

## اثر سیکلوسپورین خوراکی بر سطح پلاسمایی پاراتیروئید و کلسی‌تونین در موش صحرایی نر بالغ

حمیده افتخاری\* و حیدر آقابابا

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارسنجان، گروه زیست‌شناسی، ارسنجان، ایران

مسئول مکاتبات: hamideheftekhari@iaua.ac.ir

### چکیده

امروزه پوکی استخوان یک بیماری شایع، بخصوص در سنین بالا و در خانم‌های یائسه بوده و عوامل پاتوژن زیادی در آن مؤثرند. تحقیقات نشان می‌دهد افرادی که مجبورند داروی سیکلوسپورین به صورت طولانی و مداوم استفاده کنند دچار کاهش تراکم استخوان می‌شوند. از طرفی هورمون‌های پاراتیروئید و کلسی‌تونین نیز در تراکم استخوان مؤثرند. در این تحقیق سعی گردیده که رابطه بین داروی سیکلوسپورین و هورمون‌های مذکور مورد بررسی قرار گیرد. در تحقیق حاضر از ۳۰ موش برای خونگیری استفاده شده که از این ۳۰ موش در یک نوبت خونگیری به عمل آمد و سه گروه جداگانه برای تجزیه و تحلیل آماری بدست آمد ( $n=10$ ). به یک گروه داروی سیکلوسپورین محلول در روغن زیتون با دوز  $15 \text{ mg/Kg/day}$  به مدت شش هفته و بصورت خوراکی (Oral) داده شد و به گروه دیگر فقط روغن زیتون خوراندند شد (گروه شاهد). گروه باقیمانده هیچ کدام را دریافت نکردند (گروه کنترل). از تمامی نمونه‌ها سرم‌گیری به عمل آمد. سطح پلاسمایی هورمون با توجه به نتایج بدست آمده، اختلاف سطح پلاسمایی هورمون پاراتیروئید بین دو گروه کنترل و گروه تجربی با داروی سیکلوسپورین در  $P < 0.05$  معنی دار نبود. در حالی که سطح پلاسمایی هورمون کلسی‌تونین گروه تزریق داروی سیکلوسپورین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را در  $P < 0.05$  نشان داد. پوکی استخوان القا شده توسط دارو، یک بیماری قابل پیشگیری است که بطور معمول درمان نشده باقی مانده است. تشخیص علل دارویی بالقوه، درمان از طریق کنترل کردن و کاربرد معیارهای پیشگیرانه می‌تواند بطور برجسته کیفیت زندگی بیماران را بهبود بخشد. تحقیقات، پیشنهادات متعددی برای تعیین مکانیسم سلولی اثر سیکلوسپورین بر پوکی استخوان ارائه داده‌اند. نتایج حاصل از این تحقیق پیشنهاد می‌کند که احتمالاً سیکلوسپورین با کاهش هورمون کلسی‌تونین مکانیسم‌هایی را بکار می‌اندازد که باعث عدم تعادل بین استئوبلاست‌ها (سلول‌هایی که توده استخوان‌ها را می‌سازند) و استئوکلاست‌ها (سلول‌هایی که استخوان قدیمی را برمی‌دارند) می‌شود و نهایتاً موجب پوکی استخوان می‌گردد.

کلمات کلیدی: سیکلوسپورین، پوکی استخوان، هورمون پاراتیروئید، هورمون کلسی‌تونین

### مقدمه

جراحی)، هایپرتیروئیدیسم، هایپوگنادیسم و یک سابقه خانوادگی از پوکی استخوان ارتباط دارد. دیگر فاکتورهای شناخته شده شامل سیگار کشیدن، مصرف زیاد الکل و عدم فعالیت فیزیکی است [۳، ۶، ۹].

آنچه ممکن است کمتر آشنا باشد این واقعیت است که داروهای بخصوصی می‌توانند ریسک فرد را برای پوکی استخوان افزایش دهند. سیکلوسپورین یک داروی سرکوب کننده سیستم ایمنی با محدوده درمانی بسیار باریک با تفاوت‌های فارماکوکینتیک زیاد در میان افراد است. این ماده

پوکی استخوان نوعی بیماری است که با توده استخوانی کم و تخریب ساختمان استخوان مشخص می‌گردد که ممکن است منجر به شکنندگی استخوان و افزایش قابلیت شکنندگی لگن و ستون فقرات شود هرچند هر استخوانی ممکن است مبتلا شود [۵]. آگاهی از پوکی استخوان، همراه با ریسک فاکتورهای توسعه دهنده آن، جلوگیری و درمان آن از نگرانی‌های مهم سلامت عموم شده است. این بیماری با افزایش سن و مصرف کم دائمی کلسیم، سطح پائین استروژن (ناشی از مونوپوز یا برداشتن تخمدان از طریق



سلول‌های استئوکلاست و فعال نمودن سلول‌های استئوبلاست باعث افزایش استخوان‌سازی و با رسوب کلسیم در استخوان‌ها منجر به کاهش کلسیم در محیط داخلی بدن می‌گردد. کلسی‌تونین با کاهش کلسیم خون بر ترشح هورمون پاراتیروئید اثر می‌گذارد [۱۶]. در تحقیق حاضر سعی شده است ارتباط بین مصرف داروی سیکلوسپورین و سطح پلاسمایی هورمون‌های PTH و کلسی‌تونین بعنوان هورمون‌هایی که تغییرات آنها در روند پوکی استخوان مؤثر است بررسی شود.

### مواد و روش کار

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰-۱۸۰ گرم استفاده شد. رت‌ها به ۳ گروه آزمایشی تقسیم‌بندی شدند (n=۱۰). به یک گروه داروی سیکلوسپورین محلول در روغن زیتون با دوز ۱۵ mg/Kg/Day به مدت ۶ هفته و به صورت Oral داده شد و به گروه دیگر فقط روغن زیتون خورنده شد (شاهد) و گروه دیگر هیچکدام را دریافت نکردند (کنترل). از تمامی نمونه‌ها سرم‌گیری به عمل آمد و سطح پلاسمایی هورمون PTH و کلسی‌تونین توسط کیت‌های هورمونی PTH و کلسی‌تونین تهیه شده از شرکت کاوشیار و به روش الیزا در بخش هورمون‌شناسی بیمارستان نمازی شیراز مورد سنجش قرار گرفتند.

**بررسی آماری:** داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شدند. آنالیز آماری به کمک نرم‌افزار SPSS انجام شده است. تفاوت بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) انجام شد و تفاوت  $p < 0.05$  به عنوان معنی دار تلقی شد.

### نتایج

تأثیر سیکلوسپورین بر سطح پلاسمایی هورمون پاراتیروئید در موش صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر

سوبسترای سیتوکروم P-450 و گلیکوپروتئین P می‌باشد [۱۵]. این دارو یک داروی سیتوتوکسیک است که با اثر مستقیم بر روی سلول‌های T و اثر غیرمستقیم بر روی سلول‌های B باعث تضعیف سیستم ایمنی و کاهش التهاب می‌شود و به عنوان عاملی برای بقای عضو پیوندی بکار می‌رود [۵، ۱۲].

درمان با سیکلوسپورین اثرات جانبی متعددی دارد. بطور مثال می‌توان به مسمومیت کلیوی، مسمومیت کبدی، رشد غیرطبیعی لثه و پوکی استخوان اشاره کرد. بررسی‌های زیادی از جنبه‌های پایه‌ای و کلینیکی اثرات القاء استئوپروز ناشی از سیکلوسپورین را گزارش کرده‌اند. تحقیقات نشان داده است که این دارو کاهش در حجم و ضخامت استخوان اسفنجی را سبب می‌شود [۸].

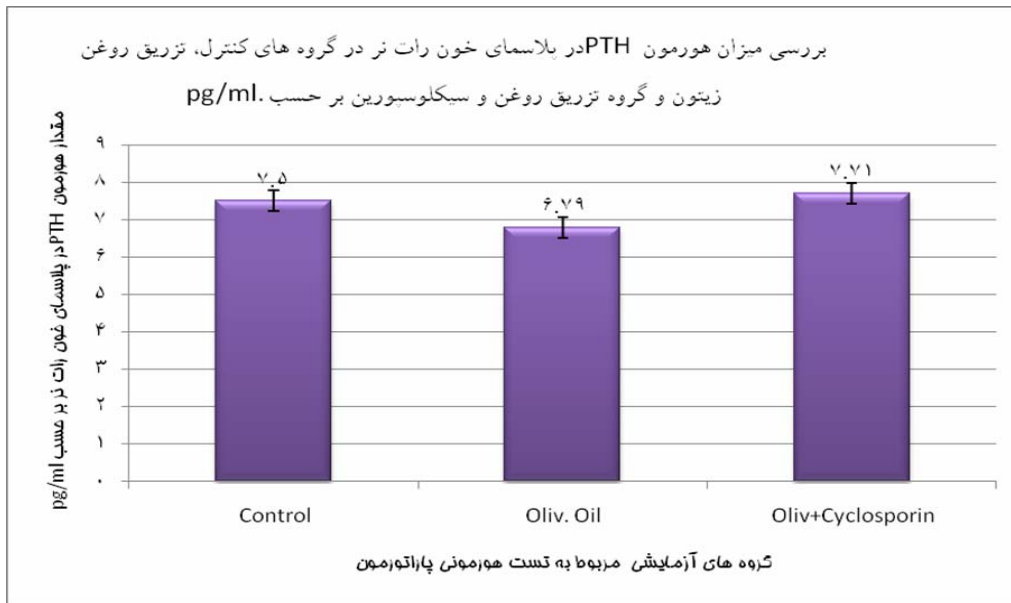
مکانیسم سلولی دقیقی که توسط آن سیکلوسپورین از دست رفتن استخوان را القاء می‌کند کاملاً شناخته نشده است. سیکلوسپورین سبب افزایش بازجذب استخوان با تحریک استئوکلاست‌ها و سرکوب عملکرد استئوبلاست‌ها از طریق مهار تکثیر، تعداد سلول و میتوز این سلول‌ها می‌شود و سبب کاهش توده استخوانی می‌گردد [۷]. مکانیسم پیشنهادی دیگر افزایش عملکرد هورمون پاراتیروئید (PTH) است [۷، ۱۴]. این هورمون توسط غده پاراتیروئید ترشح می‌شود. مهم‌ترین وظیفه هورمون پاراتیروئید افزایش میزان کلسیم در محیط داخلی است. پاراتورمون با اثر بر نفرون‌های کلیوی بازجذب کلسیم را به داخل خون افزایش می‌دهد و دفع ادراری آن را کاهش می‌دهد. این هورمون با اثر بر بافت استخوانی فعالیت سلول‌های استئوکلاست را که منجر به آزادسازی کلسیم به داخل خون می‌شوند را افزایش می‌دهد. پاراتورمون با اثر بر روده‌ها و تنظیم تولید ویتامین D مؤثر در جذب کلسیم باعث افزایش جذب کلسیم از روده می‌گردد [۱۶].

اعمال PTH با عملکرد هورمون‌هایی نظیر کلسی‌تونین ارتباط دارد. کلسی‌تونین با اثر بر استخوان‌ها و مهار عمل

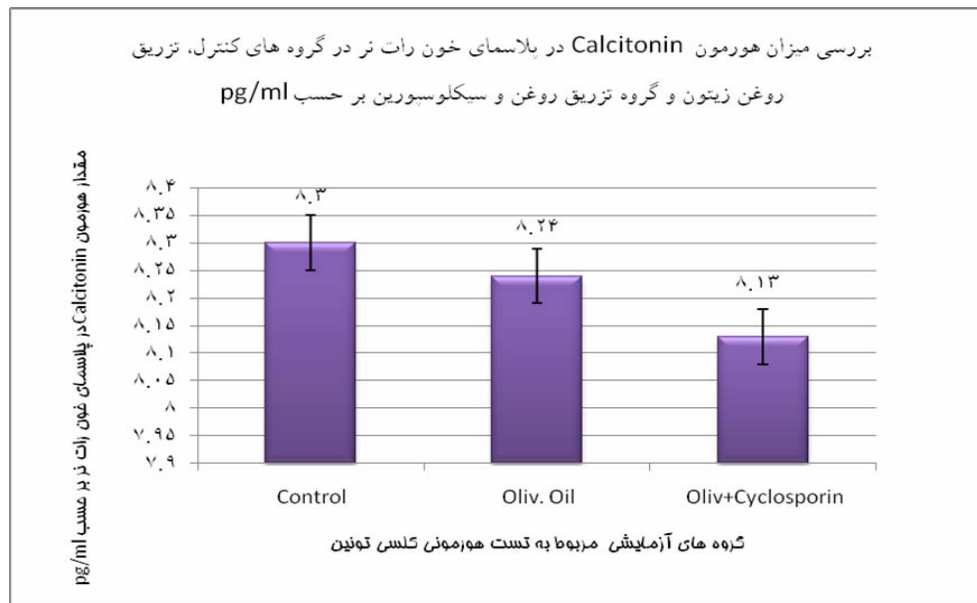


گرفت. سپس این گروه با گروه‌های کنترل و شاهد مورد مقایسه قرار گرفت. گروه دریافت‌کننده سیکلوسپورین کاهش معنی‌داری را در  $p < 0.05$  نسبت به گروه کنترل نشان داد (نمودار ۲).

است که این گروه با گروه‌های کنترل و شاهد مورد مقایسه قرار گرفت. اختلاف سطح هورمونی بین دو گروه کنترل و تزریق داروی سیکلوسپورین در  $p < 0.05$  معنی‌دار نبود. (نمودار ۱). تاثیر داروی سیکلوسپورین بر سطح پلاسمایی هورمون کلسی‌تونین در موش صحرائی نر مورد بررسی قرار



نمودار ۱- مقایسه سطح پلاسمایی هورمون پاراتورمون بین گروه‌های کنترل و گروه دریافت‌کننده روغن زیتون و گروه دریافت‌کننده داروی سیکلوسپورین محلول در روغن زیتون در رت نر. هر ستون نمایانگر میانگین  $\pm$  خطای معیار (Mean  $\pm$  SE) می‌باشد. اختلاف در  $P < 0.05$  معنی‌دار نمی‌باشد.



نمودار ۲- مقایسه سطح پلاسمایی هورمون کلسی تونین بین گروه های کنترل و گروه دریافت کننده روغن زیتون و گروه دریافت کننده داروی سیکلوسپورین محلول در روغن زیتون در رت نر. هر ستون نمایانگر میانگین  $\pm$  خطای معیار (Mean  $\pm$  SE) می باشد. اختلاف در  $P < 0.05$  معنی دار می باشد.

## بحث

LH و FSH و هورمون PTH را بر روی پوکی استخوان بررسی کرده اند که تعدادی از آنها افزایش در میزان هورمون PTH را گزارش نموده اند [۵،۴،۱۴،۷]. نتایج حاصل از این تحقیق پیشنهاد می کند که احتمالاً سیکلوسپورین با کاهش هورمون کلسی تونین مکانیسم هایی را به راه می اندازد که باعث عدم تعادل بین استئوبلاست ها و استئوکلاست ها می شود و نهایتاً پوکی استخوان را می گردد. هنگامی که بیماران در خطر برای از دست رفتن استخوان شناسایی شدند، داروسازان می توانند با تماس با پزشکان نسخه کننده عکس العمل های مناسب را پیشنهاد کنند. آنها باید یک رژیم غنی از کلسیم و ویتامین D را تشویق کنند. سیگار کشیدن، مصرف زیاد الکل و مصرف کافئین بایستی منع شود. ارجاع بیماران به یک متخصص تغذیه می تواند توصیه غذایی خاصی فراهم کند.

پوکی استخوان می تواند مردان و زنان را در همه سنین مبتلا کند؛ هرچند زنان مسن تر ریسک بالاتری دارند. اگرچه هیچ علائم آشکاری در مراحل اولیه پوکی استخوان وجود ندارد، در مراحل بعدی بیماران ممکن است کاهش قد، تغییر در طرز قرار گرفتن بدن یا درد ثانویه به دنبال یک شکستگی را تجربه کنند [۵]. مطالعات متعددی در مورد ارتباط داروهای کورتیکواستروئیدی، AEDs، هپارین و پروژستین ها با پوکی استخوان گزارش شده است [۶،۱۱،۱۳،۹] و اخیراً مطالعاتی در مورد ارتباط داروی سیکلوسپورین با پوکی استخوان بعنوان یک اثر جانبی انجام می شود. تحقیقات متعددی کاهش در حجم و ضخامت توده استخوانی، کاهش در تکثیر سلولی و فعالیت میتوزی و تعداد سلول های استئوبلاست را گزارش کرده اند [۸]. مطالعاتی ارتباط بین این دارو و هورمون هایی نظیر استروژن، گنادوتروپین های



- 6- Hansen L.B, Vondracek S.F. (2004), Prevention and treatment of non postmenopausal osteoporosis. *Am J Health-Sys Pharm.* 61: 2537-56.
- 7- McCauley LK, et al. (1992), Effects of cyclosporin A on rat osteoblasts (Ros 17/2.8 cells) in vitro. *Calcified Tissue International.* 51(4): 291-297.
- 8- Mihara W.Ch, Seto H, et al. (2008), Histological analysis of alveolar bone in cyclosporin A- treated rats. *Jpn J Conserv Dent.* 51(3): 246-255.
- 9- Need AG. (1997), Pathology, etiology and pathogenesis of osteoporosis. *Australian Prescriber.*, 20: 10-13
- 10- Schlosberg M, Movsowitz C, et al. (1989), The effect of cyclosporin A administration and its withdrawal on bone mineral metabolism in the rat. *Endocrinology*, 124:2179-2184
- 11- Schuh L, Barkley GI, et al. (2004), Antiepileptic drugs and reduced bone mineral density. *Epilepsy Behav.*, 5:296-300
- 12- Shuichi T, George J, et al. (2005), Citrate reverses cyclosporin A- induced metabolic acidosis and bone resorption in rats. *Am J Nefrol.* 25:233-239
- 13- Smbrook PN. (2005), How to prevent steroid induced osteoporosis. *Ann Rheum Dis.*, 64: 176-178
- 14- Wada Chie, Kataoka Masatoshi, et al. (2006), High- turnover osteoporosis is induced by cyclosporin A in rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 24:199-20.

## منابع

- ۱- آذر پیرا ن.، ملک حسینی س.ع، بهزادی س. ۱۳۸۷. بررسی پلی مورفیسیم ژن های **Cyp3A5** ، **MDR1** و ارتباط آن با غلظت خونی سیکلوسپورین در مراحل اولیه بعد از پیوند کلیه در بیمارستان شیراز. مجله پزشکی ارومیه، سال نوزدهم، شماره دوم، صص ۲۵-۲۸
- ۲- گایتون، ا.، ج. ا. هال. فیزیولوژی پزشکی گایتون، جلد دوم، ترجمه دکتر احمدرضا نیاورانی. انتشارات مؤسسه فرهنگی انتشاراتی تیمورزاده. صص ۱۰۱۷-۱۰۱۳.
- 1- Amglicheau D, Thervet E, et al. (2004), Cyp3A5 and MDR1 genetic polymorphisms and cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther*; 75:422-33
- 2- Balasch J. (2003), Sex steroids and bone: current perspectives. *Hum Reprod Update.* 9:207-222.
- 3- Ensrud KE, Walczak TS, et al. (2004), Antiepileptic drug use increases rates of bone loss in older women: a prospective study. *Neurology.* 62: 2051-2057.
- 4- Epsteis S, et al. (2001), Effect of the interaction of parathyroid hormone and cyclosporine A on bone mineral metabolism in the rat. *Calcified Tissue International*; 68(4): 240-247.
- 5- Gass M, Dawson B. (2006), Preventing osteoporosis- related fractures: on overview. *Am J Med*; 119: 35-115.