناسی، بیوشیمی و معاینات فیزیکی برای آنها انجام می‌شد. پس از استخراج نتایج از آزمون‌های آماری Students t-Test برای مقایسه گروه‌ها و از ضریب همبستگی (۱) برای ارتباط متغیرها استفاده شد.

یافته‌ها

میزان سرمی β_2M در افراد سالم

غلظت سرمی β_2M برای ۱۹ فرد با میانگین سنی $32/5$ (SD=7/9) سال که هیچگونه بیماری مشخصی

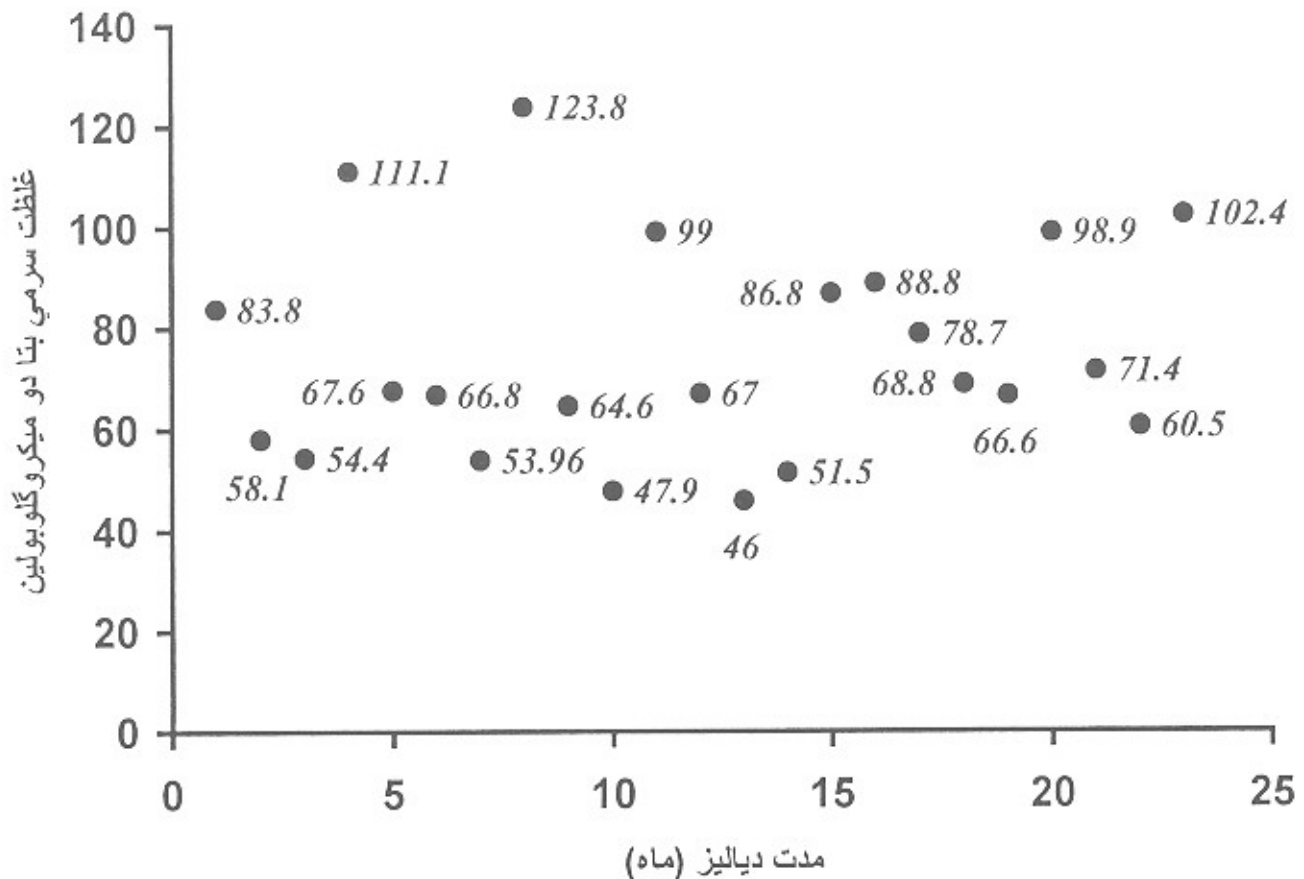
از ۲۳ بیمار فوق ۱۲ نفر زن با غلظت سرمی β_2M $69/34 (SD=22) \text{ mg/l}$ و ۱۱ نفر مرد با غلظت سرمی $80/57 (SD=19/57) \text{ mg/l}$ بودند، اما اختلاف غلظت بر حسب جنس از نظر آماری معنی دار نبود.

سن بیمار نیز بر غلظت سرمی β_2M تأثیری نداشت، اما بین غلظت سرمی β_2M و مدت دیالیز همبستگی $(r=0.53)$ وجود داشت که از نظر آماری نیز معنی دار بود $(P<0.01)$ (شکل ۱).

نداشتند $2/36 (SD=0/4) \text{ mg/l}$ (در محدوده حداقل و حداکثر $1/58$ تا $3/3$) بود.

میزان سرمی β_2M در بیماران همودیالیز

غلظت سرمی β_2M در ایمن بیماران $74/71 (SD=21/1) \text{ mg/l}$ (۴۶ تا $123/8$) بود که در مقایسه با گروه کنترل افزایش بسیار معنی داری نشان می دهد $(P<0.0001)$.



شکل ۱- رابطه غلظت سرمی β_2M و مدت دیالیز. $r=0/532, P<0.01$

بیماران اورمیک (۱۳)، افزایش رسوب بافتی (۱۱) یا پروتئولیز آن (۱۴) باشد.

در مطالعه حاضر نمونه خون در ضمن انجام دیالیز با غشای سلولزی گرفته می شد. بنابراین غلظت سرمی β_2M در این مطالعه بایستی کمی بالاتر از مقدار پایدار آن در این بیماران یا غلظت قبل از دیالیز باشد؛ زیرا غشاهای سلولزی و کوپرفان باعث افزایش غلظت β_2M بعد از اولین ساعات انجام دیالیز می شوند (۱۵ و ۱۵). شاید به همین دلیل برخی محققین معتقد به کنار گذاشتن این غشاهای می باشند.

بحث

غلظت سرمی β_2M در مطالعه حاضر در بیماران دیالیزی در حد بسیار بالایی می باشد، با وجود این بالا رفتن غلظت سرمی β_2M روند پیشرونده شدید نیست، اما به مدت درمان با همودیالیز بستگی دارد. هر چند بعضی محققین در مطالعات خود چنین وابستگی را مشاهده نکردند (۱۱) ولی برخی دیگر وجود وابستگی را گزارش نموده اند (۱۲ و ۱۲). به هر حال عدم افزایش پیشرونده سریع غلظت β_2M ممکن است نتیجه کاهش تولید آن در

سازگاری مواد سازنده، آلودگی، فعال شدن کمپلمان، افزایش چسبندگی ماکروفاژها به غشا و آزاد شدن IL-1 و TNF، فعال شدن لنفوسیت‌های T و آزاد سازی سایتوکاینها بخصوص IL-6 و IFN- γ مطرح شده است (۱۶، ۱۷، ۱۸). ولی در مورد هر کدام نظرات مخالفی نیز وجود دارد و در ضمن هیچکدام از نظریه‌ها قادر به توضیح ۲۵ تا ۴۰٪ افزایش غلظت سرمی β_2M در هنگام دیالیز با این نوع غشاهای نمی‌باشند (۶، ۱۰، ۱۲، ۱۵، ۱۸).

بالاخره Schoels نتیجه‌گیری می‌کند که افزایش سنتز β_2M بایستی نتیجه دو مکانیسم زیر باشد:

۱- تماس سلولهای تک هسته‌ای خون محیطی با غشای دیالیزی و تحریک این سلولها

۲- فعال شدن کمپلمان و ایجاد اجزای التهابی و مجموعه C5b-9 می‌تواند سبب فعال شدن سلولهای التهابی گردد (۱۹).

بهر حال، از آنجا که گرانولهای اختصاصی نوتروفیلها نیز یکی از منابع مهم β_2M می‌باشند، فعال شدن نوتروفیلها در طی تماس با غشای سلولزی و کوپرفان و یا اجزای ناشی از فعال شدن کمپلمان را نیز نباید از نظر دور داشت (۱۶، ۲۰).

در یک جمع‌بندی کلی، تصور می‌شود که عدم توانایی غشاهای سلولزی معمولی در برداشت β_2M و فعال سازی سیستم ایمنی زمینه مساعدی را برای افزایش سطح سرمی و رسوب این پروتئین در بافتها فراهم می‌کند. بنابراین بر اساس نتایج این مطالعه و بحث حاضر بهتر است که در درمانهای طولانی مدت همودیالیز، از غشاهای دیالیزی که سازگاری بیولوژیک بهتری دارند و می‌توانند در برداشت بیشتر β_2M نیز موثر باشند، استفاده شود.

قدردانی

بر خود لازم می‌دانیم که از همکاری متخصصین کلیه آقایان دکتر احد قدس، دکتر نژادگشتی و دکتر خسرو رهبر و همکارانشان سرکار خانمها شقایق امیری، خسروانی و شفیع‌ی تشکر و قدردانی نمائیم.

منابع

- 1- Stone WY, Hakim RM. Beta 2 microglobulin amyloidosis in long term dialysis patients. *Am Nephrol* 1989; 9: 177-83.
- 2- Zingraff J, Druke T. β_2M amyloidosis past and future. *Artif Organs* 1998; 22(7): 581-4.
- 3- Bruno MI. Colonic Pseudo-Obstruction due to β_2M amyloidosis after long-term haemodialysis. *Eur J Gastroentrol Hepatol* 1998; 10(8): 717-20.
- 4- Mayer G, Thum J. Beta-2 microglobulin in hemodialysis patients.

Diraimondo (۵) و Begestrom معتقدند که اگر غلظت تصحیح شده β_2M بر اساس تغییر حجم مایع خارج سلولی در طی دیالیز محاسبه شود، چنین افزایشی در حین دیالیز دیده نخواهد شد. یعنی عدم برداشت β_2M و برعکس برداشت آب در حین دیالیز باعث افزایش کاذب غلظت شده است (۵). اما Acchiardo, Floge نشان دادند که علیرغم همه تصحیح‌ها هنوز غلظت سرمی β_2M یک و سه ساعت بعد از دیالیز، نسبت به لحظه شروع افزایش نشان می‌دهد (۱۱ و ۱۵).

غلظت سرمی در مطالعه ما با در نظر گرفتن این نکته که خون‌گیری در حین دیالیز انجام شده است باید با غلظت بعد از دیالیز در مطالعات دیگر مقایسه شود. این مقادیر در مطالعه Mayer $27/3$ (SD= $7/1$) mg/l و در مطالعه Acchiardo $74/1$ (SD= $21/2$) mg/l حاضر (۵/۳۹) و در مطالعه حاضر $108/5$ (SD= $39/5$) می‌باشد.

در مقایسه با غشاهای دیالیزی دیگر نظیر پلی سولفان، هموفان، آکریلونیتریت و دیالیز صفاقی مقادیر بدست آمده β_2M برای غشاهای سلولزی و کوپرفان در این مطالعه و مطالعات دیگر بسیار بالا است. در صورتی که تغییر فرم دیالیز را نیز در نظر بگیریم شاهد تفاوت فاحشی بین غشاهای سلولزی و غشاهای High-Flux خواهیم بود. زیرا در این روشها ما شاهد برداشت β_2M با این غشاهای و سازگاری بیولوژیک بهتر آنها می‌باشیم (۵، ۱۱، ۱۲).

اما غشاهای سلولزی و کوپرفان که مصرف عمومی تری دارند نه تنها قادر به برداشت β_2M نمی‌باشند بلکه باعث القای تولید بیشتر آن نیز می‌شوند که بازتاب استفاده دراز مدت آن، آمیلوئیدوزیس می‌باشد (۱ و ۲ و ۳ و ۴ و ۱۵). هر چند که در مطالعه ما هیچ مورد مبتلا به آمیلوئیدوزیس وجود نداشت.

دلیل اصلی القای تولید بیشتر β_2M در دیالیز با این غشاهای مشخص نشده است. اما تحریک سیستم ایمنی با این غشاهای

Am J Nephrol 1988; 8: 280-84.

- 5- Diraimondo CR, Pollak V. Beta-2 microglobulin kinetics in maintenance hemodialysis. A comparison of conventional and high-flux dialyzers and the effect of dialyzer reuse. *Am J Kiney Dis* 1989; 13(5): 390-95.
- 6- Compistol JM, Molina R. Synthesis of beta-2-microglobulin in lymphocyte culture: Role of hemodialysis, dialysis membrane, dialysis amyloidosis and lymphokines. *Am J Kidney Dis* 1993; 22(5): 691-99.
- 7- Linke RP, Kerling A, Rail A. Hemodialysis: Demonstration of

- truncated beta 2 microglobulin in AB-amyloid in situ. *Kidney Int* 1993; 41: 100-05.
- 8- Morita T, Kamimura A. Amyloid deposits in patients on long term hemodialysis are not always Beta-2 microglobulin related. *Nephron* 1988; 50(2): 171-2.
- 9- Schardijn GHC, Statins VAN EPS. Beta-2 microglobulin: Its significance in the evaluation of renal function. *Kidney Inter* 1987; 32: 635-41.
- 10- Floge J, Granolleras C. Which membrane? Should β 2M decide on the choice of todays hemodialysis membrane? *Nephron* 1988; 50(3): 177-81.
- 11- Acchiardo S, Kraus AP. Beta-2 microglobulin level in renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 1989; 13(1): 70-74.
- 12- Klinkman H, Buscaroli A. β 2M and low-flux synthetic dialyzers. *Artif Organs* 1998; 22(7): 585-90.
- 13- Kumano K, Nanbu M, et al: Beta-2 microglobulin synthesis of mononuclear cells in chronic dialysis patients. *Int J Artif organs* 1992; 15(7): 401-07.
- 14- Chanard J, Vincent C. Beta-2 microglobulin metabolism in uremic patients who are undergoing dialysis. *Kidney Int* 1993; 41: S83-7.
- 15- Floge J, Granollers C. Is the rise in plasma Beta-2 microglobulin seen during hemodialysis meaningful? *Nephron* 1989; 51: 6-12.
- 16- Muller TF, Seitz M. Biocompatibility differences with respect to the dialyser sterilization method. *Nephron* 1998; 78(2): 139-42.
- 17- Memoli B, Libetta C. Hemodialysis related induction of IL-6 production by PBM cells. *Kidney Int* 1992; 42(2): 320-6.
- 18- Anderson J, Briefel G. Effects of acetate dialysate on TGF β , IL and β 2M plasma levels. *Kidney Int* 1991; 40(6): 1110-17.
- 19- Schoels M, Jahn B, et al: Stimulation of mononuclear cells by contact with cuprophan membranes. *Am J kidney Dis* 1993; 21(4): 394-9.
- 20- Ole WB, Ole J. β 2M in neutrophils: An intergranular protein. *J Immunology* 1987; 138: 3913-7.