

## ارزیابی بیان ژن های Caspase-1 و Interleukin-1 $\beta$ دخیل در کمپلکس اینفلامازوم بیماران دیالیزی مبتلا به گلومرولونفریت

- **فرشید اروچی:** گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
- **فهیمه باغبانی آرانی\*:** گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
- **معصومه مهدوی اورتاکنند:** گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷

### چکیده

گلومرولونفریت یک بیماری التهابی است که در آن تخریب گلومرول ها و در نتیجه نارسایی کلیه مشاهده می گردد. یکی از اجزاء درون سلولی که فرآیند التهاب را شکل می دهد کمپلکس اینفلامازوم است که از مهم ترین ارکان سیستم ایمنی ذاتی در ایجاد التهاب می باشد. کمپلکس اینفلامازوم به دنبال شناسایی سیگنال های پاتوژنیک تحریک شده و اینترلوکین های التهابی را فعال می کند. با توجه به نقش ژن های Caspase-1 و Interleukin-1 $\beta$  در تنظیم اینفلامازوم و ایجاد التهاب، بررسی میزان بیان این دو ژن در بیماران مبتلا به گلومرولونفریت، می تواند در تعیین نقش اینفلامازوم ها در بیماری گلومرولونفریت مفید باشد. به همین منظور، در این مطالعه ۲۸ نمونه بیمار مبتلا به گلومرولونفریت و ۲۸ فرد سالم بررسی شدند. پس از خون گیری از افراد، سلول های تک هسته ای خون محیطی (PBMC) جدا شده و استخراج RNA انجام شد. پس از سنتز cDNA آنالیز کمی بیان ژن با روش Real Time PCR برای ژن های IL-1 $\beta$  و Casp-1 صورت پذیرفت. نتایج نشان داد بیان ژن های IL-1 $\beta$  و Casp-1 در سلول های تک هسته ای خون محیطی بیماران مبتلا به گلومرولونفریت دیالیزی نسبت به نمونه های شاهد متفاوت می باشد به طوری که به ترتیب بیان ژن های Casp-1 و IL-1 $\beta$  در نمونه های بیمار  $1/88$  ( $P < 0/01$ ) و  $1/56$  ( $P = 0/052$ ) برابر نمونه های شاهد می باشد که این تفاوت در مورد ژن Casp-1 معنی دار می باشد. با توجه به نتایج و نقش ژن های IL-1 $\beta$  و Casp-1 در مسیر فعال سازی کمپلکس اینفلامازوم از یک طرف و افزایش بیان معنی دار این ژن ها در بیماران گلومرولونفریت در طرف دیگر، می توان نتیجه گرفت که به احتمال زیاد بروز گلومرولونفریت از مسیر سیگنالینگ فعال سازی کمپلکس اینفلامازوم می باشد.

**کلمات کلیدی:** گلومرولونفریت، کمپلکس اینفلامازوم، Caspase-1، Interleukin-1 $\beta$



## مقدمه

التهابی در دنیا شناخته شده است به طوری که مولکول‌های مهارکننده کمپلکس NLRP3 امروزه به‌عنوان کاندید درمان بیماری‌های خودایمنی مطرح هستند (Ferrari, 2006; Mortimer, 2016). از آن‌جا که بیان ژن کاسپاز ۱ برای تنظیم اینفلامازوم ضروری است و تولید اینترلوکین ۱ در نتیجه فعال شدن اینفلامازوم است لذا بررسی میزان بیان این دو ژن در بیماران مبتلا به گلوومولونفریت می‌تواند در تشخیص نقش فعال شدن اینفلامازوم‌ها در بیماری گلوومولونفریت مفید بوده و تشخیص روش‌های درمانی و پروسه درمان را تسهیل کند. بنابراین در این پژوهش سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی بیماران از نظر میزان بیان ژن IL-1 $\beta$  و Casp-1 با جمعیت سالم شاهد مورد مقایسه قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه یک پژوهش موردی-شاهدی است. جامعه مورد مطالعه، بیماران مبتلا به گلوومولونفریت و افراد سالم در محدوده سنی یکسان می‌باشند. معیارهای ورود به مطالعه، بیمارانی هستند که با معاینات فیزیکی و نتایج آزمایشگاهی توسط متخصص اورولوژی مبتلا به گلوومولونفریت تشخیص داده شده‌اند. معیارهای خروج از مطالعه عبارت است از بیماران تحت درمان با شیمی درمانی، رادیوتراپی و بیماران مبتلا به آسم یا سایر بیماری‌های التهابی. در افراد سالم نیز، افراد از لحاظ داشتن سابقه آسم آلرژیک، بیماری‌های انگلی، احتمال سرماخوردگی یا بیماری‌های زمینه‌ای دیگر مورد بررسی قرار گرفته و افرادی وارد مطالعه شدند که داروی خاصی دریافت نکرده و از نظر سنی مشابه گروه بیماران بودند. افراد مورد مطالعه از شهر تهران می‌باشند. اطلاعات پرسش‌نامه (هم‌چنین میزان شاخص CRP) بیماران و افراد سالم پر شد و رضایت‌نامه کتبی از آن‌ها گرفته شد. پس از خون‌گیری از افراد مورد مطالعه، جداسازی PBMC با روش فایکول صورت گرفت. جهت استخراج RNA از واکنش‌گر Trizol (Invitrogen, آمریکا) استفاده شد و به‌منظور بررسی کمی و کیفی RNA، از روش اسپکتوفتومتری استفاده شد و نسبت جذب ۲۸۰/۲۶۰ بررسی گردید. هم‌چنین برای حذف آلودگی احتمالی با DNA از آنزیم DNAase استفاده گردید. بعد از استخراج RNA بلافاصله سنتز cDNA با استفاده از کیت (Transgene Biotech AE301-02، هند) صورت پذیرفت. طبق پروتکل شرکت سازنده مواد مورد نیاز با هم مخلوط شدند و با برنامه ۱۵ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و ۵ ثانیه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد cDNA ساخته شد. به‌منظور تکثیر قطعه‌های ژنی Casp-1 و IL-1 $\beta$  به‌عنوان ژن هدف و ژن GAPDH به‌عنوان ژن مرجع، پرایمرهای اختصاصی طراحی و جهت اطمینان از عدم اتصال غیراختصاصی پرایمرها از ابزار آنالین BLAST استفاده گردید. در واکنش

سالانه افراد بی‌شماری در سراسر جهان به بیماری‌های کلیوی مبتلا می‌شوند و یکی از مهم‌ترین بیماری‌های کلیوی، گلوومولونفریت می‌باشد. گلوومولونفریت، بیماری التهابی مرتبط با گلوومول‌های کلیه است که براساس مدت زمان درگیری کلیه و میزان وجود التهاب به دو حالت حاد و مزمن طبقه‌بندی می‌شود و عدم تشخیص به‌موقع این اختلال می‌تواند منجر به نارسایی شدید کلیه شود (Earle, 1957; Kanjanabuch, 2009). از آن‌جایی که گلوومولونفریت به‌علت ایجاد التهاب در گلوومول‌ها ایجاد می‌شود بنابراین اخیراً مطالعه مکانیسم‌های التهاب درگیر در این بیماری مورد توجه قرار گرفته است. التهاب، به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های ایمنی ذاتی، منجر به رفع علت آسیب سلولی شده و به دو صورت حاد و مزمن دیده می‌شود (Mogensen, 2009). التهاب در صورت پاسخ نادرست می‌تواند باعث ایجاد بیماری‌های مختلفی شود و مسیرهای متفاوت مولکولی در این بیماری‌ها درگیر هستند، از جمله این بیماری‌ها می‌توان به گلوومولونفریت، مالتیپل اسکروز (MS)، صرع و آلزایمر اشاره کرد (Vezani, 2002). در چند سال اخیر یکی از مکانیسم‌هایی که در التهاب مورد توجه قرار گرفته است کمپلکس اینفلامازوم می‌باشد که نقش آن در تعدادی زیادی از مسیرهای التهابی مشخص شده است (Man, 2015). کمپلکس اینفلامازوم، یک مجموعه عظیم از قلمروها و پروتئین‌های داخل سلولی است که در ایجاد التهاب نقش اساسی دارد. این کمپلکس از سه جزء اصلی گیرنده‌های سیتوزولی، پروتئین‌های آداپتور و پروکاسپاز ۱ تشکیل شده است. مهم‌ترین گیرنده کمپلکس اینفلامازوم، خانواده گیرنده‌های شبه Nod یا NLR می‌باشد که این گیرنده‌ها جزئی از مولکول‌های اصلی ایمنی ذاتی با عنوان PRR یا Pattern Recognition Receptor می‌باشند که به مولکول‌های شاخص پاتوژنیک و التهاب‌زا متصل می‌شوند. آداپتور کمپلکس پروتئین ASC می‌باشد (Mulay, 2015). فعال شدن اینفلامازوم منجر به شکسته شدن پروکاسپاز ۱ موجود در ساختار کمپلکس به کاسپاز ۱ شده در نهایت باعث راه‌اندازی مسیرهای سیگنالی تولیدکننده سایتوکاین‌های پیش‌التهابی فعال مانند IL-18 و IL-1 $\beta$  می‌شود (Latz, 2013). آن‌چه بدیهی است گلوومولونفریت یک بیماری التهابی است که باعث تخریب گلوومول‌های کلیه و در نتیجه نارسایی کلیه می‌شود. از طرفی اینفلامازوم‌ها مهم‌ترین ارکان سیستم ایمنی ذاتی در ایجاد التهاب می‌باشند و از آن‌جا که منشا ایجاد التهاب می‌تواند در مدیریت درمان و تشخیص روش درمانی موثر باشد لذا مطالعه پاتوژنز بیماری‌های التهابی وابسته به اینفلامازوم‌ها می‌تواند نقش بسیار مهمی در شناسایی روش‌های موثر مرتبط با درمان این بیماری‌ها باشد. مهار تحریک اینفلامازوم‌ها امروزه به‌عنوان یکی از مهم‌ترین خطوط درمان بیماری‌های



صورت گرفت. در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها مطابق مقایسه چرخه آستانه انجام گرفت و اختلاف چرخه آستانه به دست آمده از نمونه‌های بیمار و افراد سالم محاسبه شد و با استفاده از فرمول  $\Delta\Delta Ct$ ، نسبت ژن هدف به ژن مرجع از طریق فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  مورد محاسبه قرار گرفت. داده‌ها با نرم‌افزارهای تحلیل آماری SPSS و Excel آنالیز شدند و برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها از تست کولموگورف-اسمیرنوف استفاده شد و بدین وسیله توزیع داده‌ها مشخص گردید. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از روش One-Way ANOVA داده‌ها را مورد آنالیز قرار داده شد و  $P < 0.05$  اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

Real Time PCR حجم نهایی هر میکروتیوپ ۲۰ میکرولیتر لحاظ شد که حاوی ۱۰ Pmol از پرایمرهای Forward و Reverse مربوط به هر ژن، ۴۰ نانوگرم cDNA، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس و ۷ میکرولیتر آب RNase free بود. توالی پرایمرهای به کار گرفته شده در این واکنش در جدول ۱ مشخص شده است. در این تحقیق برنامه زمانی گرمایی دستگاه PCR (مدل ۷۳۰۰، Applied Biosystems، Foster City، CA، USA) به صورت ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه، مرحله دوم ۹۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و مرحله آخر دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه

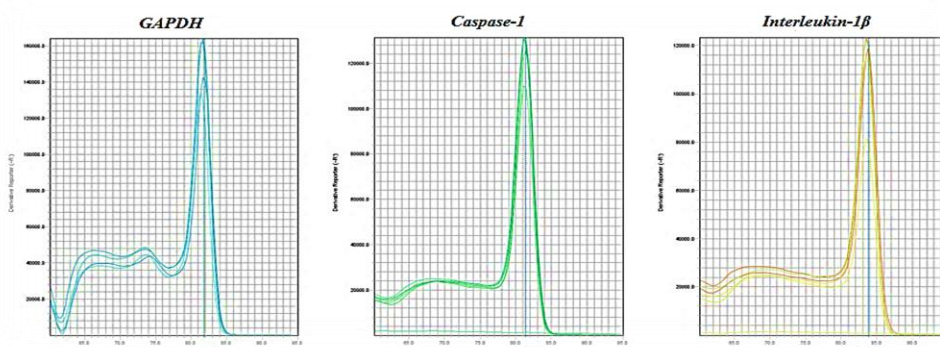
جدول ۱: مشخصات پرایمرهای استفاده شده در Real Time PCR

نام ژن	توالی پرایمر (۵'→۳')	اندازه قطعه تکثیر شده (bp)
IL-1 $\beta$	F: AGTGGCAATGAGGATGACTTGTT R: GCTGTAGTGGTGGTCGGAGATT	۱۲۹
Casp-1	F: CAAGAATATGCCTGTCTGTGAT R: GTCCTGGGAAGAGGTAGAAACATC	۱۳۹
GAPDH	F: CGTCTGCCCTATCAACTTTCG R: CGTTTCTCAGGCTCCCTCT	۷۴

تفاوت CRP اطمینان می‌دهد که التهاب در نمونه‌های بیمار نسبت به نرمال بیش‌تر است. پس از انجام Real Time PCR برای تأیید این که آیا قطعه ژنی به صورت اختصاصی، بدون آلودگی و دایمر پرایمر تکثیر شده است، از آنالیز منحنی ذوب استفاده گردید. طبق شکل ۱ وجود تنها یک پیک برای ژن‌های Casp-1، IL-1 $\beta$  و GAPDH در دمای ذوب ویژه آن‌ها، تأییدکننده اختصاصی بودن محصول تکثیر واکنش می‌باشد.

## نتایج

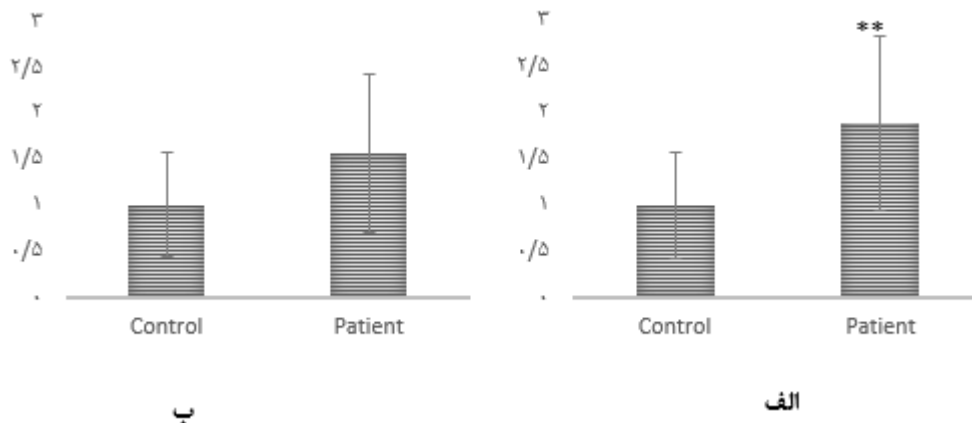
در این مطالعه مجموعاً ۵۶ نمونه (۲۸ بیمار دیالیزی مبتلا به گلوبولونفریت و ۲۸ نمونه سالم) مورد بررسی قرار گرفت. پس از بررسی‌های بالینی و آزمایشگاهی و ورود افراد به مطالعه، شاخص CRP آن‌ها که نوعی شاخص التهاب است تعیین گردید به طوری که میانگین CRP نمونه‌های شاهد ۴/۴۶، اما برای افراد بیمار ۱۱/۲۸ است که این



شکل ۱: تک قله بودن منحنی ذوب ژن‌های IL-1 $\beta$ ، Casp-1 و GAPDH صحت اختصاصی بودن تکثیر را نشان می‌دهد

الف). هم‌چنین بیان ژن IL-1 $\beta$  نمونه‌های بیمار، افزایش ۱/۵۶ برابری نسبت به افراد شاهد نشان می‌دهد که این داده‌ها از لحاظ آنالیز آماری معنی‌دار نبود ( $P = 0.052$ ) (شکل ۲ ب).

طبق شکل ۲ با بررسی میزان بیان دو ژن Casp-1 و IL-1 $\beta$  در نمونه‌های شاهد و بیمار مشخص شد ژن Casp-1 نمونه‌های بیمار دارای افزایش بیان ۱/۸۸ برابری نسبت به افراد شاهد می‌باشد که از لحاظ آماری این تفاوت معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ) (شکل ۲



شکل ۲: ارزیابی بیان ژن‌های Casp-1 و IL-1 $\beta$  در نمونه‌های شاهد و بیمار. الف: افزایش بیان ژن Casp-1 در نمونه‌های بیمار نسبت به نمونه‌های نرمال (P= ۰/۰۵۲). ب: تغییر میزان بیان ژن IL-1 $\beta$  در نمونه بیمار نسبت به نرمال (\*\*P<۰/۰۱).

## بحث

در یک مطالعه دیگر گزارش شد که افزایش فعالیت NLRP3 و Casp-1 و ASC می‌تواند برای کلیه زیان‌بار باشد و این کمپلکس با فعال کردن بیش‌تر سایتوکاین‌های التهابی IL-1 $\beta$  و IL-18 به کلیه آسیب می‌رساند به طوری که IL-1 $\alpha$  و IL-1 $\beta$  آزاد شده از سلول‌های ایمنی به گیرنده IL-1R که در غشای سلول‌های کلیوی قرار دارد متصل می‌گردد. بنابراین سیستم IL-1a/IL- $\beta$ -IL-1R یک عنصر مرکزی التهابات کلیوی می‌باشد (Anders, ۲۰۱۱؛ Haq, ۱۹۹۸). با توجه به نکات ذکر شده، این تحقیق درصد برآمد که عملکرد این کمپلکس را در بیماران گلودونفریت دیالیزی بررسی کند. در این مطالعه برای بررسی این که آیا پروتئین‌های کمپلکس اینفلامازوم می‌توانند در التهاب مشاهده شده در بیماران گلودونفریت، نقش داشته باشند یا نه، بیان دو ژن Casp-1 و IL-1 $\beta$  مورد سنجش قرار گرفت. نتایج Real Time PCR نشان داد که بیان ژن IL-1 $\beta$  در بیماران گلودونفریت به میزان ۱/۵۶ برابر نسبت به نرمال افزایش می‌یابد، اما طبق آنالیز آماری انجام شده مشخص شد که این تفاوت معنی‌دار نیست (P Value = ۰/۰۵۲). همان‌طور که مشخص است P Value بسیار نزدیک به ۰/۰۵ می‌باشد و به نظر می‌رسد که برای رسیدن به سطح معنی‌داری، نیاز به بررسی تعداد نمونه بیش‌تری است. همچنین برای اطمینان بیش‌تر از افزایش تولید این پروتئین در بیماران لازم است سطح پروتئینی این سایتوکاین هم بررسی گردد. زیرا در فرایند ایجاد التهاب در پی فعال شدن اینفلامازوم بلافاصله بیان ژن‌های اینترلوکینی بالا می‌رود و پس از گذشت مدت زمان محدودی ممکن است بیان ژن مجدد به سطح پایه برسد در حالی که پروتئین‌های تولیدشده هم‌چنان فعالند. لذا بررسی پروتئینی جهت تعیین دقیق سازوکار التهاب لازم می‌باشد.

نزدیک به دو دهه است که کمپلکس اینفلامازوم به عنوان یک گیرنده برای سیگنال خطر معرفی شده است. اینفلامازوم‌ها، گیرنده‌های سیستم ایمنی ذاتی و سنسورهایی هستند که می‌توانند فعالیت کاسپاز ۱ را تنظیم کنند و باعث القاء التهاب در پاسخ به میکروب‌ها و مولکول‌های مشتق شده از پروتئین‌های میزبان شوند (Geldhoff, ۲۰۱۳). این کمپلکس در تعداد زیادی از بی‌نظمی‌های التهابی نقش دارد. اخیراً اطلاعات ما از مکانیسم‌های مولکولی التهاب با فهم مکانیسم عملکردی اینفلامازوم‌ها و فعال شدن انواع مختلف آن‌ها، افزایش پیدا کرده است (Gauer, ۲۰۰۷). هم‌چنین افزایش اطلاعات از مدل‌های موشی، دخالت این کمپلکس در شروع و پیشرفت تعداد زیادی از بیماری‌ها را تأیید می‌کند. به تازگی درمان‌هایی به‌واسطه هدف قرار دادن پروتئین‌های فعال شده این کمپلکس در بیماری‌های التهابی تکوین پیدا کرده است (Guo, ۲۰۱۵). از یک طرف اغلب بیماری‌های التهابی با کمپلکس اینفلامازوم در ارتباط هستند و از طرف دیگر گزارش‌های متعددی نقش این کمپلکس را در بیماری‌های کلیوی تأیید کرده‌اند. با این وجود، تاکنون هیچ مطالعه‌ای جهت تعیین نقش فعال شدن کمپلکس اینفلامازوم در بیماری گلودونفریت در جمعیت انسانی انجام نشده است، گرچه مطالعات مشابه در زمینه نقش احتمالی کمپلکس اینفلامازوم در دیگر بیماری‌های التهابی کلیه صورت گرفته است. برای مثال، Bugyei-Twum و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که با مهار کمپلکس اینفلامازوم می‌توان از فیبروزیس قلبی و دیابت ناشی از بیماری مزمن کلیوی، جلوگیری کرد و بدین وسیله به صورت غیرمستقیم نقش اینفلامازوم در التهاب بیماری‌های کلیوی را نشان دادند (Bugyei-Twum, ۲۰۱۶).



## منابع

۱. Anders, HJ. and Muruve, D.A., ۲۰۱۱. The Inflammasomes in Kidney Disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. Vol. 22, No. 6, pp: 1007-1018.
۲. Bugyei-Twum, A.; Abadeh, A.; Thai, K.; Zhang, Y.; Mitchell, M.; Kabir, G. and Connelly, K.A., 2016. Suppression of NLRP3 Inflammasome Activation Ameliorates Chronic Kidney Disease-Induced Cardiac Fibrosis and Diastolic Dysfunction. *Scientific Reports*. Vol. 6, No. 1, 39551 p.
۳. Earle, D.P. and Seegal, D., 1957. Natural history of glomerulonephritis. *Journal of chronic diseases*. Vol. 5, No. 1, pp: 3-13.
۴. Ferrari, D.; Pizzirani, C.; Adinolfi, E.; Lemoli, R.M., Curti, A.; Idzko, M.; Panther, E. and Di Virgilio, F., 2006. The P2X7 receptor: a key player in IL-1 processing and release. *Journal of Immunology*. Vol. 176, No. 7, pp: 3877-3883.
۵. Gauer, S.; Sichler, O.; Obermüller, N.; Holzmann, Y.; Kiss, E.; Sobkowiak, E.; Pfeilschifter, J.; Geiger, H.; Mühl, H. and Hauser, I.A., 2007. IL-18 is expressed in the intercalated cell of human kidney. *Kidney international*. Vol. 72, No. 9, pp: 1081-1087.
۶. Geldhoff, M.; Mook-Kanamori, B.B.; Brouwer, M.C.; Troost, D.; Leemans, J.C.; Flavell, R.A.; Ende, A.V.D.; Poll, T.V.D. and Diederik, V.D.B., 2013. Inflammasome activation mediates inflammation and outcome in humans and mice with pneumococcal meningitis. *BMC infectious diseases*. Vol. 13, No. 1, 358 p.
۷. Granata, S.; Masola, V.; Zoratti, E.; Scupoli, M.T.; Baruzzi, A.; Messa, M.; Sallustio, F.; Gesualdo, L.; Lupo, A. and Zaza, G., 2015. NLRP3 inflammasome activation in dialyzed chronic kidney disease patients. *PLoS One*. Vol. 10, No. 3, e0122272 p.
۸. Guo, H.; Callaway, J.B. and Ting, J.P., 2015. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nature medicine*. Vol. 21, No. 7, pp: 677-687.
۹. Haq, M.; Norman, J.; Saba, S.R.; Ramirez, G. and Rabb, H. 1998. Role of IL-1 in renal ischemic reperfusion injury. *Journal of the American Society of Nephrology*. Vol. 9, No. 4, pp: 614-619.
۱۰. Kanjanabuch, T.; Kittikowit, W. and Eiam-Ong, S., 2009. An update on acute postinfectious glomerulonephritis. *Nature Reviews Nephrology*. Vol. 5, No. 5, pp: 259-269.
۱۱. Latz, E.; Xiao, T.S. and Stutz, A., 2013. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nature Reviews Immunology*. Vol. 13, No. 6, pp: 397-411.
۱۲. Man, S.M. and Kanneganti, T.D., 2015. Regulation of inflammasome activation. *Immunological reviews*. Vol. 265, No. 1, pp: 6-21.

بیان ژن Casp-1 که یکی دیگر از ترکیبات اصلی مسیر فعال سازی کمپلکس اینفلامازوم می باشد نیز در این مطالعه بررسی شد و نتایج نشان داد که بیان این ژن در سلول های تک هسته ای خون محیطی بیماران گلومرولونفریت دیالیزی نسبت به نرمال ۱/۸۸ برابر افزایش دارد و آنالیز آماری معنی دار بودن این تفاوت را تأیید کرد ( $P < 0.01$ ). این نتایج نشان می دهد که افزایش بیان ژن های Casp-1 و IL-1 $\beta$  در بیماران گلومرولونفریتی، احتمالاً نمایانگر فعال شدن مسیر فعال سازی کمپلکس اینفلامازوم در این بیماران می باشد. هم چنین لازم به ذکر است که این نتایج تأیید کننده و نیز هم سو با مطالعات انجام شده قبلی می باشد که صراحتاً نقش کمپلکس اینفلامازوم را در التهاب تأیید کرده بودند.

در یک مطالعه نزدیک به پژوهش حاضر Granata و همکاران (۲۰۱۵) روی بیماران دیالیزی که نارسایی کلیه داشتند مسیر فعالیت اینفلامازوم ها را بررسی کردند. آن ها پس از خون گیری از سلول های تک هسته ای خون محیطی بیماران، بیان ژن های مختلف که در کمپلکس اینفلامازوم نقش داشتند مانند IL-18, NLRP3, IL-1 $\beta$ , ASC, Casp-1 را با P2XR7 را ابتدا در سطح رونویسی و سپس با وسترن بلات، ایمونوفلورسانس، میکروآری و تصویربرداری کونفو کال در سطح پروتئینی بررسی کردند. نتایج نشان داد میزان بیان ژن های اینفلامازوم به خصوص Casp-1 و IL-1 $\beta$  در بیماران دیالیز شده به طور معنی داری بیش تر از افراد سالم است. در مطالعه ای دیگر که Timoshanko و همکاران (۲۰۰۴) نقش اینترلوکین ۱ را در ایجاد التهاب گلومرول های کلیه بررسی می کردند، گزارش کردند که موش های ترانس ژنتیکی که دارای نقص در ژن گیرنده اینترلوکین ۱ بودند، در پاسخ به عوامل التهابی از هیچ گونه التهابی را نشان نمی دهند. هم چنین در مطالعه دیگری که بر روی مدل موشی انجام شد نقش اینترلوکین ۱ در پاتوژنز بیماری گلومرولونفریت بتایید گردید. در این مطالعه از آنتاگونیست اینترلوکین ۱ با نام IL1ra استفاده شد و نتایج نشان داد مهار اینترلوکین ۱ حضور ماکروفاژها را در گلومرول ها کاهش می دهد و علائم گلومرولونفریت در موش ها از بین می رود (Timoshanko, ۲۰۰۴).

در مجموع، مطالعه حاضر در تکمیل گزارش ها و مطالعات مختلف که بیانگر نقش کمپلکس اینفلامازوم در برخی از بیماری های التهابی است، نشان داد که بیان ژن های Casp-1 و IL-1 $\beta$  در بیماران گلومرولونفریتی دیالیزی نسبت به افراد نرمال افزایش بیان پیدا می کنند و به عبارت دیگر می توان این گونه مطرح کرد که بروز التهاب در افراد مورد مطالعه به احتمال فراوان ناشی از فعالیت مسیر سیگنالینگ کمپلکس اینفلامازوم می باشد. بنابراین می توان در آینده امیدوار بود که با هدف قرار دادن پروتئین های این کمپلکس، چشم انداز جدیدی در درمان بیماران مبتلا به گلومرولونفریت ایجاد شود.



۱۳. **Mogensen, T.H., 2009.** Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clinical microbiology reviews*. Vol. 22, No. 2, pp: 240-273.
۱۴. **Mortimer, L.; Moreau, F.; MacDonald, J.A. and Chadee, K., 2016.** NLRP3 inflammasome inhibition is disrupted in a group of auto-inflammatory disease CAPS mutations. *Nature Immunology*. Vol. 17, No. 10, pp: 1176-1186.
۱۵. **Mulay, S.R.; Linkermann, A. and Anders, H.J., 2015.** Necroinflammation in kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. Vol. 27, No. 1, pp: 27-39.
۱۶. **Timoshanko, J.R.; Kitching, A.R.; Iwakura, Y.; Holdsworth, S.R. and Tipping, P.G., 2004.** Contributions of IL-1 $\beta$  and IL-1 $\alpha$  to crescentic glomerulonephritis in mice. *Journal of the American Society of Nephrology*. Vol. 15, No. 4, pp: 910-918.
۱۷. **Timoshanko, J.R.; Kitching, A.R.; Iwakura, Y.; Holdsworth, S.R. and Tipping, P.G., 2004.** Leukocyte derived interleukin-1 $\beta$  interacts with renal interleukin-1 receptor I to promote renal tumor necrosis factor and glomerular injury in murine crescentic glomerulonephritis. *The American journal of pathology*. Vol. 164, No. 6, pp: 1967-1977.
۱۸. **Vezzani, A.; Moneta, D.; Richichi, C.; Aliprandi, M.; Burrows, S.J.; Ravizza, T.; Perego, C. and De Simoni, M.G., 2002.** Functional role of inflammatory cytokines and antiinflammatory molecules in seizures and epileptogenesis. *Epilepsia*. Vol. 43, No. 5, pp: 30-35.

