تغییرات سطح سرمی گرانزیم B در تشخیص رد حاد کلیه پیوندی

دکتر نصرت اله ضرغامی*؛ دکتر سعید صمدزاده**؛ دکتر حبیب اله فانی***؛ بهرنگ علنی****

چکیده

سابقه وهدف: *رد حاد پیوند کلیه اختلال التهابی شایعی است که منجر به کاهش نیمه‌عمر عضو پیوندی می‌گردد. این نارسایی از طریق روش تهاجمی نمونه‌برداری سوزنی از کلیه پیوندی مشخص می‌شود؛ بنابراین ایجاد روش تشخیصی سریع و غیرتهاجمی در رد حاد پیوند کلیه، بقای بافت پیوندی را بهبود خواهد بخشید.*

مواد و روش‌ها : *در این مطالعه توصیفی- تحلیلی تعداد ۳۲ بیماری که در بیمارستان امام خمینی ارومیه تحت پیوند کلیه قرار گرفته بودند ، بررسی شدند. از هر بیمار ۵ نمونه خون وریدی به صورت پیوسته و از روز دوم تا بیستم پس از پیوند گرفته شد و میزان آنزیم گرانزیم B به روش الیزا در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، درموارد شک به رد حاد، بیماران تحت بیوپسی سوزنی از کلیه قرار گرفتند. سپس بیماران طی ۹ الی۱۲ ماه از نظر وضعیت بافت پیوندی پی‌گیری شدند.*

یافته‌ها: *بررسی‌ها نشان داد ۱۳ بیمار (۴۰/۵٪) با میانگین سنی ۳۳ سال و مدت دیالیز ۱۸ ماه عملکرد بافت پیوندی پایدار داشتند. میانگین سرمی گرانزیم B این بیماران در تمام نمونه‌ها کمتر از ۱۴۸ واحد در میلی‌لیتر بود. ۱۹ بیمار (۵۹/۵٪) عملکرد بافت پیوندی ناپایداری داشتند که در ۶ بیمار (۱۹٪) رد حاد و در ۱۳ بیمار علل دیگر دخیل بود. میانگین سن این بیماران ۴۳/۷۴ سال و میانگین مدت دیالیز ۲۷ ماه بود. میزان سرمی آنزیم گرانزیم B در رد حاد پیوند در نمونه اول (روز ۵-۲) ۴۶/۲۵ ± ۲۵۰/۲۰ در نمونه دوم (روز۸-۶) ۴۹/۹۲ ± ۲۸۶/۵۰ در نمونه سوم (روز ۱۱-۹) ۶۸/۴۰ ± ۲۷۵/۶۰ و در نمونه چهارم (روز۱۶-۱۲) ۸۶/۱۴ ±۲۵۳/۱۷ واحد در میلی‌لیتر بود و اختلاف نسبت به دو گروه دیگر از لحاظ آماری معنادار بود (P<۰/۰۵). در نمونه پنجم (روز ۲۰-۱۷) میانگین سرمی گرانزیم B درگروه رد حاد ۲۹ ±۱۵۸/۱۷ واحد به میلی‌لیتر بوده و اختلاف معناداری با دو گروه دیگر نداشت.*

بحث: *بر اساس این مطالعه شاید بتوان گفت اندازه‌گیری پیوسته گرانزیم B خون محیطی به روش الیزا در سه هفته اول پس از پیوند کلیه یک روش غیرتهاجمی و سریع در تشخیص رد پیوند کلیه می‌باشد. افت محسوس گرانزیم B در اواخر هفته سوم و پس از درمان ضد رد حاد پیوند می‌تواند در ارزیابی پاسخ به درمان ضد درد پیوند کمک‌کننده باشد.*

کلید واژه‌ها: *رد حاد پیوند کلیه، آنزیم گرآنزیم، دیالیز*

« دریافت:۸۴/۶/۲۸ پذیرش:۸۵/۵/۲۵»

---

*دانش‌یار گروه بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

**دانش‌یار ارولوژی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

***دست‌یار ارولوژی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

****مربی بیولوژی سلولی و ملکولی و عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی کاشان ، د انشکده پزشکی گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی

***عهده‌دار مکاتبات:** تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، تلفن:۳۳۶۳۲۳۴ داخلی ۲۴۱.

Email: nzarghami@hotmail.com

مقدمه

پیوند کلیه مؤثرترین درمان نارسایی مزمن و پیشرفته کلیه است. در سرتاسر جهان سالانه ده‌ها هزار مورد از چنین عملی صورت می‌گیرد (۱). نقص عضو پیوندی[1] یکی از چهار علت بسیار شایع بیماری مرحله پایانی کلیه[2] در کشور آمریکا می‌باشد. همچنین درحدود ۲۰ درصد بیمارانی که در فهرست انتظار برای پیوند می‌باشند، کسانی هستند که قبلاً پیوند شده‌اند و ۱۵درصد جراحی‌های اختصاصی پیوند به‌علت تکرار پیوند است. حدود ۳۵ درصد افراد گیرنده پیوند، یک فرایند رد حاد پیوند را در طول سال اول بعد از پیوند تجربه می کنند و نیمه‌عمر عضو پیوندی در بیمارانی که یک فرایند رد حاد پیوند داشته‌اند،۴ سال کوتاه‌تر از بیمارانی است که هیچ‌گونه رد پیوند نداشته‌اند (۲ و۳). رد حاد[3] معمولاً طی روزها تا هفته‌ها پس از پیوند روی می‌دهد. این نارسایی یک اختلال التهابی سیستمیک است که ممکن‌است با نشانه‌های مزاجی همچون تب، لرز، درد عضلانی و درد مفاصل همراه باشد. رد حاد پیوند می‌بایست سریعاً تشخیص داده شود تا درمان مناسب آن شروع شود و از آسیب غیرقابل برگشت ناپذیر جلوگیری گردد (۴). لنفوسیت‌های T نقش کلیدی در دفاع بدن علیه بیماری‌ها دارند و عامل مهمی در رد پیوند می باشند. گرچه مکانیسم رد پیوند ناشناخته می‌باشد، ولی اعتقاد بر این است که لنفوسیت‌های T سایتوتوکسیک در این اختلال نقش مهمی را ایفا می‌نمایند. به‌کارگیری تکنولوژی نوترکیبی DNA منجر به شناسایی آن دسته از ژن‌هایی شده که در سلول‌های سایتوتوکسیک بیان شده‌اند و در ارتباط با سمیت سلولی می‌باشند. این ژن‌ها متعلق به یک خانواده از سرین پروتئاز[4] بوده که جدیداً به‌نام گرانزیم‌ها[5] نام‌گذاری شده‌اند(۵). پرفورین[6] که در سلول‌های T سایتوتوکسیک ذخیره و ترشح می‌گردد، سوراخ‌هایی در غشا سلول‌های هدف ایجاد می‌کند که ورود گرانزیم B را از سلول‌های T سایتوتوکسیک به‌داخل سلول‌های هدف تسهیل می‌نماید. گرانزیم B مولکولی با وزن ۲۹ کیلودالتون از طریق فعال‌کردن کاسپاز سه[7] منجر به شکسته‌شدن DNA و مرگ سلولی می‌گردد. گرآنزیم B سرین پروتئازی است که در گرانول‌های لنفوسیت‌های سیتوتوکسیک فعال ودر سلول‌های NK ذخیره می‌گردند. بیان گرآنزیم‌ها در بافت‌ها می‌تواند به‌عنوان مارکر فعال برای سلول‌های سیتوتوکسیک مورد استفاده قرارگیرد. ابتدا آنتی‌بادی‌های مونوکلونال اختصاصی برای بیان گرآنزیم B در روش‌های ایمنوهیستوشیمیایی برای جستجوی سلول‌های لنفوسیت انفیلتره‌شده در رد حاد آلوگرافت‌های کلیه مورد استفاده قرار می‌گیرد و به همین دلیل است که استفاده از تغییرات مولکولی بیان ژن گرآنزیم B در روزهای اولیه بعد از پیوند کلیه به‌دلیل فراهم کردن زمینه ارزیابی فعالیت سیستم ایمنی در پاسخ به پیوند فراهم شده است (۶ و۷). روش استاندارد برای

1. Allograft failure
2. End stage Renal Disease
3. Acute Rejection
4. Serine protease
5. Granzymes
6. perforin
7. Caspase-3

تشخیص رد حاد پیوند کلیه، نمونه‌برداری سوزنی از عضو پیوندی می‌باشد. به‌رغم پیشرفت‌های اخیری که در خصوص بیوپسی صورت گرفته و عوارض همراه با بیوپسی را کاهش داده، ولی کاملاً این عوارض را برطرف نکرده است (۲)؛ بنابراین برقراری یک روش تشخیصی که غیرتهاجمی باشد و از دقت تشخیص بالایی برخوردار باشد، در بیماران با پیوند کلیه ارزش قابل‌توجهی خواهد داشت. از اینرو با مطالعه و تلاش‌های صورت‌گرفته در این خصوص، روش الیزا به عنوان یک روش حساس برای اندازه‌گیری میزان گرانزیم B در خون محیطی به‌صورت پیوسته و در طی سه هفته اول پس از پیوند کلیه اندازه‌گیری می‌گردد. همچنین مقادیر آنزیم گرانزیم B در خون محیطی بیماران با اختلال عملکرد حاد کلیه پیوندی و بیماران با عملکرد پایدار کلیه پیوندی اندازه‌گیری شده و نتایج به‌دست آمده با نتایج حاصل از نمونه‌برداری بافت پیوندی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۳۲ بیماری که در بیمارستان امام خمینی ارومیه تحت عمل پیوند کلیه قرارگرفتند، مورد تحقیق و بررسی قرار گرفتند. بیماران مورد مطالعه تعداد ۱۳ زن (۴۰/۵٪) و ۱۹ مرد (۵۹/۵٪) با میانگین سنی ۳۹/۳۸ سال (با محدوده سنی ۶۳-۱۷ سال) بودند. تمامی پیوندها از دهنده زنده صورت گرفت که ۳۰ نفر غیرخویشاوند و ۲ مورد خویشاوند درجه اول بودند. سونوگرافی از کلیه پیوندی، اسکن هسته ای DTPA و سونوگرافی داپلر رنگی و همچنین بیوپسی از کلیه پیوندی براساس شرایط بیمار صورت گرفت.

برای بررسی آنزیم گرانزیم B، در پنج نوبت و در روزهای مختلف شامل روز۵-۲، روز۸-۶، روز ۱۱-۹، روز ۱۶-۱۲ و روز ۲۰-۱۷ بعد از پیوند، 5^{cc} نمونه خون وریدی دریافت و براساس کد بیمار و روز دریافت نمونه کدبندی شد. نمونه‌ها در دور g *۳۵۰۰ سانتریفیوژ شدند و سرم نمونه‌ها پس از جداسازی تا زمان اندازه‌گیری آنزیم در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

عملکرد کلیه پیوندی بیماران بر اساس کراتینین سرمی اندازه‌گیری و ثبت شد. برای اندازه‌گیری میزان آنزیم گرانزیم B، کیت الیزا[1] آنزیم گرانزیمB انسانی[2] از نوع ساندویچ (کیت شرکت Pelikine هلند) حاوی آنتی‌بادی مونوکلونال بر ضد گرانزیم B انسانی مورد استفاده قرار گرفت (۸). در اولین قدم گرانزیم B از طریق چسباندن آن به پلیت پوشیده از آنتی‌بادی ضد آن غیرمتحرک و ساکن شد. کمپلکس حاصله با افزودن آنتی‌بادی ثانویه پلی‌کلونال که با آنزیم horseradish-peroxidase (HRP) کنژوگه شده بود، متصل می‌شود. با اضافه‌کردن محلول سوبسترای حاوی TMB[3] و آب‌کسیژنه به کمپلکس حاصله واکنش رنگی صورت گرفت و مقدار رنگ ایجادشده در طول موج ۴۵۰ نانومتر از طریق دستگاه الیزا[4] اندازه‌گیری شد. با قرار دادن مقادیر جذب‌شده از نمونه‌ها در منحنی استاندارد به‌دست آمده، غلظت گرانزیم B انسانی نمونه‌های مجهول به‌دست آمد. به‌دلیل ماهیت ترشحی گرآنزیم در سلول‌ها در مایعات بیولوژیک

1. Enzyme Linked Immunoassay(ELIZA)
2. Cat. No. M1936 Amsterdam Netherlands Pelikine Compact
3. 1, 2, 3, 5- tetramethybenzene
4. Stat fax 260011 Awarenss USA Microtiter plate reader

و ردیابی آن با روش مذکور از کنترل مثبت استفاده گردید که در محتویات روش مورد استفاده وجود دارد و حداقل تعداد ۴۰۰ سلول سیتوتوکسیک تولیدکننده گرآنزیم برای مثبت‌شدن این آزمایش مورد نیاز است.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ازآزمون T مستقل استفاده شد. معنادار بودن آماری برای P<۰/۰۵ کلیه آزمون‌های آماری دودنباله در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بیماران به مدت ۳۰۶ روز (۵۷ تا ۳۹۷ روز) پی‌گیری شدند. در پایان پی‌گیری تعداد ۱۳ بیمار از کل ۳۲ بیمار (۴۰/۵٪) عملکرد بافت پیوندی پایداری داشتند و هیچ‌گونه اختلال و ناسازگاری بافت کلیه پیوندی یافت نشد، ۴ بیمار (۳۰/۸٪) زن و ۹ بیمار (۶۹/۲٪) مرد بودند که میانگین سنی آن‌ها ۳۳ سال و مدت دیالیز آن‌ها ۱۸ ماه بود. میزان کراتینین سرمی در این بیماران پس از عمل و تا پایان پی‌گیری کمتر از ۱/۵ میلی‌گرم در دسی لیتر بود. ۲ مورد اسکن هسته‌ای با DTPA و چهار مورد سونوگرافی طبیعی و در۲ مورد سونوگرافی، کاهش خفیف اکوی پارانشیم گزارش شد. ۴ بیمار به‌علت افزایش مختصر کراتینین سرمی (۰/۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر یا کمتر) و با کاهش میزان برونده ادراری تحت درمان با پالس کورتون به‌مدت سه تا پنج روز قرارگرفتند. هیچ‌کدام از این ۱۳ بیمار طی مدت پی‌گیری مشکلی نداشتند.

در نوزده بیمار (۵۹/۵٪) طی بستری یا دوران پی‌گیری بافت پیوند عملکرد مناسبی نداشت که شامل ۹ زن (۴۷/۴٪) و ۱۰ مرد (۵۲/۶٪) با میانگین سنی ۴۳/۷۴ سال و میانگین زمان دیالیز ۲۷ ماه بود. ۱۰ مورد از ۱۵ مورد اسکن هسته ای و تمام ۷ مورد سونوگرافی داپلر رنگی یافته غیرطبیعی نشان دادند. در ۹ مورد بیوپسی انجام‌شده دو مورد نمونه بافتی ناکافی بود و نتیجه بافتی کمک‌کننده نبود. ۶ مورد مطرح‌کننده رد حاد و یک مورد نشانه نکروز توبولی حاد بود. ۷ بیمار این گروه به‌علت اختلال عملکرد بافت پیوندی گلوبولین ضد لمفوسیت، سه بیمار پالس کورتون و ۹ بیمار ابتدا گلوبولین ضد لمفوسیت به‌مدت ۱۴ روز و سپس پالس کورتون دریافت نمودند. کراتینین در این بیماران در طول بستری پس از عمل و یا در طی پی گیری بالا بود. از نظر سن و مدت زمان دیالیز اختلاف بین دو گروه عملکرد پایدار و ناپایدار معنادار بود (P<۰/۰۵).

بیماران براساس شرایط عملکرد بافت پیوندی در سه گروه قرار گرفتند. مقادیر کراتینین و آنزیم گرانزیم B در هر گروه مشخص شد و مورد آنالیز آماری قرار گرفت. گروه اول (۱۳ بیماربا ۴۰/۵٪) دارای عملکرد پایدار بافت پیوندی بودند. گروه دوم (۱۳ بیماربا ۴۰/۵٪) اختلال عملکرد به علل دیگر غیر از موارد رد حاد را داشتند که شامل سه مورد تنگی شریان، یک مورد ترومبوز وریدی، یک مورد رد فوق حاد، دو مورد نکروز توبولی حاد، یک مورد مسمومیت کلیوی در زمینه سیکلوسپورین بود و در ۵ مورد علت شناخته نشد. در گروه سوم (۶ بیمار یا ۱۹٪) اختلال عملکرد به‌علت رد حاد کلیه بود.

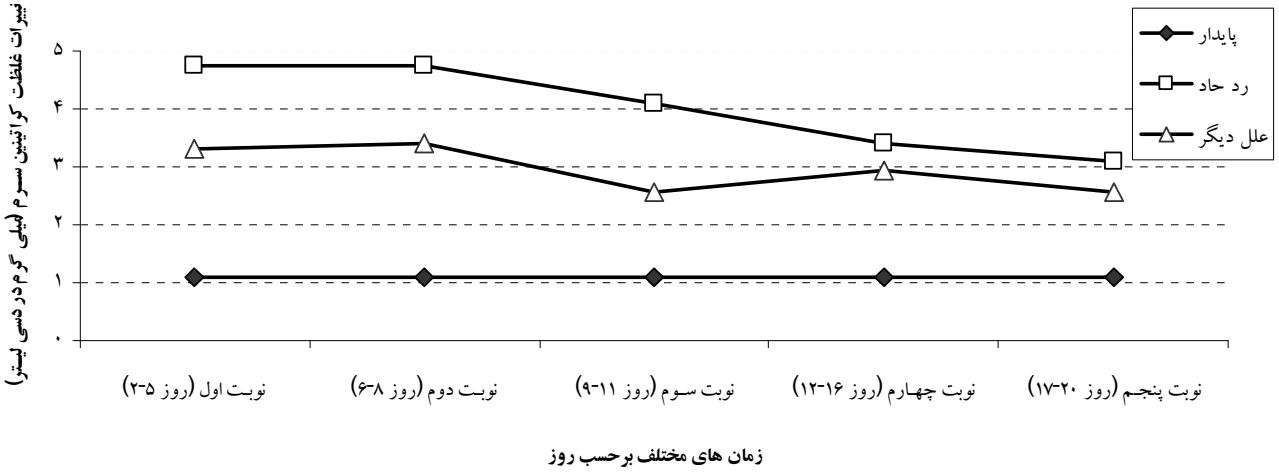
اندازه‌گیری مقدار آنزیم گرانزیم B در نمونه خونی ۳۲ بیمار نشان داد که حداقل و حداکثر میزان آنزیم به‌ترتیب ۷ و ۴۵۶ واحد در میلی‌لیتر بود. میانگین سرمی آنزیم گرانزیم B در تمام ۵ نوبت اندازه‌گیری کمتر از ۱۵۰

واحد در میلی‌لیتر بود. مقادیر متوسط کراتینین سرمی و گرانزیم B گروه سوم (رد حاد) نسبت به دو گروه دیگر بیشتر بود. برای کراتینین سرمی تنها اختلاف گروه سوم با گروه اول قابل‌توجه بود ($P<0.05$) ،در حالی‌که میزان سرمی آنزیم گرانزیم B در نمونه‌های سرمی گروه سوم (بیماران با رد حاد) به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از گروه اول و گروه دوم بود ($P<۰/۰۵$). نمونه پنجم گروه سوم هر دو آنزیم با گروه‌های اول ودوم اختلاف معناداری نداشت (جداول ۱ و ۲).

بیشترین مقدار متوسط گرانزیم B و کراتینین سرمی گروه سوم (رد حاد) در نمونه خونی اول و دوم و کمترین مقدار متوسط آن در گروه پنجم بود. الگوی تغییرات گرانزیم B در بیماران بعد از پیوند با نشانه رد حاد در نمودارهای ۱ و۲ نشان داده شده است.

جدول ۱– مقایسه میانگین و انحراف معیار تغییرات گرانزیم B در سه گروه پایدار، رد حاد و ا علل دیگر در زمان‌های مختلف

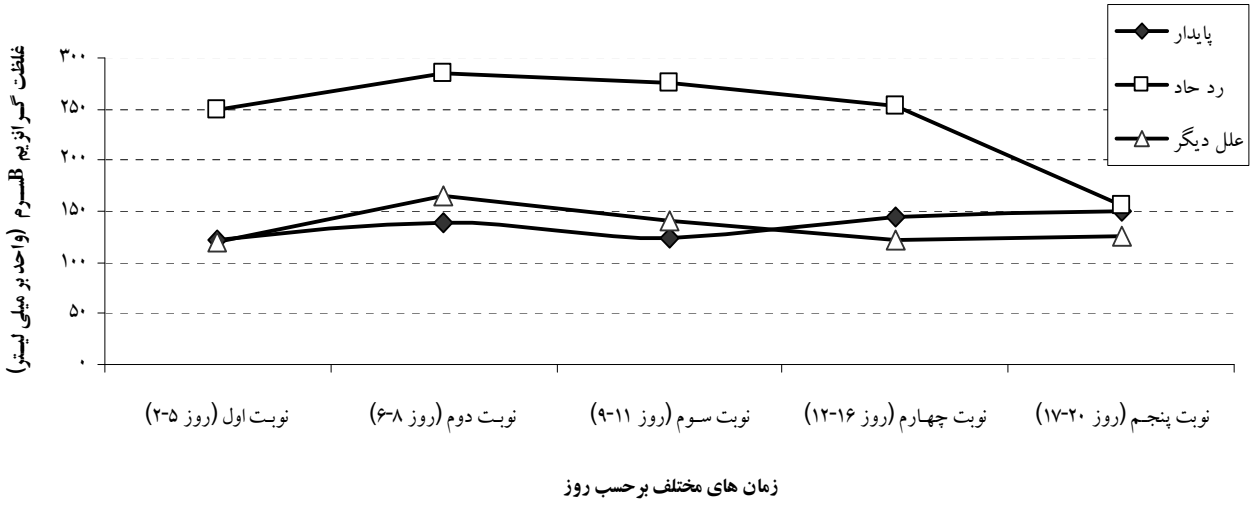
	نوبت اول (روز ۵-۲)	نوبت دوم (روز۸-۶)	نوبت سوم (روز ۱۱- ۹)	نوبت چهارم (روز۱۶-۱۲)	نوبت پنجم (روز۲۰-۱۷)
پایدار	۱۱۸/۷۵ ±۲۱/۷۵	۱۳۵/۱۵± ۲۴/۹۲	۱۲۰/۶۷ ± ۲۸/۴۴	۱۴۱/۹۲ ± ۷۰/۱۶	۱۴۸/۴۴ ± ۴۸/۳۰
رد حاد	۲۵۰/۲۰ ± ۴۶/۲۵	۲۸۶/۵۰ ± ۴۹/۹۲	۲۷۵/۶۰ ± ۶۸/۴۰	۲۵۳/۱۷ ± ۸۶/۱۴	۱۵۸/۱۷ ± ۲۹
علل دیگر	۱۱۶/۵۸ ±۳۲/۹۶	۱۶۸/۲۵ ±۲۹/۹۸	۱۳۶/۰۰ ± ۲۲/۹۰	۱۱۹/۰۰ ± ۲۹/۲۱	۱۲۹/۰۰ ±۲۵/۶۱



نمودار۱– نمودار تغییرات مقادیر کراتینین سرم در گروه‌های سه‌گانه در روزهای مختلف

جدول ۲– مقایسه میانگین و انحراف معیار تغییرات کراتینین سرمی در سه گروه پایدار، رد حاد و با علل دیگر در زمان‌های مختلف

	نوبت اول (روز۵-۲)	نوبت دوم (روز۸-۶)	نوبت سوم (روز ۱۱-۹)	نوبت چهارم (روز۱۶-۱۲)	نوبت پنجم (روز ۲۰-۱۷)
پایدار	۱/۱۰۰ ± ۰/۰۳	۱/۰۷۷ ±۰/۰۳	۱/۰۸۵ ±۰/۰۴	۱/۱۰۸ ±۰/۰۴	۱/۱۱۷ ± ۰/۰۵
رد حاد	۴/۷۳۳ ±۰/۱۰	۴/۷۳۳ ±۰/۱۲	۴/۰۸۳ ±۰/۱۹	۳/۳۳۳ ±۰/۱۲	۳/۱۰۰ ±۰/۱۵
علل دیگر	۳/۳۳ ±۰/۰۹	۳/۴۰۸ ±۰/۱	۲/۵۵ ±۰/۰۹	۲/۹۶۷ ±۰/۰۸	۲/۵۸۳ ±۰/۱۰



نمودار۲– نمودار خطی تغییرات مقادیر گرانزیم B در گروه های سه گانه در روزهای مختلف

بحث

در این مطالعه مقدار آنزیم گرانزیم B خون از روز دوم پس از پیوند در گروه رد حاد پیوند کلیه نسبت به دو گروه با عملکرد پایدار و عملکرد ناپایدار به علل دیگر افزایش قابل‌توجهی نشان داد. این افزایش در نمونه‌گیری دوم گروه سوم (رد حاد) یا روز ۸-۶ نسبت به دو گروه دیگر به اوج خود رسید و سپس تا روز ۱۶ پس از عمل افت تدریجی پیدا کرد و روز ۲۰-۱۷ میزان گرانزیم سرمی افت شدیدی نمود.

تغییرات آنزیم گرانزیم B در مطالعات Sedlmeyer و همکارانش مشاهده شد. این گروه در مطالعات خود در روی موش‌های پیوند شده نشان دادند که افزایش گرانزیم B در روز پنجم به اوج خود می‌رسد. این مقدار در روز هفتم مقداری افت پیدا می‌کند و در روز ۲۱ شدیداً افت می‌نماید (۹). زمان به اوج‌رسیدن در مطالعه آن‌ها کمی زودتر از مطالعه ما بوده، ولی در مطالعه دیگر توسط Simon و همکارانش این زمان کمی دیرتر روی داده است. آن‌ها با اندازه‌گیری پیوسته نمونه‌های خونی از روز ۵ تا ۲۹ پس از پیوند (در۶ نوبت) بهترین نتیجه تشخیصی را در نمونه‌های روز۱۰-۸ با یک حساسیت ۸۷ درصد و

ویژگی ۷۲ درصد برای آنزیم گرانزیم نشان دادند. آن‌ها همچنین کاهش در عرضه پرفورین و آنزیم گرانزیم B را پس از شروع درمان ضد رد پیوند نشان دادند (۱۰). این کاهش در مقدار آنزیم گرانزیم B پس از شروع درمان در مطالعه ما نیز به‌خوبی نمایان شد. به‌طوری‌که در ۴ بیمار از ۶بیمار با رد حاد پیوندکلیه پس از شروع درمان گرانزیم B کاهش داشت و در۲ بیماری که از روز دوم پس از پیوند تحت درمان ضد رد پیوند قرار گرفتند، مقدار گرانزیم افزایش خفیف تا متوسط را نشان‌داده است، اما ۴ بیمار دیگر افزایش شدید گرانزیم B را داشتند.

در مطالعه ما از ۱۳ بیمار با عملکرد مناسب ۴ بیمار (۳۰/۸٪) تحت درمان کوتاه‌مدت پالس کورتون قرار گرفتند. از این چهار بیمار در ۲ بیمار مقدار آنزیم گرانزیم B در حد متوسط برای این گروه بود ،ولی ۲ بیمار دیگر افزایش شدید آنزیم گرانزیم B را نشان دادند (به میزان بیماران با رد پیوند). بیوپسی دراین ۴ بیمار انجام نشد تا در موارد تحت بالینی رد پیوند افزایش گرانزیم کمتر از ۱۰درصد پایه و ضایعه پاتولوژی درجه یک یا بیشتر براساس معیارBanff ارزیابی دقیق انجام شود. Lipman و همکاران تعیین نمودند که مقادیر گرانزیم B در بیماران با رد حاد تحت بالینی برابر با مقادیر گرانزیم B در افراد با رد حاد بالینی می‌تواند باشد (۱۱).

همچنین Li و همکارانش نشان دادند که ۳۰ درصد بیوپسی‌های بافت پیوندی در افراد با کراتینین طبیعی و یا در وضعیت پایدار پس از درمان مؤثر ضد رد پیوند، موارد رد حاد را نشان داده اند (۳). در ۲ بیمار از ۱۳ بیمار با عملکرد پایدار بافت پیوندی و بدون هیچ‌گونه افزایشی در کراتینین با یافته تصویربرداری دال بر رد پیوند و یا درمان ضد رد پیوند، میزان گرانزیم B سرمی بالایی را نشان دادند (از۱۵۰الی ۲۸۴ واحد در میلی‌لیتر). بیوپسی در این ۲ بیمار انجام نشد تا موارد مثبت کاذب آزمایش مشخص گردد یا اینکه این‌ها به‌عنوان موارد حد مرزی یا تحت بالینی قلمداد شود.

نتیجه‌گیری

ما با این مطالعه نشان دادیم که اندازه‌گیری گرانزیم B خون محیطی به روش الیزا در بیماران با پیوند کلیه شاید یک روش غیر تهاجمی و مفید در تشخیص رد حاد پیوند کلیه باشد که در زمان اندکی پس از پیوند (از روز دوم تا پنجم) در موارد مشکوک به رد حاد افزایش می یابد و در روز ششم تا هشتم به اوج خود می‌رسد. همچنین در موارد شروع درمان و اواخر هفته سوم پس از پیوند کاهش می‌یابد؛ لذا از آن نیز می‌توان به‌عنوان نشانه‌ای برای درمان موثر ضد رد حاد پیوند کلیه به کار برد.

تشکر و قدردانی

از تشریک مساعی کارکنان بخش پیوند کلیه بیمارستان امام خمینی ارومیه و نیز آزمایشگاه تخصصی و فوق تخصصی پاتوبیولوژی مرکزی دانشگاه علوم پزشکی تبریز برای تمهید مقدمات این پژوهش قدردانی می‌شود.

Abstract:

Granzyme B Level in Acute Renal Transplant Rejection

Zarghami, N.[1]; Samadzadeh, S.[2]; Fani, H.[3]; Alani, B.[4]

1. Associate Professor in Clinical Biochemistry Tabriz University of Medical Sciences.

2. Associate Professor in Urology, Uremia University of Medical Sciences.

3. Resident of Urology , Uremia University of Medical Sciences.

4. Lecturer of Molecular Biology, Kashan University of Medical Sciences.

Introduction: *Acute rejection of renal transplant is a serious and common systemic inflammatory disorder which leads to decreasing half-life of transplant organ. Current diagnoses method is an invasive biopsy procedure on allogtraft kidney. Therefore, applying a novel and noninvasive diagnostic method such as Granzym B level in acute renal transplantation could help patients and improves survival of transplanted tissue.*

Materials and Methods: *This study was an analytical descriptive one in which 32 patients, who underwent kidney transplantation from May to August 2003 in Uremia - Iran were studied. Five sequential blood samples from each patient between day 2 and day 20 after renal transplantation were obtained continuously. Serum levels of granzyme B were measured using immunoassay method. In addition, in case of uncertain acute rejection, needle biopsies of kidney were performed. Patients were followed up to 9 - 12 months to control function of transplanted tissue.*

Results: *It was shown that 13 patients (40.5 %) with mean age of 33 years and 18 months duration of hemodialysis showed stable function of transplanted tissue. The mean serum levels of granzyme B in these patients were 148+ unit/ml. 19 patients (59.9 %), mean age of 43.74 years and mean hemodialysis duration 27 months, showed unstable function of transplanted tissue. 6 patients (19%) showed acute transplant rejection and 13 patients showed other etiological reaction. The mean serum levels of granzyme B in acute rejection in the first sample was 250.20 ± 46.25 units/ml (day 2-5) in the second sample was 286.50±49.92 units/m (day 6-8), in the third sample was 275.60±68.40 units/ml (day 9-11) and in the forth sample was 253.17±86.14 units/ml (day 12-16). In relation to other two groups, the difference was statistically significant ($p< 0.05$). The mean serum levels of granzyme B in acute rejection group, in the fifth sample was 158.17±29 units/ml (day 17-20), and there was no statistical significant difference between two groups.*

Conclusion: *The study confirmed that continuous measurement of granzyme B in whole blood by immunoassay methods within three weeks after renal transplantation could be a rapid and noninvasive diagnostic method for renal transplant rejection evaluation. Significant decrease of granzyme B at the end of third week after transplantation and after treatment with anti-acute rejection medicines could be helpful to evaluate response to anti-rejection treatment of transplantation. In conclusions, measurement granzyme B offers a noninvasive diagnosing acute rejection of renal allografts.*

Key Words: *Renal Transplantation, Granzyme B,Dialysis*

منابع

1. Frimat L, Villemot JP, Cormier L, Cao-Huu T, Renoult E, Hestin D, et al. Treatment of end-stage renal failure after heart transplantation. Nephrol Dial Transplant 1998; 13(11):2905-8

2. Vincenti F. A decade of progress in kidney transplantation. Transplantation 2004; 77(9):52-61

3. Li B, Hartono C, Ding R, Sharma VK, Ramaswamy R, Qian B, et al. Noninvasive diagnosis of renal-allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforin and granzyme B in urine. N Engl J Med 2001; 344(13): 947-54

4. Helderman JH, Goral S. Transplantation immuno biology: In: Danovitch GM, editor. Handbook of kidney transplantation. 3rd ed. California: Wolters Kluwer Co; 2001, 2:17-38

5. Wowk ME, Trapani JA. Cytotoxic activity of the lymphocyte toxin granzyme B. Microbes Infect 2004; 6(8):752-8

6. Trapani JA, Smyth MJ. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. Nat Rev Immunol 2002, 2(10):735-47

7. Kummer JA, Wever PC, Kamp AM, Ten Berge IJ, Hack CE and Weening JJ. Expression if granzyme A and B proteins by cytotoxic lymphocytes involved in acute renal allograft rejection. Kidney Int 1995; 47(1):70-77

8. Kircher B, Hack CE, Dickinson AM, Wang XN, Oudshoorn M, Sachs A, et al. Towards functional transplant donor matching by measurement of granzyme A and granzyme B production levels. J Immunol Methods 2004, 293(1-2):51-9

9. Sedlmeyer A, rammassar V, afrousian M, Zhu FL, Halloran FP. Granzyme expression declines as the Banff losions of renal allograft rejection develop. Sixth Banff Conference on Allograft Pathology. Banff, Alberta, Canada, April 21-28, 2001

10. Simon T, Opelz G, Wiesel M, Ott RC, Susal C. Serial peripheral blood perforin and granzyme B gene expression measurements for prediction of acute rejection in kidney graft recipients. Am J Transplant. 2003; 3(9):1121-7

11. Lipman ML, Shen Y, Jeffery JR, Gough J, McKenna RM, Grimm PC, et al. Immune-activation gene expression in clinically stable renal allograft biopsies: molecular evidence for sub clinical rejection. Transplantation 1998; 27; 66(12):1673-81