مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۰ شماره ۲ تابستان ۱۳۸۷ صفحات ۱۴۰- ۱۳۳

تعیین اثرات انالاپریل و لوزارتان بر روی آسیب DNA سلولی در بیماران پیوند کلیه ای با پلی مورفیسم های سیستم رنین ـ آنژیوتانسین

دکتر پگاه ویسی: پزشک عمومی، مرکز تحقیقات کاربردی ـ داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر امیر قربانی حق جو: استادیار بیوشیمی، مرکز تحقیقات کاربردی ـ داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط
E-mail: ghorbaniamir@hotmail.com
دکتر حسن ارگانی: دانشیار نفرولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
دکتر محمد آقائی شهسواری: پزشک عمومی، مرکز تحقیقات کاربردی ـ داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر مسعود نوروزیان اول: پزشک عمومی، مرکز تحقیقات کاربردی ـ داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر نادره رشتچی زاده: دانشیار بیوشیمی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات کاربردی ـ داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر جاوید صفا: استادیار نفرولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات کاربردی ـ داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر مهران مسگری: کارشناس پژوهشی، مرکز تحقیقات کاربردی ـ داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۵/۱۲/۱۴، پذیرش: ۸۶/۵/۲۹

چکیده

زمینه و اهداف: از آنجائیکه فعالیت بالای سیستم رنین ـ آنژیوتانسین منجر به افزایش میزان استرس اکسیداتیو می شود، در این مطالعه اثرات انالاپریل و/ یا لوزارتان بر کاهش آسیب اکسیداتیو DNA سلولی مطابق با پلی مورفیسم های این سیستم بررسی شده است.

روش بررسی: در این مطالعه، بعد از تعیین پلی مورفیسم های سیستم رنین ـ آنژیوتانسین شامل آنزیم مبدل آنژیوتانسین (I/D)، آنژیوتانسینوژن (M235T) و رسپتور نوع ۱ آنژیوتانسین II (A1166C) توسط PCR، ٦٤ بیمار پیوند کلیه ای به صورت تصادفی در یکی از چهار گروه ذیل قرار گرفتند: گروه اول و دوم به ترتیب شامل ۱۳و ۲۰ بیمار با داروهای انالاپریل (۱۰ میلی گرم) و لوزارتان (۵۰ میلی گرم) مجموعا به مدت ٤ ماه درمان شدند. گروه سوم به عنوان کنترل مثبت شامل ۱۳ بیمار هردو داروی ذکر شده را با همان دوز دریافت نموده و در نهایت گروه آخر (۱۸ بیمار) به عنوان کنترل منفی هیچ دارویی را دریافت نکردند. قبل و بعد از دو و چهار ماه درمان، سطوح OHdG–۸ و مالون دآلدهید به ترتیب به عنوان بیومارکرهای آسیب DNA سلولی و پراکسیداسیون لیپیدی از طریق روشهای الایزا و کلرومتریک با استفاده از سرم بیماران مورد سنجش قرار گرفت.

یافته ها: سطوح OHdG–۸ به طور معنی داری تنها در گروههای کنترل مثبت (از ng/ml ۱/۱±۶/۰۷ به ng/ml ۱/۱ ± ۳/۶۰، P =۰/۰۰۰) و لوزارتان (از ng/ml ۰/۸۶±۵/۳۰ به ng/ml ۰/۴۷±۰/۶۰، P=۰/۳۰۰۱) کاهش یافت. ژنوتیپ DD پلی مورفیسم آنزیم مبدل آنژیوتانسین در مقابل ژنوتیپ غیرDD و ژنوتیپ CC رسپتورنوع ۱ آنژیوتانسین II در مقابل ژنوتیپ غیر CC از میزان بالای OHdG–۸ برخوردار بودند (به ترتیب P = ۰/۰۲ و P = ۰/۰۰۲). تنها ژنوتیپ TT در مقابل ژنوتیپ غیرTT آنژیوتانسینوژن نقش موثری در میزان پاسخ آنتی اکسیداتیو این داروها داشت (P =۰/۰۱). یک ارتباطی بین سطوح آسیب DNA سلولی و مالون دآلدهید قبل و بعد از مداخله وجود داشت (به ترتیب P = ۰/۰۰۰ r =۰/۴۸ و r = ۰/۳۵ ، P = ۰/۰۰۶).

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده اثرات آنتی اکسیداتیو درمان ترکیبی انالاپریل و لوزارتان و همچنین درمان منفرد با لوزارتان بر روی آسیب DNA، مطابق پلی مورفیسم های سیستم رنین ـ آنژیوتانسین میباشد.

کلید واژه ها: انالاپریل، لوزارتان، پلی مورفیسم های سیستم رنین ـ آنژیوتانسین، آسیب DNA سلولی، پیوند کلیه

مقدمه

ذرات راکتیو اکسیژن، گروهی از مولکولهای واکنشی اکسیداتیو هستند که در پروسه‌های پیری وبسیاری از بیماریهای التهابی دخالت دارند (۱و۲). افزایش ذرات راکتیو اکسیژن سلولی، مرتبط با عدم کفایت فاگوسیت‌ها، باعث آسیب به قسمتهای مختلف سلولی شامل غشاء، میتوکندری، هسته و همچنین DNA هسته‌ای می‌شود (۳). بنابراین، به نظر می‌رسد که DNA مهمترین هدف بیولوژیکی حملات اکسیداتیو باشد (٤).

در میان فاکتورهای بالقوه آسیب DNA، ۸ – هیدروکسی-'۲- داکسی گوانوزین به عنوان اصلی‌ترین فرم تغییریافته DNA توسط ذرات راکتیو اکسیژن در نظر گرفته می‌شود (۵).گزارشات بیانگر آنند که ۸ – هیدروکسی-'۲- داکسی گوانوزین یکی از معمولترین مارکرهای ارزیابی آسیب اکسیداتیوDNA میباشد (٦و٧).

از طرف دیگر، استرس اکسیداتیو یکی از علل موربیدیتی و مورتالیتی کاردیوو اسکولر در بیماران نارسایی کلیوی مزمن است (۸) که یکی از علل آن می تواند در زمینه عدم پایداری DNA به علت افزایش ترکیبات آسیب رساننده به DNA، باشد (۹).

فعالیت زیاد سیستم رنین - آنژیوتانسین منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود. اخیرا گزارش شده است که فعالیت بالای این سیستم در ارتباط با عملکرد ضعیف طولانی مدت کلیه پیوندی بوده و منجر به کاهش بقاء پیوند می‌شود (۱۰). بنابراین، پلی‌مورفیسم ژنهایی که فعالیت سیستم رنین - آنژیوتانسین را تنظیم می‌کند، می‌تواند در تعیین پروگنوز کلیه پیوندی پراهمیت باشد (۱۱). مطالعات خاطرنشان کرده اند که بلوک آبشار سیستم یاد شده توسط مهارگرهای آنزیم مبدل آنژیوتانسین و بلوکرهای رسپتور آنژیوتانسین باعث بهبود عملکرد اندوتلیال عروقی و کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود (۱۲و۱۳). به عبارت دیگر، این داروها در کاهش استرس اکسیداتیو نقش دارند (١٤).

هدف این مطالعه، ارزیابی میزان آسیب DNA در بیماران پیوند کلیه‌ای و تعیین اثرات لوزارتان و/ یا انالاپریل در کاهش آسیب DNA سلولی در ارتباط با پلی‌مورفیسم‌های ژنی مختلف سیستم رنین - آنژیوتانسین می‌باشد.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر در مرکز تحقیقات کاربردی- داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز از سال ۲۰۰۳ تا سال ۲۰۰۵ انجام شده است. بعد از اخذ رضایتنامه آگاهانه از بیماران که رضایتنامه مذکور در کمیته اخلاقی این مرکز مورد تائید قرار گرفته بود ٦٤ (۳۷ مرد و ۳۷ زن با میانگین سنی ٦/۳۸ ±۳٦/٤۷) بیمار پیوند کلیه‌ای وارد مطالعه شدند. همگی آنها در مدت ٦ ماه گذشته و بیشتر مورد پیوند قرار گرفته بودند و عملکرد کلیه پیوندی ثابتی (کراتینین سرم کمتر از ۲/۲mg/dl) داشتند. تمامی بیماران تحت درمان سه‌گانه ایمنوساپرسیو شامل سیکلوسپورین+ پردنیزولون+ آزاتیوپرین یا مایکو فنولات مفتیل بودند و هیچ‌کدام از آنها دیابتیک و سیگاری نبوده و از داروهائی نظیر دیورتیکها، بتابلوکرها، در سه ماه قبل از شروع مطالعه استفاده نکرده بودند. همچنین هیچکدام از بیماران تنگی شریان کلیه پیوندی و پیوند مجدد نداشتند. بعد از انتخاب بیماران و تبدیل داروهای ضدفشارخون مثل (بلوکرهای کانال کلسیم) در بیماران هایپرتانسیو به داروهای مهارگرآنزیم مبدل آنژیوتانسین و/ یا بلوکرهای رسپتور آنژیوتانسین، بیماران به طور تصادفی به یکی از چهار گروه درمانی زیر تقسیم شدند: گروههای اول (۱۳ بیمار) و دوم (۲۰ بیمار) به ترتیب با انالاپریل (۱۰ میلی گرم) و لوزارتان (۵۰ میلی گرم) به مدت دو ماه درمان شدند. گروه سوم نیز به عنوان کنترل مثبت هر دو دارو را با همان دوز دریافت نموده، و گروه چهارم به عنوان کنترل منفی هیچ درمانی دریافت نکردند. درمان ابتدا با دوز کم (۲/۵ میلی گرم برای انالاپریل و ۲۵ میلی گرم برای لوزارتان) شروع شده و سپس تدریجا با چک اوره، کراتینین و کنترل فشار خون افزایش داده شد. بعد از دو ماه درمان در گروهای اول و دوم پس از ۲ هفته دوره washout ، انالاپریل به لوزارتان و بالعکس لوزارتان به انالاپریل تبدیل شد و درمان مورد نظر به مدت ۸ هفته دیگر ادامه داده شد. اما در طی این مطالعه، ۱۳ بیمار به عنوان گروه کنترل مثبت (انالاپریل و لوزارتان) و ۲۲ بیمار به عنوان کنترل منفی به مدت ٤ ماه تحت درمان و پیگیری بودند. قبل و بعد از دو و چهار ماه درمان، آزمایشات CBC، الکترولیتها، اوره، کراتینین، سطوح سرمی سیلکوسپورین، مالون دآلدئید به عنوان مارکری از پراکسیداسیون لیپیدی و ۸–OHdG سرمی به عنوان نشانگر زیستی آسیب DNA سلولی، چک شدند. بیماران مرتبا (هر دو هفته یکبار)، از نظر فشار خون، تستهای عملکرد کلیوی و عوارض دارویی مثل هیپرکالمی، سرفه خشک و سایر واکنشهای آلرژیک دارویی کنترل می‌شدند. برای تعیین پلی‌مورفیسم سیستم رنین - آنژیوتانسین شامل ژنهای آنزیم مبدل آنژیوتانسین (I/D)، آنژیوتانسینوژن (M235T) و رسپتور نوع ۱ آنژیوتانسین II (A1166C) از نمونه خون وریدی که در لوله آزمایش حاوی آنتی‌کواگولان EDTA جمع‌آوری شده بود، استفاده شده است. سپس DNA ژنومی از لکوسیتها خون محیطی جدا شد. کل مراحل انجام و پروسه‌های آزمایشگاهی بر اساس توصیه‌ها و دستورالعمل‌های کارخانه سازنده، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی PCR در هر بخش و آنزیم مناسب محدوده کننده هر قسمت انجام شد (۱۵). جهت تعیین سطح ۸–OHdG درسرم نمونه‌های خون صبحگاهی پس از حداقل ۸ ساعت ناشتا بودن گرفته شد و سرم نمونه ها سریعاً جدا شد. برای جداسازی مواد اضافه، سرم با استفاده از اولترافیلتر، (با cut off وزن مولکولی ۱۰۰۰۰) فیلتره شد. پس از آن نمونه‌ها در ۷۰ - درجه سانتی‌گراد فریز شدند. غلظت ۸–OHdG سرمی به روش الایزا، با استفاده از کیت Shizuoka ژاپن اندازه‌گیری شد (١٦). در این مطالعه سطوح اوره، کراتینین توسط متد آنزیماتیک استاندارد با دستگاه اتوآنالیزر کوباس میرا مورد سنجش قرار گرفت. سطح مالون دآلدهید هم توسط روش کلرومتریک از طریق استفاده از فرایند اسید تیوباربیتوریک سنجش شده (۱۷) و در نهایت اینکه میزان سطح سرمی سیکلوسپورین توسط روش رادیوایمنواسی اندازه‌گیری شد.

برای آنالیز آماری از SPSS برنامه ویندوز ۱۱/۰ استفاده شد. از روش آنالیز شیوع برای طبقه‌بندی برخی داده‌ها استفاده شد. برخی داده‌ها به صورت درصد، میانگین±انحراف استاندارد یا میانه بیان شدند. برای تعیین رابطه بین شاخص‌های کلینیکی توسط تست‌های آماری T-test برای دو متغیر کمی- کیفی، آزمون خی دو

برای دو متغیر کیفی- کیفی، آزمون Anova برای بیان رابطه موجود گروههای چندگانه با متغیرهای کمی و در نهایت آزمون r پیرسون برای تعیین ضریب همبستگی استفاده شده است. در این مطالعه، $P<$ ۰/۰۵ به عنوان رابطه معنی‌دار شناخته شده است.

یافته ها

مطابق جدول ۱، بیماران چهار گروه درمانی هیچ اختلاف معنی‌داری از نظر سن، جنس، مدت پیوند، مدت زمان دیالیز قبل از پیوند کلیه، نوع ایمونوساپرسیوتراپی و پلی‌مورفیسم ژنی سیستم رنین - آنژیوتانسین نداشتند.

در ابتدا به علت عارضه هیپرکالمی در دو بیمار و سرفه خشک در یک بیمار، مجموعاً سه بیمار از مطالعه خارج شدند. بین بیماران قبل از هر گونه مداخله دارویی، هیچ تفاوتی بر اساس OHdG-۸ سرمی پایه وجود نداشت ($P<$ ۰/۰۵) . بررسی بیماران با رژیم‌های دارویی مذکور نشان داد که سطوح سرمی OHdG-۸ به طور قابل توجهی در گروه کنترل مثبت (کاهش از ۱/۱ng/ml±۶/۰۷، به ۰/۵۸ng/ml ±۳/۶ ؛ $P=$ ۰/۰۰۰) و در گروه لوزارتان (کاهش از سطح ۰/۸۶ng/ml ±۵/۳۰ به ۰/۴۷ng/ml ±۳/۶ ؛$P=$۰/۰۰۱) کاهش یافت (شکل ۱). انالاپریل به تنهایی تاثیر معنی‌داری در کاهش OHdG-۸ نداشت (کاهش از ۱/۱۹ng/ml ±۶ به ۱/۱۹ng/ml ±۴/۷، $P=$۰/۰۷، شکل ۱). همچنین در گروه کنترل منفی نیز تغییر چندانی در سطح OHdG-۸ نداشتیم (تغییر از ۰/۸۴ng/ml ±۵/۳۰ به ۰/۸۸ng/ml ±۵/۶، $P=$۰/۱۱، شکل ۱).

جدول ۱. مشخصات دموگرافیک بیماران پیوند کلیه ای در گروههای مختلف دارویی

مؤلفه ها	انالاپریل (n=۱۳)	لوزارتان (n=۲۰)	کنترل مثبت (n=۱۳)	کنترل منفی (n=۱۸)	P
سن (سال)	۳۲/۴۱ ± ۸/۸۲	۳۲/۶۸ ± ۴/۹۷	۳۷/۳۳ ± ۶/۴۲	۳۷/۳۳ ± ۶/۲۷	۰/۳۷
جنسیت (مرد/زن)	۸/۵	۱۲/۸	۹/۴	۶/۱۲	۰/۴۹
مدت زمان بعد پیوند (ماه)	۵۰/۰۸ ± ۲۲/۰۶	۲۰/۱۰ ± ۱۰/۵۸	۳۹/۵۴ ± ۱۶/۲۴	۴۴/۹۴ ± ۱۲/۵۴	۰/۱۸
مدت زمان دیالیز قبل پیوند (ماه)	۲۱/۶ ± ۱۵/۶۸	۱۹/۸۴ ± ۸/۴۲	۱۳/۵۷ ± ۸/۸۳	۲۰/۲۶ ± ۹/۰۱	۰/۲۵
علت زمینه ای نارسایی کلیه					۰/۱۴
- گلومرولونفرویت مزمن	۳	۸	۴	۳	
- پیلونفریت مزمن	۲	۲	۲	۲	
- کلیه پلی کیستیک بالغین	۱	۱	۱	۲	
- دیابت شیرین	۱	۲	۱	۱	
- بیماریهای بافت همبند	-	۱	۱	-	
- سندرم آلپورت	-	۱	-	۱	
- هیپرتانسیون	۲	۱	-	۱	
- نکروزکورتیکال حاد	-	-	-	۱	
- علت ناشناخته	۴	۴	۴	۷	
درمان ایمنوساپرسیو					۰/۵۶
- سیکلوسپورین + کورتن + ایموران	۶	۱۰	۷	۱۰	
- سیکلوسپورین + کورتن + سل سپت	۷	۱۰	۶	۸	
پلی مورفیسم سیستم رنین ـ آنژیوتانسین					
- ژنوتیپ آنزیم مبدل آنژیوتانسین					۰/۱۳
DD	۷	۷	۶	۶	
non-DD	۶	۱۳	۷	۱۲	
- ژنوتیپ آنژیوتانسینوژن					۰/۱۵
TT	۹	۱۴	۵	۸	
non-TT	۴	۶	۸	۱۰	
- ژنوتیپ رسپتور نوع I آنژیوتانسین					۰/۴۳
CC	۲	۴	۲	۳	
non-CC	۱۱	۱۶	۱۱	۱۵	

هیچکدام از رژیم‌های دارویی فوق یعنی درمان ترکیبی انالاپریل و لوزارتان و همچنین درمان منفرد با لوزارتان در کاهش آسیب DNA نسبت به یکدیگر برتری نداشتند طوریکه اندازه کاهش سطح سرمی OHdG–۸ در گروه کنترل مثبت و لوزارتان (به ترتیب ۲/۴۷– در مقابل ۱/۷ng/ml–، P=۰/۲۲) و درصد کاهش (۴۰٪ در مقابل ۳۲٪؛ P=۰/۲۲) بین گروههای دارویی مذکور تفاوتی نداشت. در آنالیز ارتباط بین پلی‌مورفیسم سیستم رنین – آنژیوتانسین با مقادیر پایه آسیب DNA سلولی، ژنوتیپ DD در مقابل ژنوتیپ غیر DD پلی مورفیسم آنزیم مبدل آنژیوتانسین (۶/۷۲±۱/۳۹ در مقابل ۵/۶۵±۲/۰۴؛ P=۰/۰۲) و ژنوتیپ CC در مقابل ژنوتیپ غیر CC رسپتور نوع ۱ آنژیوتانسین II (۷/۳۸±۰/۴۹ در مقابل ۵/۹۳±۱/۹۲؛ P=۰/۰۰۲) سطوح سرمی OHdG–۸ بالاتری داشتند (جدول ۲). در بین پلی مورفیسم ژنی این سیستم تنها ژنوتیپ TT در مقابل ژنوتیپ غیر TT ژن آنژیوتانسینوژن بیشترین نقش آنتی‌اکسیداتیو را در ارتباط با رژیم‌های دارویی داشت (جدول۳ P=۰/۰۱). یک ارتباط قابل توجه بین سطح مالون دآلدهید و میزان آسیب DNA سلولی، قبل و بعد از مداخله پیدا شد(r =۰/۴۸ و P=۰/۰۰۰ و r =۰/۳۵ و P=۰/۰۰۶، شکل ۲). در نهایت اینکه، هیچ تغییر معنی‌داری در سطوح سرمی کراتینین، اوره، سدیم، پتاسیم و سیلکوسپورین پس از تجویز داروهای مذکور اتفاق نیفتاد (P< ۰/۰۵). همچنین میانگین فشار متوسط شریانی طی مطالعه تغییر نداشت (جدول ٤).

جدول ۲. مؤلفه های بیوشیمیایی بین پلی مورفیسم های سیستم رنین ـ آنژیوتانسین قبل از مداخله دارویی در بیماران پیوند کلیه ای

پلی مورفیسم / سیستم رنین ـ آنژیوتانسین / مؤلفه ها	مالون دآلدهید (nmol/ml)	آسیب DNA سلولی(ng/ml)
ژنوتیپ آنزیم مبدل آنژیوتانسین		
DD –	۶/۹۱ ± ۲/۲۱*	۶/۷۲ ± ۱/۳۹*
non-DD –	٤/۷۳ ± ۱/۳۵	۵/۶۵ ± ۲/۰٤
ژنوتیپ آنژیوتانسینوژن		
TT –	۵/۷٤ ± ۲/۲۵	۶/۱۸ ± ۲/۱۰
non-TT –	۵/٤۲ ± ۲/٤٤	۵/۹۷ ± ۱/۸۲
ژنوتیپ رسپتور نوع I آنژیوتانسین		
CC –	۵/۷۲ ± ۲/۲۳	۷/۳۸ ± ۰/٤۹*
non-CC –	۵/٤۵ ± ۲/٤۰	۵/۹۳ ± ۱/۹۲

* معنی دار بین ژنوتیپهای مربوطه

جدول ۳. قدر مطلق کاهش آسیب DNA سلولی بعد از مداخله داروئی بین پلی مورفیسم های سیستم رنین ـ آنژیوتانسین

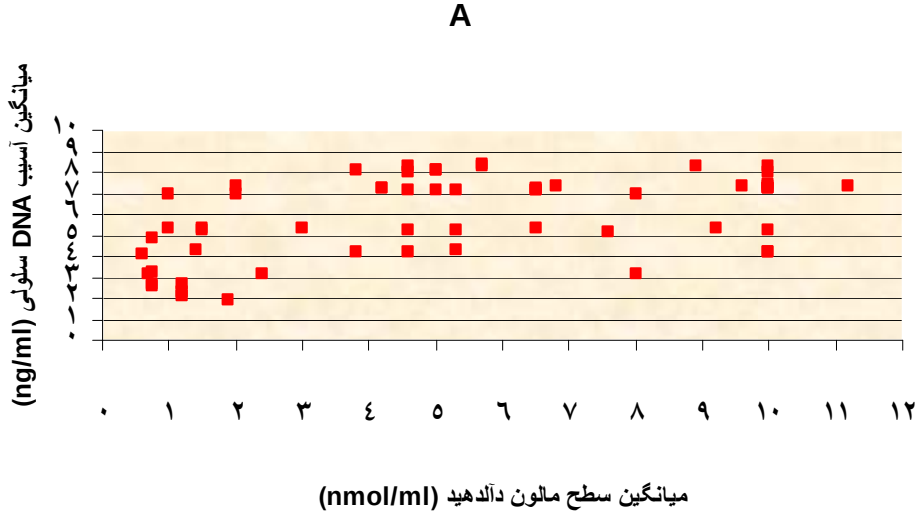
پلی مورفیسم / سیستم رنین ـ آنژیوتانسین / مؤلفه ها	قدر مطلق کاهش آسیب DNA سلولی (ng/ml)
ژنوتیپ آنزیم مبدل آنژیوتانسین	
DD –	۱/۹۶ ± ۰/۵۰
non-DD –	۵/۶۵ ± ۲/۰٤
ژنوتیپ آنژیوتانسینوژن	
TT –	۲/۷۷ ± ۰/۷٤*
non-TT –	۱/۳۷ ± ۰/۳۱
ژنوتیپ رسپتور نوع I آنژیوتانسین	
CC –	۲/۰۲ ± ۰/٤۶
non-CC –	۱/۸۹ ± ۰/۲۹

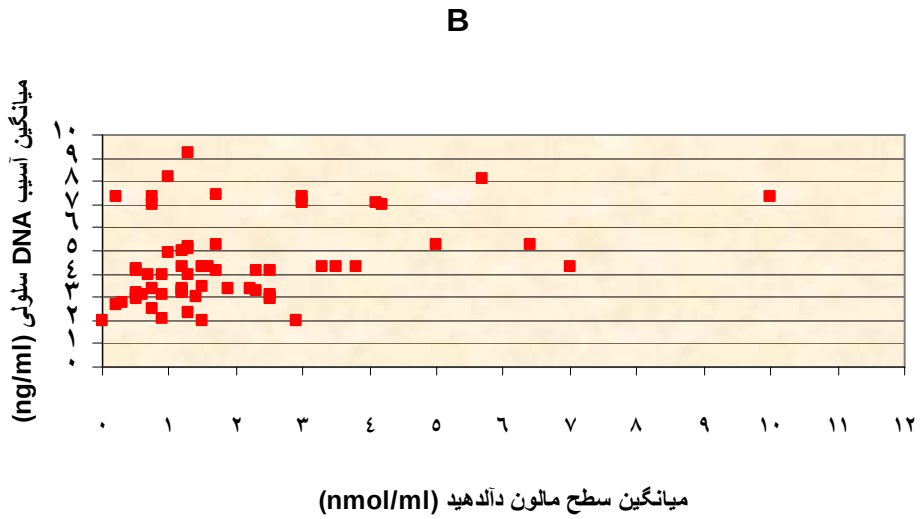
* معنی دار بین ژنوتیپهای مربوطه

جدول ٤. مؤلفه های آزمایشگاهی بیماران پیوند کلیه ای قبل و بعد از دو ماه درمان

مؤلفه ها	انالاپریل (n=۱۲)		لوزارتان (n=۱۸)		کنترل مثبت (n=۱۳)		کنترل منفی (n=۱۸)		P
	قبل درمان	بعد درمان	قبل درمان	بعد درمان	قبل درمان	بعد درمان	قبل درمان	بعد درمان	
هماتوکریت (٪)	٤٠/٧ ± ٢/١	٣٨/٥ ± ٢/٨	٤٠/٧ ± ٢/٣	٣٨/٧ ± ٢/٧	٤٠/٧ ± ١/٥	٣٧/٤ ± ٢/٦	٤٠/٦ ± ١/٤	٣٩/٩ ± ٢/٤	٠/١٢
اوره (mg/dl)	٤١/٣ ± ٧/٣	٤٨/٤ ± ٨/٤	٣٧/٧ ± ٦/٥	٤٣/٠ ± ٦/١	٤٠/٢ ± ١٨/٠	٥٣/٤ ± ٩/٣	٤٢/١ ± ١٦/٥	٤١/٧ ± ١٩/٢	٠/٣٤
کراتی نین (mg/dl)	١/١٥ ± ٠/٠٧	١/٤٧ ± ٠/١٥	١/٤٠ ± ٠/٠٨	١/٤٨ ± ٠/٠٧	١/٢٧ ± ٠/١٢	١/٤٦ ± ٠/٢٣	١/٣٥ ± ٠/٠٦	١/٣٠ ± ٠/٠٥	٠/٣٠
سدیم (mEq/L)	١٣٧ ± ٥	١٣٨ ± ٧	١٣٨ ± ٩	١٣٥ ± ٥	١٣٩ ± ٣	١٣٥ ± ٦	١٤٠ ± ٥	١٣٩ ± ٨	٠/٦٥
پتاسیم (mEq/L)	٤/٦١ ± ٠/٣	٤/٥٨ ± ٠/٠٢	٤/٥٠ ± ٠/٢	٤/٥ ± ٠/١	٤/٢٠ ± ٠/٣	٤/٨٠ ± ٠/٤	٤/٠٠ ± ٠/١	٣/٩٠ ± ٠/١	٠/١٦
سطح سیکلوسپورین (ng/ml)	١٩٤ ± ٣٢	١٧٦ ± ٣٣	٢٥٦ ± ٢٥	٢٢٢ ± ٢٤	٢٣٥ ± ٢٢	٢٤٧ ± ٢٣	٢٥٠ ± ٢٦	٢٧٢ ± ٣٤	٠/٠٩
فشار متوسط شریانی (mmHg)	٩٥/٠ ± ١٤/٨	٩٣/٠ ± ١٠/٥	١٠٥ ± ١٢/٤	١٠٠ ± ١١/٨	١٠٤ ± ٩/١	٨٤/٠ ± ١٨/٣	٩٤/٠ ± ١٤/١	٩٧/٠ ± ١٣/٨	٠/٤٥
HDL-C (mg/dl)	٤٣/٠ ± ١٠/٣٨	٥٤/٥ ± ٧/٨٤	٤٥/٨ ± ٦/٤٦	٤٥/٥ ± ٦/٠١	٤٦/٨١ ± ٨/١٩	٤٥/٥ ± ٥/٦١	٥٠/٨ ± ٧/٦٤	٥٦/٠ ± ٧/٢٥	٠/٢٣
LDL-C (mg/dl)	١٢١ ± ٢٤/٣	١١٩ ± ٢٤/٦	١٠٥ ± ١٤/٨	١٢٢ ± ١٨/٠	١٣٥ ± ١٤/٧	١٣٧ ± ١٦/٨	١٠٩ ± ١٨/٦	١٢٦ ± ١٦/٦	٠/٣١
تری گلیسرید (mg/dl)	١٣٠ ± ٣٠/٣	١٧٥ ± ٣٣/١	٢٢٠ ± ١٣/١	٢٦١ ± ٥٤/٠	٢٣٥ ± ٣٤/٣	٢٠٩ ± ٤٢/٦	١٤١ ± ٣٦/٢	١٥١ ± ٣٢/٣	٠/٢١
کلسترول تام (mg/dl)	١٩٩ ± ٢٦/٨	٢٠٨ ± ٣١/٣	١٩١ ± ٢٢/٤	٢١٥ ± ٢٦/٨	٢٢٧ ± ٣٥/٢	٢٠٣ ± ٢٦/٢	١٨٤ ± ٢٠/٤	١٩٥ ± ٢٩/٨	٠/٤٣

شکل ۱: تغییرات میانگین سطوح۸-OHdG بعد درمان در گروههای کنترل مثبت (n=۱۳)، انالاپریل (n=۱۲)، لوزارتان (n=۱۸)، و کنترل منفی (n=۱۸)، در بیماران پیوند کلیه ای، $P<$ ۰/۰۵





شکل ۲. ارتباط بین سطوح مالون دآلدهید و آسیب DNA سلولی قبل (A) و بعد (B) از مداخله

بحث

مطالعات نشان داده است که در نارسایی کلیه علاوه بر احتباس توکسین‌های اورمیک، افزایش تولید رادیکالهای آزاد اکسیژنی، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و تولید مالون دآلدهید و تجمع محصولات نهایی گلیکوزیله شده، کاهش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانها، و عملکرد نامطلوب سیستم آنتی‌اکسیدان اتفاق می افتد (۱۸و۱۹). علاوه بر این، اخیراً، نظریه جدید رادیکالها در ارتباط با امکان ایجاد اختلال مستقیم بر DNA توسط افزایش فعالیت رادیکالهای آزاد اکسیژنی، توسط مطالعات روی باکتریها و مدلهای حیوانی، تایید شده است (۲۰). این مورد میتواند در ارتباط با پیشرفت نارسایی کلیوی به دنبال آسیب اکسیداتیو DNA باشد (۲۱). درجه آسیب اکسیداتیو DNA، بین افراد مختلف طیف گسترده‌ای دارد (۲۲) و به نظر می‌رسد که هم رژیمهای غذایی و هم ژنتیک ، مسئول این عوامل باشند (٤). اخیراً امکان تاثیر مستقیم ژنتیک و پاسخ به استرسهای اکسیداتیو بررسی شده است(۲۰). از اواسط سال ۱۹۹۰، کارهای قابل توجهی روی پلی‌مورفیسم ژنی سیستم رنین – آنژیوتانسین به عنوان قسمتی از عوامل موثر در فاکتورهای پیش‌بینی کننده ایجاد بیماریهای کلیوی انجام شده است(۲۳). از طرفی، عملکرد مزمن نامناسب پیوند، مهمترین عامل از دست دادن کلیه پیوندی میباشد. عواملی که منجر به این اختلال می‌شوند کاملا شناخته شده نیستند، ولی ترکیبی از علل زمینه‌ای بیماریهای کلیوی و فاکتورهای محیطی و ژنتیکی به عنوان عوامل عملکرد مزمن نامناسب پیوند معرفی شده اند. بنابراین تعیین ژنهایی که فعالیت سیستم رنین – آنژیوتانسین را تنظیم می کند مهم است چرا که، فعالیت این سیستم منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود و اخیرا گزارش شده است که فعالیت‌های متعدد این سیستم در ارتباط با عملکرد ضعیف طولانی مدت کلیه پیوندی بوده و منجر به کاهش بقاء پیوند می‌شود (٢٤).

مطالعات نشان داده است که در بیماران پیوند کلیه‌ای، بلوک سیستم رنین – آنژیوتانسین، توسط انالاپریل و لوزارتان، نقش محافظت کننده ای در برابر استرسهای اکسیداتیو داشته است (۱۲و۱۳). نتایج ما یافته های مطالعات قبلی را دال بر نقش انالاپریل و لوزارتان در کاهش استرس اکسیداتیو بیماران پیوند کلیه‌ای تایید کرد.

شواهد اندکی مبنی بر اثرات مهارگرهای آنزیم مبدل آنژیوتانسین و بلوکرهای رسپتور آنژیوتانسین بر روی کاهش آسیب اکسیداتیو DNA وجود دارد، و همه این مطالعات روی مدلهای حیوانی انجام شده است، برای مثال، Krivosikova و همکارانش نشان دادند که لوزارتان به طور قابل توجهی مانع شکست DNA میشود (۹). در مطالعه دیگر، اثر آنتی‌اکسیدانی داخل سلولی مهارگرهای آنزیم مبدل آنژیوتانسین و بلوکرهای رسپتور آنژیوتانسین تایید شده است (۲۵). اما هیچ مدرکی در ارتباط با اثر پلی‌مورفیسم سیستم رنین – آنژیوتانسین بر روی آسیب DNA سلولی و همچنین پاسخ به مواد آنتی‌اکسیدانی در بیماران پیوند کلیه‌ای وجود ندارد. تنها مطالعه ای نشان داده که ژنوتیپ‌های AA آنژیوتانسینوژن، DD آنزیم مبدل آنژیوتانسینوژن با کاهش عملکردکلیه پیوندی همراه بوده است (٢٦).

در این مطالعه، برای اولین بار، اثر انالاپریل و/ یا لوزارتان بر آسیب DNA سلولی در بیماران پیوند کلیه‌ای با پلی‌مورفیسم‌های ژنی سیستم رنین– آنژیوتانسین، مورد بررسی قرار گرفته و یافته‌های ما حاکی از آنست که درمان همزمان انالاپریل و لوزارتان و همچنین لوزارتان به تنهایی غلظت آسیب DNA را کاهش می دهد، در حالیکه، انالاپریل به تنهایی چنین اثری را نداشته است. علاوه بر این، مطالعه حاضر، نشان داد که ژنوتیپ DD آنزیم مبدل آنژیوتانسینوژن و ژنوتیپ CC رسپتور

آنژیوتانسینوژن سطوح بالاتری از آسیب DNA سلولی دارند و جالب‌تر آنکه، تنها ژنوتیپ TT ژن آنژیوتانسینوژن در پاسخ آنتی‌اکسیداتیو داروهای مذکور نقش پیشگویی کننده دارند.
در مطالعه ای ، آسیب DNA با افزایش سطوح مالون دآلدهید مرتبط بوده است(۲۷). در مطالعه ما، ارتباط معنی‌داری بین شکست DNA و سطح مالون دآلدهید در بیماران کلیوی ثابت شد.

نتیجه گیری

به طور خلاصه، اگرچه سطح سرمی ۸–OHdG در پلی‌مورفیسم‌های ژنی ژنوتیپ DD آنزیم مبدل آنژیوتانسینوژن و ژنوتیپ CC رسپتور آنژیوتانسینوژن بیشتر است، اما اثر محافظتی علیه شکست DNA به دنبال تجویز لوزارتان و انالاپریل، تنها با ژنوتیپ TT ژن آنژیوتانسینوژن مرتبط است.

تقدیر و تشکر

این مقاله قسمتی از پروژه‌ای است که با حمایت مرکز تحقیقات کاربردی – دارویی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شده است. از همکاری کارکنان درمانگاه تخصصی و فوق تخصصی شیخ‌الرئیس در انجام این مطالعه نهایت تشکر و قدردانی را داریم. در نهایت این مطالعه به تمام بیمارانی که در تمام دوره این مطالعه همکاری لازم را با ما داشتند تقدیم می‌گردد.

References

1. De Groot H. Reactive oxygen species in tissue injury. *Hepatogastroenterology* 1994; **41**(5): 328-332.
2. Basaga HS. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol* 1990; **68**(7-8): 989-998.
3. Floyd RA. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *FASEB J* 1990; **4**(9): 2587-2597.
4. Halliwell B. Why and how should we measure oxidative DNA damage in nutritional studies? How far have we come?. *Am J Clin Nutr* 2000; **72**(5): 1082-1087.
5. Kuchino Y, Mori F, Kasai H, Inoue H, Iwai S, Miura K, et al. Misreading of DNA templates containing 8-hydroxydeoxyguanosine at the modified base and at adjacent residues. *Nature* 1987; **327**(6117): 77-79.
6. Shi M, Takeshita H, Komatsu M, Xu B, Aoyama K, Takeuchi T. Generation of 8-hydroxydeoxyguanosine from DNA using rat liver homogenates. *Cancer Sci* 2005; **96**(1): 13-18.
7. Arnett SD, Osbourn DM, Moore KD, Vandaveer SS, Lunte CE. Determination of 8-oxoguanine and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in the rat cerebral cortex using microdialysis sampling and capillary electrophoresis with electrochemical detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2005; **827**(1): 16-25.
8. Vural A, Yilmaz MI, Caglar K, Aydin A, Sonmez A, Eyileten T, et al. Assessment of oxidative stress in the early posttransplant period: comparison of cyclosporine A and tacrolimus-based regimens. *Am J Nephrol* 2005; **25**(3): 250-255.
9. Krivosikova Z, Dusinska M, Spustova V, Sebekova K, Blazicek P, Heidland A, et al. DNA damage of lymphocytes in experimental chronic renal failure: beneficial effects of losartan. *Kidney Int Suppl* 2001; **78**: 212-215.
10. Mailloux LU, Napolitano B, Bellucci AG, Vernace M, Wilkes BM, Mossey RT. Renal vascular disease causing end-stage renal disease, incidence, clinical correlated, and outcomes: a 20-year clinical experience. *Am J Kidney Dis* 1994; **24**(4): 622-629.
11. Akcay A, Ozdemir FN, Atac FB, Sezer S, Verdi H, Arat Z, et al. Angiotensin-converting enzyme genotype is a predictive factor in the peak panel-reactive antibody response. *Transplant Proc* 2004; **36**(1): 35-37.
12. Yavuz D, Koc M, Toprak A, Akpinar I, Velioglu A, Deyneli O, et al. Effects of ACE inhibition and AT1-receptor antagonism on endothelial function and insulin sensitivity in essential hypertensive patients. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2003; **4**(3):197-203.
13. Bayorh MA, Ganafa AA, Eatman D, Walton M, Feuerstein GZ. Simvastatin and losartan enhance nitric oxide and reduce oxidative stress in salt-induced hypertension. *Am J Hypertens* 2005; **18**(11): 1496-1502.
14. Bartosz M, Kedziora J, Bartosz G. Antioxidant and prooxidant properties of captopril and enalapril. *Free Radic Bio Med* 1997; **23**(5): 729-735.
15. Frishberg Y, Becker-Cohen R, Halle D, Feigin E, Eisenstein B, Halevy R. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and the outcome of focal segmental glomerulosclerosis in children. *Kidney Int* 1998; **54**(6): 1843-1849.
16. Toyokuni S, Tanaka T, Hattori Y, Nishiyama Y, Yoshida A, Uchida K, et al. Quantitative immunohistochemical determination of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine by a monoclonal antibody N45.1: its application to ferric nitrilotriacetate-induced renal carcinogenesis model. *Lab Invest* 1997; **76**(3): 365-374.
17. Yagi K. Lipid peroxides in hepatic, gastrointestinal, and pancreatic diseases. *Adv Exp Med Biol* 1994; 366: 165-169.

18. Vaziri ND, Oveisi F, Ding Y. Role of increased oxygen free radical activity in the pathogenesis of uremic hypertension. *Kidney Int* 1998; **53**(6): 1748-1754.
19. Collins AR, Dusinska M, Gedik CM, Stetina R. Oxidative damage to DNA: do we have a reliable biomarker? *Environ Health Perspect* 1996; **104**: 465-469.
20. Demple B. Genetic responses against nitric oxide toxicity. *Braz J Med Biol Res* 1999; **32**(11): 1417-1427.
21. Vamvakas S, Bahner U, Becker P, Steinle A, Gotz R, Heidland A. Impairment of DNA repair in the course of long-term hemodialysis and under cyclosporine immunosuppression after renal transplantation. *Transplant Proc* 1996; **28**(6): 3468-3473.
22. Halliwell B. Can oxidative DNA damage be used as a biomarker of cancer risk in humans? Problems, resolutions and preliminary results from nutritional supplementation studies. *Free Radic Res* 1998; **29**: 469-486.
23. Frimat L, Philippe C, Maghakian MN, Jonveaux P, Hurault de Ligny B, et al. Polymorphism of angiotensin converting enzyme, angiotensinogen, and angiotensin II type 1 receptor genes and end-stage renal failure in IgA nephropathy: IGARAS--a study of 274 Men. *J Am Soc Nephrol* 2000; **11**(11): 2062-2067.
24. Slowinski T, Diehr P, Kleemann P, Fritsche L, Renders L, Budde K, and et al. No association between renin-angiotensin system gene polymorphisms and early and long-term allograft dysfunction in kidney transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; **19**(11): 2846-2851.
25. Da Ros R, Assaloni R, Ceriello A. Molecular targets of diabetic vascular complications and potential new drugs. *Curr drug targets* 2005; **6**(40): 503-509.
26. Abdi R, Tran TB, Zee R, Brenner BM, Milford EL. Angiotensin gene polymorphism as a determinant of posttransplantation renal dysfunction and hypertension. *Transplantation* 2001; **72**(2): 726-729.
27. Martinez-Alfaro M, Palma-Tirado L, Sandoval-Zapata F, Carabez-Trejo A. Correlation between formamidopyrimidine DNA glycosylase (Fpg)-sensitive sites determined by a comet assay, increased MDA, and decreased glutathione during long exposure to thinner inhalation. *Toxicol Lett* 2005; [Epub ahead of print].