

رابطه بین سطح پایه و تحریک شده هورمون رشد با دفع ادراری پروتئین در بیماران دیابتی نوع ۲

محمود سوید*^۱، علیرضا صراطی^۲، غلامحسین عمرانی^۳

چکیده

مقدمه: مطالعات انجام شده بر روی حیوانات نشان دهنده اثر هورمون رشد در تشدید عوارض کلیوی دیابت بوده است. هدف این مطالعه بررسی ارتباط بین غلظت پایه و تحریک شده هورمون رشد با دفع کلیوی آلبومین در بیماران دیابتی نوع ۲ می‌باشد.

روشها: ۲۱ بیمار دیابتی نوع ۲ که دچار ماکروآلبومینوری بودند انتخاب شدند و با ۲۱ بیمار دیابتی نوع ۲ که میزان دفع پروتئین در ادرار ۲۴ ساعته کمتر از ۵۰ میلی گرم داشتند از نظر غلظت پایه و تحریک شده هورمون رشد و میزان انسولین در حالت ناشتا مقایسه شدند. دو گروه از نظر جنس، سن، طول مدت دیابت، شاخص توده بدن، پاکسازی کراتینین، قند خون ناشتا، درصد هموگلوبین گلیکوزیله و داشتن یا نداشتن فشارخون با هم مشابه بودند.

یافته‌ها: در بیماران با ماکروآلبومینوری میانگین غلظت هورمون رشد در حالت پایه $۳/۱ \pm ۲/۶$ و در گروه فاقد ماکروآلبومینوری $۱/۲۵ \pm ۰/۷$ نانوگرم در میلی لیتر بود ($P= ۰/۰۲۴$). اختلاف بین غلظت هورمون رشد تحریک شده و انسولین در دو گروه بدون اهمیت بود.

نتیجه‌گیری: در بیماران دیابتی نوع ۲ بین غلظت بالاتر هورمون رشد در حالت پایه و ایجاد نفروپاتی ارتباط مستقیم وجود دارد.

کلیدواژه‌ها: دیابت نوع ۲، پروتئینوری، نفروپاتی، هورمون رشد

۱- دانشیار دانشگاه علوم پزشکی شیراز، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم

۲- پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم

۳- استاد دانشگاه علوم پزشکی شیراز، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم

مقدمه

نفرورپاتی دیابتی از جمله عوارض میکروآنژیوپاتی دیابت است که باعث مرگ و میر و بیماری (morbidity) فراوان می شود. مکانیسم های آسیب رساننده به کلیه در بیماری دیابت بسیار متعدد و پیچیده می باشد و هنوز شناسایی تمامی آنها میسر نشده است. در سال ۱۹۵۳، پولسن [۱] گزارشی از یک زن دیابتی نوع ۱ منتشر کرد که رتینوپاتی او پس از نکرور هیپوفیز پس از زایمان (سندرم شیهان) و کاهش غلظت هورمون رشد بهبود پیدا کرد. در دهه های ۱۹۶۰ و ۱۹۷۰ پرتودرمانی هیپوفیز و کاهش غلظت هورمون رشد از درمان های متداول رتینوپاتی دیابت محسوب می شد [۲]. مطالعات *in vitro* متعددی نیز تأیید کننده نقش هورمون رشد در بروز میکروآنژیوپاتی دیابت بودند [۳] و در نهایت به طرح این فرضیه منجر شدند که هورمون رشد عامل مهمی در پیدایش عوارض میکروآنژیوپاتی دیابت است [۴]. در دهه های ۱۹۸۰ و ۱۹۹۰ مطالعات فراوانی در تأیید ارتباط بین هورمون رشد و سایر عوامل رشد با ضایعات کلیوی دیابت منتشر شده است ولی هنوز این ارتباط بصورت یک فرضیه باقی مانده است [۵]. البته اکثر این مطالعات بصورت *In vitro* یا بر روی حیوانات بوده است.

فرضیه ما در انجام این مطالعه این بوده است که بین غلظت بالاتر هورمون رشد در حالت پایه و تحریک شده با ابتلا به نفرورپاتی دیابت ارتباط مستقیم وجود دارد. تاکنون مطالعه مشابهی در بیماران دیابتی نوع ۲ انجام نشده است.

روشها

در ابتدا تمام بیماران دیابتی نوع ۲ مراجعه کننده به درمانگاه سرپایی دیابت در طول یک سال تحت انجام آزمایش اندازه گیری پروتئین ادرار ۲۴ ساعته قرار گرفتند. در هنگام اندازه گیری پروتئین ادرار عوامل مخدوش کننده مانند ورزش سنگین، عفونت ادراری و تب در نظر گرفته و حذف شدند. بیمارانی که دارای دفع پروتئین ادرار بیش از ۳۰۰ میلی گرم در شبانه روز بودند جهت انجام آزمون های تخصصی تر انتخاب شدند. بیمارانی که دارای

نارسایی قلبی، کراتینین بیشتر از ۱/۵ میلی گرم و آنها که داروهای مهار کننده آنزیم مبدل آنژیوتانسین مصرف می کردند از مطالعه حذف شدند. در نهایت از ۲۱ بیمار انتخاب شده، آزمونهای پاکسازی کراتینین، درصد هموگلوبین گلیکوزیله، دو نوبت هورمون رشد در حالت پایه و پس از تحریک با ال - دوپا و غلظت انسولین در حالت ناشتا به عمل آمد. جهت اندازه گیری هورمون رشد، بین ساعات ۸-۹ صبح در دونوبت به فاصله ۲۰ دقیقه از تمام بیماران نمونه خون گرفته می شد و سرم این دو نمونه پس از سانتریفوژ با هم مخلوط می شد و سپس هر بیمار ۵۰۰ میلی گرم لوودوپا مصرف می کرد و پس از ۶۰ دقیقه نمونه بعدی گرفته می شد. تمام نمونه های خون ظرف حداکثر ۳۰ دقیقه سانتریفوژ و در 70°C - نگهداری می شدند.

پس از اتمام جمع آوری نمونه های فوق، جهت جمع آوری گروه شاهد از بیماران دیابتی مراجعه کننده به همان درمانگاه که فاقد ماکروآلبومینوری بودند و میزان دفع پروتئین در ادرار ۲۴ ساعته کمتر از ۵۰ میلی گرم داشتند، استفاده شد. به این ترتیب که جهت هر کدام از بیماران گروه اول به طور مجزا یک بیمار دیابتی که از نظر جنس، سن $4 \pm$ سال، طول مدت دیابت $2 \pm$ سال، شاخص توده بدن $1 \pm$ ، پاکسازی کراتینین $15 \pm$ ، قند خون ناشتا $20 \pm$ ، $HbA_{1c} \pm 0.05$ ، داشتن یا نداشتن پرفشاری خون و نوع داروهای مصرفی کاهنده قند خون با بیمار مورد نظر همخوانی داشت، انتخاب شدند و آزمونهای مشابه گروه اول برای آنها انجام شد. در مورد تمام افراد مورد مطالعه پس از توضیح کامل روش کار، رضایت نامه کتبی اخذ شده و بیماران در هر مرحله از طرح می توانستند از ادامه همکاری خودداری کنند.

روشهای آزمایشگاهی: جهت اندازه گیری هورمون رشد از روش RIA با استفاده از کیت شرکت Spectria (ساخت کشور فنلاند) و برای اندازه گیری انسولین از روش IRMA با استفاده از کیت شرکت Immunotech (ساخت کشور فرانسه) استفاده شد. هموگلوبین گلیکوزیله با روش الکتروفورزی GEL-PC Glyco-Heme با استفاده

جدول ۱ - مقایسه دو گروه بیمار با و بدون ماکروآلبومینوری

P value	گروه فاقد ماکروآلبومینوری	گروه دارای ماکروآلبومینوری	
۱/۰۰	۵۶/۶ ± ۹/۱	۵۶/۶ ± ۱۰/۰	سن
۰/۶۹	۱۷/۷ ± ۶/۷	۱۶/۸ ± ۷/۰	مدت دیابت (سال)
۰/۴	۲۷/۲ ± ۴/۲	۲۶/۳ ± ۳/۱	شاخص توده بدن
۰/۵	۷۸/۶ ± ۱۲	۷۶/۵ ± ۷	پاکسازی کراتینین (میلی لیتر در دقیقه)
۰/۹	۹/۱۳ ± ۱/۸	۹/۷ ± ۱/۲	درصد هموگلوبین گلیکوزیله (%)
۰/۴	۱۵۳ ± ۲۸	۱۵۰ ± ۳۲	میانگین قند خون ناشتا (میلی گرم درصد)
۰/۷	۱۷/۰ ± ۱۹/۶	۲۱/۸ ± ۵/۴	انسولین سرم (μU/ml)
۰/۰۲۴	۱/۲۵ ± ۰/۷	۳/۱ ± ۲/۶	هورمون رشد پایه (ng/ml)
۰/۳۸	۵/۵ ± ۴/۱	۷/۰ ± ۶/۳	هورمون رشد تحریک شده (ng/ml)

بود. در آزمون رگرسیون لجستیک نیز تنها غلظت پایه هورمون رشد با اهمیت بود (P=۰/۰۴۱) و نسبت شانس = ۲/۵ و فاصله اطمینان: (-۱/۰۴؛۰/۹۵)

بحث

ارتباط بین هورمون رشد و بیماری دیابت و انسولین پیچیده است. هورمون رشد از جمله هورمون هایی است که در پاسخ به هیپوگلیسمی ترشح می شود. این هورمون هم به طور مستقل اثر بالابرنده قند خون دارد و هم از راه ایجاد مقاومت به انسولین باعث بالا رفتن قند خون می شود. از سوی دیگر هورمون رشد باعث ایجاد عامل رشد شبه انسولینی - ۱ (IGF-1) می شود که از نظر ساختمانی و آثار فیزیولوژیک با انسولین شباهت دارد. انسولین با اثر برگیرنده هورمون رشد باعث تنظیم تولید IGF-1 می شود و از طرف دیگر IGF-1 ترشح انسولین در پاسخ به گلوکز را تسهیل می نماید [۶]. در بیماران دیابتی کنترل نشده تولید IGF-1 در کبد کم می شود و در اثر کاهش بازخورد (feedback) منفی بر هیپوفیز ترشح و غلظت سرمی هورمون رشد افزایش می یابد [۷]. بالارفتن

از کیت های شرکت Helena Laboratories اندازه گیری شد.

روش آماری: تمام داده ها در دو گروه با و بدون ماکروآلبومینوری با هم مقایسه شدند. برای مقایسه متغیرهای پیوسته از آزمون آماری Student t-test استفاده شد. از آنجا که بین دو گروه از نظر سن، جنس، طول مدت دیابت، داروهای مصرف شده کاهنده قند خون، درصد هموگلوبین گلیکوزیله، شاخص توده بدن و پاکسازی کراتینین تفاوت قابل توجه آماری وجود نداشت، سه پارامتر غلظت پایه هورمون رشد، غلظت تحریک شده هورمون رشد و میزان انسولین با کمک آزمون آماری binary logistic regression و از طریق forward conditional method مورد مقایسه قرار گرفتند و مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ با اهمیت تلقی شد.

یافته ها

هر دو گروه مورد و شاهد شامل ۱۲ زن و ۹ مرد بودند. مقایسه بین دو گروه بیماران دارای ماکروآلبومینوری و فاقد آن در جدول ۱ آمده است. فقط تفاوت غلظت پایه هورمون رشد در دو گروه با اهمیت

¹ Insulin-like growth factor-1

میکروآلبومینوری بوده است و نتیجه گیری شده است که IGF-1 احتمالاً در بروز تغییرات کلیوی دیابت نقش دارد [۱۹]. در مطالعه حاضر که برای اولین بار بر روی بیماران دیابتی نوع ۲ انجام شده است، غلظت پایه هورمون رشد در بیماران با ماکروآلبومینوری ۲/۴ برابر بیشتر از بیماران بدون ماکروآلبومینوری بود. غلظت هورمون رشد در بالغین به سن بستگی دارد و در دیابت کنترل نشده و نارسایی کلیه میزان آن بالا می رود [۲۰]. در مطالعه ما با توجه به همانند بودن گروه مورد و شاهد از نظر سن، پاکسازی کلیوی، درصد هموگلوبین گلیکوزیله و غلظت گلوکز خون ناشتا در زمان اندازه گیری هورمون رشد، اثر این عوامل مخدوش کننده برطرف شده است. با توجه به نتیجه این مطالعه و نتایج مطالعات قبلی می توان گفت که هورمون رشد در پیدایش نفروپاتی دیابتی در انسان نیز نقش دارد و افرادی که هورمون رشد بالاتری دارند، به این عارضه مستعدتر هستند. البته مطالعه ما یک بررسی مقطعی (cross sectional) می باشد و محدودیت های مطالعات مقطعی را دارد. برای اثبات بهتر این فرضیه مطالعات آینده نگر شامل اندازه گیری هورمون رشد و دیگر فاکتورهای رشد در بیماران دیابتی و پیگیری طولانی مدت آنها از نظر پیدایش عوارض کلیوی توصیه می شود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از کارکنان مرکز دیابت شیراز به جهت کمک در جمع آوری افراد مورد مطالعه و از کارکنان آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم شیراز به خاطر دقت در انجام آزمایش ها تشکر و قدردانی می نمایند.

غلظت هورمون رشد به تولید فاکتورهای رشد موضعی از جمله IGF-1 در بافت های غیرکبدی به ویژه کلیه ها می انجامد [۸]. هم هورمون رشد و هم IGF-1 دارای گیرنده هایی در کلیه ها هستند [۹]. در مطالعات *in vitro* نشان داده شده است که IGF-1 باعث افزایش تعداد و رشد سلول های مزانژیال [۱۰]، زیاد شدن تولید پروتئوگلیکان در سلولهای مزانژیال [۱۱] و سلول های اندوتلیوم نفرون [۱۲] می شود و این تغییرات مشابه فرایندهایی است که در نفروپاتی دیابتی مشاهده می گردد. موش های دیابتی قبل از بزرگ شدن کلیه ها و زیاد شدن فیلتراسیون کلیوی سطح IGF-1 در کلیه ها افزایش می یابد [۱۳]. در این حیوانات تزریق IGF-1 باعث هیپرتروفی کلیه ها می شود [۱۴]. موش هایی که به طور مادرزادی دچار کمبود هورمون رشد هستند پس از دیابتی شدن کمتر دچار عوارض کلیوی دیابت از جمله هیپرتروفی و دفع پروتئین از ادرار می شوند [۱۵]. مصرف آنالوگ های سوماتوستاتین که ترشح هورمون رشد را متوقف می کنند و آنتاگونیست های هورمون رشد از بروز نفروپاتی دیابتی در حیوانات جلوگیری می نمایند [۱۶، ۱۷]. تجویز هورمون رشد به موش های دیابتی نیز باعث بدتر شدن عوارض کلیوی آنان می شود [۱۸]. با وجود مطالعات فراوان *In vitro* و مدل های حیوانی، در مورد ارتباط بین عوامل رشد و نفروپاتی دیابتی در انسان بررسی های محدودی انجام شده است. در مطالعه Verrotti و همکاران که بر روی کودکان مبتلا به دیابت نوع ۱ انجام شده است، بیماران با میکروآلبومینوری میزان بیشتری IGF-1 و هورمون رشد در ادرار دفع کرده و سطح پلاسمایی IGF-1 آنان نیز بالاتر از بیماران بدون

مآخذ

1. Poulsen JE. The Houssay phenomenon in man: recovery from retinopathy in a case of diabetes with Simmond's disease. *Diabetes* 1953; 2: 7-12.
2. Sharp PS, Fallon TJ, Brazier OJ. Long term follow-up of patients who underwent Yttrium-90 pituitary implantation for treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetologia* 1987; 30: 199-207.
3. Christiansen NJ, Terkildsen AB. Quantitative measurements of skin capillary resistance in hypophysectomized long-term diabetics. *Diabetes* 1971; 20: 297-301.
4. Flyvbjerg A. Putative pathophysiological role of growth factors and cytokines in experimental diabetic kidney disease. *Diabetologia* 2000; 43: 1205-1223.

5. Orskov H. Somatostatin, growth hormone, insulin like growth factor – 1, and diabetes: Friends or Foes? *Metabolism* 1996; 8 (suppl 1): 91-5.
6. Flyvbjerg A, Alberti KG MM, Froesch ER, Demeys P, von Zur Muhlen A, Orskov H. International Symposium on Glucose Metabolism and Growth Factors. *Metabolism* 1995; 44 (suppl 4): 1-123.
7. Flyvbjerg A. Growth factors and diabetic complications. *Diabetic Medicine* 1990; 7: 387-99.
8. Hammermen MR, Miller SB. The growth hormone – insulin like growth factor axis in kidney revisited. *American Journal of Physiology* 1993; 265: F1-F14.
9. Chin E, Zhou J, Bondy C. Renal growth hormone gene expression: relationship to renal insulin –like growth factor system. *Endocrinology* 1992; 131: 3061-6.
10. Doi T, Striker LJ, Elliot S, Conti FG, Agodoa L , Striker GE. Insulin like growth factor 1 is a progression factor for human mesangial cells. *American Journal of Pathology* 1989; 134: 395-404.
11. Moran A, Brown DM, Kim Y, Klein DJ. Effects of IGF-1 and glucose on protein and proteoglycan synthesis by human fetal mesangial cells in culture. *Diabetes* 1991; 40: 1346-54.
12. Bar RS, Dake BL, Stueck S. Stimulation of Proteoglycan by IGF-1 and II in microvessel and large vessel endothelial cells. *American Journal of Physiology* 1987; 253: E21-E27.
13. Flyvbjerg A, Bornfeldt KE, Marshall SM, Arnqvist HJ, Orskov H. Kidney IGF-1 m RNA in initial renal hypertrophy in experimental diabetes in rats. *Diabetologia* 1990; 33: 334-8.
14. Flyvbjerg A, Bornfeldt KE, Orskov H, Arnqvist HJ. Effect of insulin like growth factor 1 infusion on renal hypertrophy in experimental diabetes mellitus in rats. *Diabetologia* 1991; 34: 715-20.
15. Gronbek H, Volmers P, Bjorn SF, Osterby R, Orskov H, Flyvbjerg A. Effect of isolated GH and IGF-1 deficiency on long term renal changes and urinary albumin excretion in streptozocin diabetic dwarf rats. *American Journal of Physiology* 1997; 272: E918-E927.
16. Flyvbjerg A, Marshall SM, Frystyk J, Hansen KW, Harris AG, Orskov H. Octreotide administration in diabetic rats: Effect on renal hypertrophy and urinary albumin excretion. *Kidney International* 1992; 41: 805-12.
17. Flyvbjerg A, Bennett WF, Rasch R, Kopchick JJ, Scorlett JA. Inhibitory effect of a growth hormone receptor antagonist (G 120 K-PEG) on renal enlargement, glomerular hypertrophy and urinary albumin excretion in experimental diabetes in mice. *Diabetes* 1999; 48: 377-82.
18. Landau D, Israel E, Rivkis I, Kachko L, Schrijvers BF, Flyvbjerg A, et al. The effect of growth hormone on the development of diabetic kidney disease in rats. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2003; 18: 694-702.
19. Verrotti A, Cieri F, Petitti MT, Morgese G, Chiavelli F. Growth hormone and IGF-1 in diabetic children with and without microalbuminuria. *Diabetes Nutrition Metabolism* 1999; 12: 271-76.
20. Baumann G. Growth hormone and its disorders. In : Becker KL (editor). *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*, 3rd edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p 129-145.