ارزیابی بیان ژن‌های Caspase-1 و Interleukin-1β دخیل درکمپلکس اینفلامازوم بیماران دیالیزی مبتلا به گلومرولونفریت

- **فرشید اروجی:** گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم‌زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
- **فهیمه باغبانی‌آرانی*:** گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم‌زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
- **معصومه مهدوی‌اورتاکند:** گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم‌زیستی،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 گلومرول‌ها و در نتیجه نارسایی کلیه مشاهده می‌گردد. یکی از اجزاء درون سلولی که فرآیند التهاب را شکل می‌دهد کمپلکس اینفلامازوم است که از مهم‌ترین ارکان سیستم ایمنی ذاتی در ایجاد التهاب می‌باشد. کمپلکس اینفلامازوم به‌دنبال شناسایی سیگنال‌های پاتوژنیک تحریک شده و اینترلوکین‌های التهابی را فعال می‌کند. با توجه به نقش ژن‌های Caspase-1 و Interleukin-1β درتنظیم اینفلامازوم و ایجاد التهاب، بررسی میزان بیان این دو ژن در بیماران مبتلا به گلومرولونفریت، می‌تواند در تعیین نقش اینفلامازوم‌ها در بیماری گلومرولونفریت مفید باشد. به‌همین منظور، در این مطالعه ۲۸ نمونه بیمار مبتلا به گلومرولونفریت و ۲۸ فرد سالم بررسی شدند. پس از خون‌گیری از افراد، سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) جدا شده واستخراج RNA انجام شد. پس از سنتز cDNA آنالیز کمّی بیان ژن با روش Real Time PCR برای ژن‌های IL-1β و Casp-1 صورت پذیرفت. نتایج نشان داد بیان ژن‌های IL-1β و Casp-1 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی بیماران مبتلا به گلومرولونفریت دیالیزی نسبت به نمونه‌های شاهد متفاوت می‌باشد به‌طوری‌که به‌ترتیب بیان ژن‌های Casp-1 وIL-1β در نمونه‌های بیمار ۱/۸۸ (P<۰/۰۱) و ۱/۵۶(P=۰/۰۵۲) برابر نمونه‌های شاهد می‌باشد که این تفاوت در مورد ژن Casp-1 معنی‌دار می‌باشد. با توجه به نتایج و نقش ژن‌های IL-1β و Casp-1 در مسیر فعال‌سازی کمپلکس اینفلامازوم از یک طرف و افزایش بیان معنی‌دار این ژن‌ها در بیماران گلومرولونفریت در طرف دیگر، می‌توان نتیجه گرفت که به احتمال زیاد بروز گلومرولونفریت از مسیر سیگنالینگ فعال‌سازی کمپلکس اینفلامازوم می‌باشد.

کلمات کلیدی: گلومرولونفریت، کمپلکس اینفلامازوم،Caspase-1، Interleukin-1β

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: fbaghbani@iauvaramin.ac.ir

مقدمه

سالانه افراد بی‌شماری در سراسر جهان به بیماری‌های کلیوی مبتلا می‌شوند و یکی از مهم‌ترین بیماری‌های کلیوی،گلومرولونفریت می‌باشد. گلومرولونفریت، بیماری التهابی مرتبط با گلومرول‌های 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، ۱۹۵۷؛ Kanjanabuch، ۲۰۰۹). از آن‌جایی‌که گلومرولونفریت به‌علت ایجاد التهاب درگلومرول‌ها ایجاد می‌شود بنابراین اخیراً مطالعه مکانیسم‌های التهاب درگیر در این بیماری مورد توجه قرارگرفته است. التهاب، به‌عنوان یکی از مکانیسم های ایمنی ذاتی، منجر به رفع علت آسیب سلولی شده و به دو صورت حاد و مزمن دیده می‌شود (Mogensen، ۲۰۰۹). التهاب درصورت پاسخ نادرست می‌تواند باعث‌ایجادبیماری‌های مختلفی شود و مسیرهای متفاوت مولکولی در این بیماری‌ها درگیر هستند، ازجمله این بیماری‌ها می‌توان به گلومرولونفریت، مالتیپل اسکلروز (MS)، صرع و آلزایمر اشاره کرد (Vezzani، ۲۰۰۲). در چند سال اخیر یکی از مکانیسم‌هایی که در التهاب مورد توجه قرارگرفته است کمپلکس اینفلامازوم می‌باشد که نقش آن در تعدادی زیادی از مسیرهای التهابی مشخص شده است (Man، ۲۰۱۵). 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 گیرنده‌های‌سیتوزولی، پروتئین‌های آداپتور و پروکاسپاز۱ تشکیل شده است. مهم‌ترین گیرنده کمپلکس اینفلامازوم، خانواده گیرنده‌های شبه Nod یا NLR می‌باشدکه این گیرنده‌ها جزئی از مولکول‌های اصلی ایمنی‌ذاتی با عنوان PRR یا Pattern Recognition Receptor می‌باشند که به مولکول‌های شاخص پاتوژنیک و التهاب‌زا متصل می‌شوند. آداپتور کمپلکس‌پروتئین ASC می‌باشد(Mulay، ۲۰۱۵).فعال‌شدن اینفلامازوم منجر به شکسته شدن پروکاسپاز۱ موجود در ساختار کمپلکس به کاسپاز۱ شده در نهایت باعث راه‌اندازی مسیرهای سیگنالی تولیدکننده سایتوکاین‌های پیش‌التهابی فعال مانند IL-18 و IL-1β می‌شود (Latz، ۲۰۱۳). آن‌چه بدیهی است گلومرولونفریت یک بیماری التهابی است که باعث تخریب گلومرول‌های کلیه و در نتیجه نارسایی کلیه می‌شود. از طرفی اینفلامازوم‌ها مهم‌ترین ارکان سیستم ایمنی ذاتی در ایجاد التهاب می‌باشند و از آن‌جاکه منشا ایجاد التهاب می‌تواند در مدیریت درمان و تشخیص‌روش درمانی موثر باشدلذا 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 به‌عنوان‌یکی ازمهم‌ترین‌خطوط درمان بیماری‌های التهابی در دنیا شناخته شده است به‌طوری‌که مولکول‌های مهارکننده کمپلکس NLRP3 امروزه به‌عنوان‌کاندید درمان بیماری‌های خودایمنی مطرح هستند (Ferrari، ۲۰۰۶؛ Mortimer، ۲۰۱۶). از آن‌جاکه بیان ژن کاسپاز۱ برای تنظیم اینفلامازوم ضروری است و تولید اینترلوکین۱ در نتیجه فعال شدن اینفلامازوم است لذا بررسی میزان بیان این دو ژن در بیماران مبتلا به گلومرولونفریت می‌تواند در تشخیص نقش فعال شدن اینفلامازوم‌ها در بیماری گلومرولونفریت مفید بوده و تشخیص روش‌های‌درمانی و پروسه درمان را تسهیل‌کند. بنابراین در این پژوهش سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی بیماران از نظر میزان بیان ژن IL-1β 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 گلومرولونفریت و افراد سالم در محدوده سنّی یکسان می‌باشند. معیارهای ورود به مطالعه، بیمارانی هستند که با معاینات فیزیکی و نتایج آزمایشگاهی توسط متخصص اورولوژی مبتلا به گلومرولونفریت 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 قرارگرفته و افرادی وارد مطالعه شدند که داروی خاصی دریافت نکرده و از نظر سنّی 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 واکنش‌گرTrizol (Invitrogen, آمریکا) استفاده شد و به‌منظور بررسی کمّی 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 سنتزcDNA 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 ۱۵دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و ۵ ثانیه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد cDNA ساخته شد. به‌منظور تکثیر قطعه‌های ژنی Casp-1 و IL-1β به‌عنوان ژن هدف و ژن GAPDH به‌عنوان ژن مرجع، پرایمرهای اختصاصی طراحی و جهت اطمینان از عدم اتصال غیراختصاصی پرایمرهاازابزارآنلاین BLAST استفاده‌گردید.در واکنش

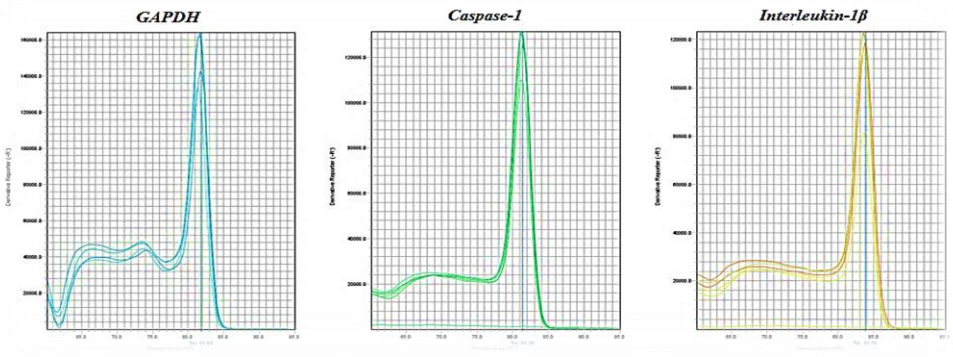
Real Time PCRحجم نهایی هر میکروتیوپ ۲۰ میکرولیتر لحاظ شد که حاوی Pmol ۱۰ از پرایمرهای Forward و Reverse مربوط به هر ژن، ۴۰ نانوگرم cDNA، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس و ۷ میکرولیتر آب RNase free بود. توالی پرایمرهای به‌کارگرفته شده در این واکنش در جدول ۱ مشخص‌شده است. دراین تحقیق برنامه زمانی گرمایی دستگاه PCR (مدل ABI ۷۳۰۰، Foster City, Applied Biosystems, CA, USA) به‌صورت ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۸ دقیقه، مرحله دوم ۹۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه و مرحله آخر دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها مطابق مقایسه چرخه آستانه انجام گرفت و اختلاف چرخه آستانه به‌دست آمده از نمونه‌های بیمار و افراد سالم محاسبه شد و با استفاده از فرمول ΔΔCt، نسبت ژن هدف به ژن مرجع از طریق فرمول ۲-ΔΔCt مورد محاسبه قرار گرفت. داده‌ها با نرم‌افزارهای تحلیل آماری SPSS و Excel آنالیز شدند و برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها از تست کولموگورف- اسمیرنوف‌استفاده شد و بدین‌وسیله 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<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار درنظر گرفته شد.

جدول۱: مشخصات پرایمرهای استفاده شده در Real Time PCR

نام ژن	توالی پرایمر(`۳→`۵)	اندازه قطعه تکثیر شده (bp)
IL-1β	F: AGTGGCAATGAGGATGACTTGTT R: GCTGTAGTGGTGGTCGGAGATT	۱۲۹
Casp-1	F: CAAGAATATGCCTGTTCCTGTGAT R: GTCCTGGGAAGAGGTAGAAACATC	۱۳۹
GAPDH	F: CGTCTGCCCTATCAACTTTCG R: CGTTTCTCAGGCTCCCTCT	۷۴

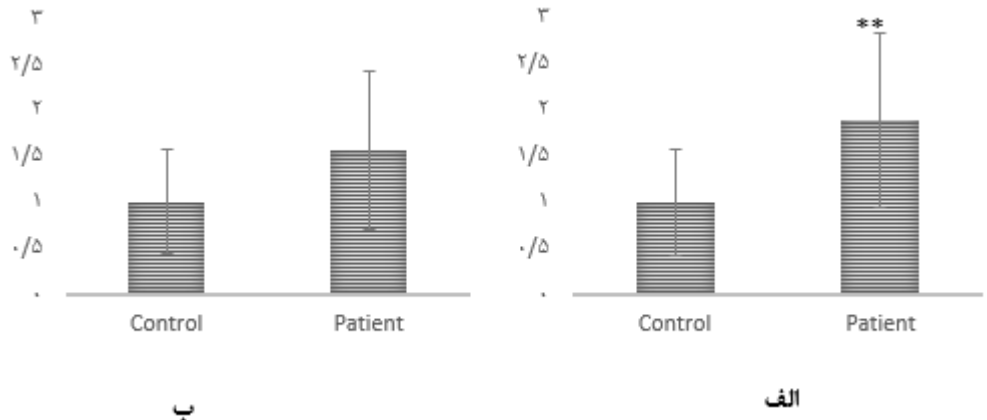
نتایج

در این مطالعه مجموعاً ۵۶ نمونه (۲۸ بیمار دیالیزی مبتلا به گلومرولونفریت 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 به‌طوری‌که میانگین CRP نمونه‌های شاهد ۴/۴۶، اما برای افراد بیمار ۱۱/۲۸ است که این تفاوت CRP اطمینان می‌دهد که التهاب در نمونه‌های بیمار نسبت به نرمال بیش‌تر است. پس از انجام Real Time PCR برای تائید این‌که آیا قطعه ژنی به‌صورت اختصاصی، بدون آلودگی و دایمر پرایمر تکثیرشده است، از آنالیز منحنی ذوب استفاده گردید. طبق شکل۱ وجود تنها یک پیک برای ژن‌های Casp-1، IL-1β و GAPDH در دمای ذوب ویژه آن‌ها، تائیدکننده‌اختصاصی‌بودن‌محصول تکثیر واکنش می‌باشد.



شکل۱: تک قله بودن منحنی ذوب ژن‌های *Casp-1*، *IL-1β* و *GAPDH* صحت اختصاصی بودن تکثیر را نشان می‌دهد

طبق شکل۲ با بررسی میزان بیان دو ژن Casp-1 و IL-1β 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<۰/۰۱) (شکل ۲ الف). هم‌چنین بیان ژن IL-1β نمونه‌های بیمار، افزایش ۱/۵۶ برابری نسبت به افراد شاهد نشان می‌دهد که این داده‌ها از لحاظ آنالیز آماری معنی‌دار نبود (P=۰/۰۵۲) (شکل ۲ ب).



شکل۲: ارزیابی بیان ژن‌های Casp-1 و IL-1β در نمونه‌های شاهد و بیمار. الف: افزایش بیان ژن Casp-1 در نمونه‌های بیمار نسبت به نمونه‌های نرمال (P<۰/۰۱). ب: تغییر میزان بیان ژن IL-1β در نمونه بیمار نسبت به نرمال (P= ۰/۰۵۲)**

بحث

نزدیک به دو دهه است که کمپلکس اینفلامازوم به عنوان یک گیرنده برای سیگنال خطر معرفی شده است. اینفلامازوم‌ها، گیرنده‌های سیستم ایمنی‌ذاتی و سنسورهایی‌هستند 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 تائید می‌کند. به تازگی درمان‌هایی به‌واسطه هدف قرار دادن پروتئین‌های فعال‌شده این کمپلکس در بیماری‌های التهابی تکوین پیداکرده 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 تائید کرده‌اند. با این وجود، تاکنون هیچ مطالعه‌ای جهت تعیین نقش فعال شدن کمپلکس اینفلامازوم در بیماری گلومرولونفریت 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 فیبروسیس قلبی و دیابت ناشی از بیماری مزمن کلیوی، جلوگیری کرد و بدین وسیله به‌صورت غیرمستقیم نقش اینفلامازوم در التهاب بیماری‌های کلیوی را نشان دادند (Bugyei-Twum، ۲۰۱۶).

در یک مطالعه دیگر گزارش شد که افزایش فعالیت NLRP3 و Casp-۱ و ASC می‌تواند برای کلیه زیان‌بار باشد و این کمپلکس با فعال کردن بیش‌تر سایتوکاین‌های التهابی IL-1β و IL-18 به کلیه آسیب می‌رساند به‌طوری‌که IL-1α و IL-1β آزاد شده از سلول‌های ایمنی به گیرنده IL-1R که در غشای سلول‌های کلیوی قرار دارد متصل می‌گردد. بنابراین سیستم IL-1a/IL-β-IL-1R یک عنصر مرکزی التهابات کلیوی می‌باشد (Anders، ۲۰۰۱۱؛ Haq، ۱۹۹۸). با توجه به نکات ذکر شده، این تحقیق درصدد برآمد که عملکرد این کمپلکس را در بیماران گلومرولونفریت دیالیزی بررسی کند. در این مطالعه برای بررسی این‌که آیا پروتئین‌های کمپلکس اینفلامازوم می‌توانند در التهاب مشاهده شده دربیماران گلومرولونفریت، نقش‌داشته‌باشند یانه، بیان دو ژن Casp-1 و IL-1β مورد سنجش قرار گرفت. نتایج Real Time PCR نشان داد که بیان ژن IL-1β در بیماران گلومرولونفریت 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). همان طورکه مشخص است P Value بسیار نزدیک به ۰/۰۵می‌باشد و به‌نظر 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 حالی‌که پروتئین‌های تولیدشده هم‌چنان فعالند. لذا بررسی پروتئینی جهت تعیین دقیق سازوکار التهاب لازم می‌باشد.

بیان ژن Casp-1 که یکی دیگر از ترکیبات اصلی مسیر فعال‌سازی کمپلکس اینفلامازوم می‌باشد نیز در این مطالعه بررسی شد و نتایج نشان داد که بیان این ژن در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی بیماران گلومرولونفریت دیالیزی نسبت به نرمال ۱/۸۸ برابر افزایش دارد و آنالیز آماری معنی‌دار بودن این تفاوت را تائید کرد (P<۰/۰۱). این نتایج نشان می‌دهد که افزایش بیان ژن‌های Casp-1 و IL-1β در بیماران گلومرولونفریتی، احتمالاً نمایان‌گر فعال شدن مسیر فعال‌سازی کمپلکس اینفلامازوم در این بیماران می‌باشد. هم‌چنین لازم به ذکر است که این نتایج تائیدکننده و نیز هم‌سو با مطالعات انجام‌شده قبلی می‌باشد که صراحتاً نقش کمپلکس اینفلامازوم را در التهاب تائید 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. آن‌ها پس از خون‌گیری از سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی بیماران، بیان ژن‌های مختلف که در کمپلکس اینفلامازوم نقش داشتند مانند IL-18, NLRP3, ،IL-1β, ASC, Casp-1 P2XR7 را ابتدا در سطح رونویسی و سپس با وسترن بلات، ایمنوفلورسانس، میکرواری و تصویربرداری کونفوکال در سطح پروتئینی بررسی کردند. نتایج نشان داد میزان بیان ژن‌های اینفلامازوم به‌خصوص Casp-1 و IL-1β در بیماران دیالیز شده به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از افراد سالم است. در مطالعه‌ای دیگر که Timoshanko و همکاران (۲۰۰۴) نقش اینترلوکین۱ را در ایجاد التهاب گلومرول‌های کلیه بررسی می‌کردند، گزارش کردند که موش‌های ترانس‌ژنتیکی که دارای نقص در ژن گیرنده اینترلوکین۱ بودند، در پاسخ به عوامل التهاب‌زا هیچ‌گونه التهابی را نشان نمی‌دهند. هم‌چنین 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 ILra استفاده شد و نتایج نشان داد مهار اینترلوکین۱ حضور ماکروفاژها را در گلومرول‌ها کاهش می‌دهد و علائم گلومرولونفریت در موش ها از بین می‌رود (Timoshanko، ۲۰۰۴).

در مجموع، مطالعه حاضر در تکمیل گزارش‌ها و مطالعات مختلف که بیانگر نقش کمپلکس اینفلامازوم در برخی از بیماری‌های التهابی است، نشان داد که بیان ژن‌های Casp-1 و IL-1β در بیماران گلومرولونفریتی دیالیزی نسبت به افراد نرمال افزایش بیان پیدا می‌کنند و به‌عبارت دیگر می‌توان این‌گونه مطرح کرد که بروز التهاب در افراد مورد مطالعه به‌احتمال فراوان ناشی از فعالیت مسیر سیگنالینگ کمپلکس اینفلامازوم می‌باشد. بنابراین می‌توان در آینده امیدوار بود که با هدف قرار دادن پروتئین‌های این کمپلکس، چشم‌انداز جدیدی در درمان بیماران مبتلا به گلومرولونفریت ایجاد شود.

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.

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-1β and IL-1α 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-1β 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.