

## ORIGINAL ARTICLE



# Gluthathione in patients with chronic renal failure

A Leila AZOUAOU<sup>1</sup>, Medina ARAB<sup>2</sup>, Omar CHABATI<sup>3</sup>, Wafa BELLOUTI<sup>4</sup>, Zakia GHECHI<sup>5</sup>, Henni CHADER<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>CHU Hussein Dey ex Parnet, Alger ,Algérie.

<sup>2</sup>Laboratoire de biochimie au CNMS Alger, Algérie.

<sup>3</sup>Service de pneumologie, CHU Beni Messous Alger, Algérie.

<sup>4</sup>Laboratoire de biochimie du CHU Hussein Dey ex Parnet, Alger, Algérie.

<sup>5</sup>Laboratoire de microbiologie CHU Hussein Dey ex Parnet, Alger, Algérie.

<sup>6</sup>CHU CNMS ,Institut pasteur Alger, Algérie.

### ABSTRACT

**Introduction.** Glutathione is involved in several detoxification reactions and elimination of reactive oxygen species. The activities of glutathione peroxidase and reductase (GSH) and (GSSG) are very impaired in dialysis patients. The aim of this study is to measure glutathione in patients with chronic renal failure. **Materials and methods.** This is a descriptive longitudinal study with prospective collection, involving 310 patients including 260 in chronic renal failure over a period of two years. We took an exhaustive sample, all patients in chronic renal failure who completed the conditions of recruitment. All patients received a glutathione blood sample. **Results.** We found that the average age of the population was 64.74 years with an average CRPus of 8.89. The average glutathione value is estimated at  $52.21 \pm 1.31$  IU/ml; its value drops significantly with the alteration of renal function. ( $p < 0.05$ ). **Conclusion.** Glutathione is considered a very powerful antioxidant in inflammatory phenomena. glutathione levels are low in patients with chronic renal failure.

### ARTICLE HISTORY

Received 28 Oct 2023

Accepted 04 Feb 2024

### KEYWORDS

Glutathion, chronic renal failure, hemodialysis, Oxidative Stress.

### CORRESPONDING AUTHOR

A Leila AZOUAOU

azouaouliela@yahoo.fr

## 1. INTRODUCTION

Le glutathion est un tripeptide qui, existe sous forme oxydé et réduit intervient dans le maintien du potentiel redox du cytoplasme de la cellule. Il intervient aussi dans un certain nombre de réactions de détoxification et d'élimination d'espèces réactives de l'oxygène. Les activités de glutathion peroxydase et réductase (GSH) et (GSSG) sont très altérées chez les patients dialysés, [1]à la fois dans les érythrocytes et dans le plasma ; la concentration de glutathion diminue considérablement lorsqu'elle est mesurée dans le sang total,[2] chez les patients

hémodialysés en raison de plusieurs paramètres tel que la bioincompatibilité du dialyseur, les endotoxines . le but de l'étude est de doser le glutathion chez les patients en Insuffisance rénale chronique .

## 2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

C'est une étude longitudinale descriptive à recueil prospectif, portant sur 310 patients dont 260 en insuffisance rénale chronique sur une durée de deux ans .Nous avons pris un

échantillon exhaustif c'est-à-dire tous les patients en insuffisance rénale chronique qui remplissent les conditions de recrutement. Tous les patients ont bénéficié d'un prélèvement sanguins du glutathion. Nous avons inclus dans l'étude tous les patients âgés de plus de 18ans, présentant une insuffisance rénale chronique(IRC) d'étiologies diverses, et à différents stades d'évolution de l'IRC ainsi que les malades hémodialysés. Par ailleurs, les sujets doivent être stables sur le plan clinique durant les 3 mois précédant le début de l'étude et n'ayant pas reçu un traitement par le fer injectable. En effet, ce dernier est une source importante de génération des radicaux libres oxygénés [3]. Les patients exclus de l'étude sont les patients présentant : une cardiopathie préexistante à l'IRC, une valvulopathie sévère, une péricardite constrictive, une dysfonction systolique à FE inférieure à 50%,patients dialysés depuis moins de 6 mois, patients atteints de Maladie rénale chronique avec un débit de filtration glomérulaire (DFG) supérieur à 90ml/mn ainsi que les patients en dialyse péritonéale. Nous avons classé nos groupes de malades selon la classification KDGO 2012 [4] de maladies rénales chroniques. Cependant, nous avons exclu de l'étude les patients du stade 1 (DFG 90ml/mn).Le stade de l'IRC a été estimé par la clairance de la créatinine, que nous avons calculée par la formule de MDRD [5] . Ainsi, nos patients ont été répartis comme suit : 51 patients ayant une IRC légère stade 2 ,51 patients ayant une IRC modérée stade 3, 51patients ayant une IRC sévère stade 4 et 107patients ayant une IRC très sévère avec une clairance de la créatinine inférieure à 15 ml/mn, dont 55 patients ont été recrutés avant la dialyse et 52étaient en hémodialyse ou stade 5D. Nous avons recruté 50 sujets apparemment sains. Au total nous avons recruté dans cette étude 310 cas dont : 260 cas malades de MRC et 50 cas témoins sains recrutés du centre de Centre de transfusion sanguin dont la moyenne d'âge est de 52 ans et un sexe ratio de 1,2 avec prédominance masculine . (tableau 1). Les analyses sanguines du monoxyde d'azote ont été effectuées sur du plasma qui a été collecté dans des tubes contenant de l'acide éthylène diamine tétra acétique dipotassique (EDTA K2). Une fois les prélèvements sanguins effectués, les tubes ont été centrifugés pour 10 min à 4500 rpm (3900 g), puis aliquotés et conservés au congélateur à -20°C jusqu'au moment des analyses. La méthode utilisée pour doser le glutathion , Le dosage des glutathions a été effectué selon la méthode colorimétrique à 412 nm [6] . L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel Statistical Package of Social Sciences « SPSS n°22».La comparaison des deux moyennes a été faite par le test student. La comparaison de plus de deux moyennes des variables continues a été faite par le test Anova pour les tests paramétriques et pour les tests non paramétriques les tests welch et Brown – Forsythe ont été utilisés, par contre nous avons utilisé le test de Tukey et de Hartmane pour les comparaisons multiples. Le test X2 a été utilisé pour les variables qualitatives. Pour tous les tests, une valeur de  $p < 0,05$  a été

considérée comme significative. Le test de Pearson a été utilisé pour les corrélations linéaires. Pour les études multivariées des facteurs indépendants, nous avons utilisé un modèle de régression logistique- type Wald pas à pas ; tous les facteurs ayant un  $p < 0,1$  sont inclus dans ces analyses. Nous avons utilisé la courbe de survie de type kaplan Meier. Le test de logrank a été utilisé comme test de comparaison. L'étude s'est conformée aux règles éthiques applicables à la recherche scientifique internationale selon la déclaration d'Helsinki. La confidentialité et l'anonymat ont été assurés en attribuant un numéro, date, site et ne comportant pas le nom ni prénom des patients [7].

### 3. RESULTATS

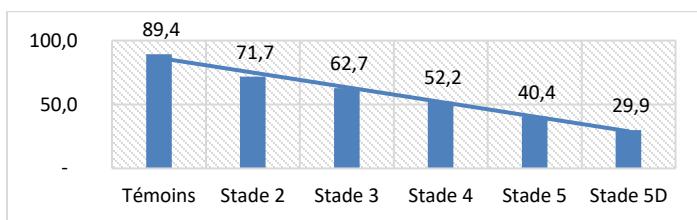
Concernant les caractéristiques générales de la population, nous avons trouvé que l'âge moyen de la population est de 64,74 ans et une CRPus moyenne est de 8,89.

**Tableau 1.** Caractéristiques générales de chaque groupe.

	Témoins	Stade 2	Stade 3	Stade 4	Stade 5	Stade 5D	Population totale
	89,4 ± 2,6	71,7 ± 1,6	62,7 ± 1	52,2 ± 1,8	40,4 ± 1	29,9 ± 0,8	52.21 ± 1,3
Intervalle de confiance 95%	88.6	68.51	60.65	48.60	38.34	28.22	57.83
	90.36	74.86	64.66	55.82	42.43	31.66	62.38

**Tableau 2.** Répartition de la valeur moyenne de glutathion dans chaque groupe d'IRC.

	Stade 2	Stade 3	Stade 4	Stade 5	Stade 5d
Effective	51	51	51	55	52
Age	70.7±13.4	63.0±20,9	64.1±13.9	66.6±7.8	60.3±9.8
hémoglobine	11.5±2.29	11.3±1.10	11,78±1.46	10.98±1.00	9.3±0.76
Cholestérol	1.90±0.06	2.3±0.18	2.89±0.23	1.34±1.53	1.49±0.49
HDLc	0.45±0.12	0.53±0.12	0.31±0.13	0.35±0.13	0.44±0.12
Triglycéride	1.41±0.31	2.55±1.54	2.15±1.33	2.79±1.34	3.5±1.43
CRPus	0.66±0.19	2.34±0.93	8.29±1.78	15.66±0.35	17.53±0.57
PTH	67.4±4.1	120.5±3.5	386.6±16.5	673.3±41.8	913.8±102.8
P	35.4±1	41.7±7.6	52.4±0.9	54.9±7.1	69±2.4
Ca	90.4±2.5	86.2±2.1	84.6±1.2	83.1±2.4	88.2±2.1



**Figure 1.** Répartition de la valeur moyenne de glutathion dans chaque groupe d'IRC.

En moyenne, la valeur moyenne du glutathion est estimée à  $52.21 \pm 1,3$  UI/ml. Sa valeur baisse significativement avec la dégradation de la fonction rénale. ( $p < 0,05$ )

#### 4. DISCUSSION

L'état d'oxydo-réduction (redox) du pool de thiols cellulaires joue un rôle central dans la défense antioxydante et dans la régulation d'un grand nombre de voies de transduction de signal et de fonctions métaboliques [8]. Le glutathion tripeptidique (GSH), c'est-à-dire la L- $\gamma$ -glutamyl-L-cystéinyl-glycine (MW 307), représente le principal composé thiol de faible masse moléculaire participant aux réactions rédox cellulaires et à la formation de thioéther. Sous stress oxydatif, le GSH est oxydé en disulfure de glutathion (GSSG) puis en d'autres produits tels que les sulfonates. Des disulfures de glutathion-cystéinyle peuvent également se former sur les protéines et ce glutathion lié constitue une quantité considérable du pool de glutathion cellulaire. Des preuves convaincantes ont montré que le stress oxydatif, résultant d'un déséquilibre entre les systèmes prooxydants et antioxydants en faveur du premier, contribue largement à la dérégulation du système immunitaire et aux complications observées chez les patients atteints d'insuffisance rénale terminale (IRT) traités par hémodialyse, y compris la  $\beta$ 2-microglobuline. L'arthropathie amyloïde et l'athérosclérose accélérée qui sont responsables du taux élevé de morbidité et de mortalité chez ces patients [9]. Il est intéressant de noter que les marqueurs du stress oxydatif sont liés à l'épaisseur de l'intima média de la carotide, reflet du processus d'athérosclérose [10]. Concernant la carence en antioxydants, il est bien établi que : le milieu urémique en soi induit une carence en constituants et cofacteurs du système enzymatique [11] ( $Zn^{2+}$ ,  $Se^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ) ; et ceci est encore aggravé par la procédure de dialyse qui provoque une perte de molécules antioxydantes non enzymatiques et enzymatiques [12].

Dans notre travail nous avons dosé le glutathion réductase et nous avons obtenu les mêmes résultats que les 2 études sus citées. Le taux le plus faible se voit chez les hémodialysés et le taux le plus élevé se voit chez les témoins ( $29,9 \pm 0,8$  IU/ml

versus  $89.4 \pm 2.6$  IU/ml). Un ancien travail publié par Ceballos Picot et al de l'hôpital de Necker [13] sur le dosage du glutathion sur 233 patients dont 185 en IRC sévère non dialysés et 48 patients en hémodialyse ou en dialyse péritonéale. Le dosage a été fait sur le glutathion peroxydase et le glutathion réductase, ils ont conclu que les taux des glutathions peroxydases et réductase diminuaient avec la dégradation de la fonction rénale (GHS Px ( $r = 0.65$ ,  $p < .001$ ), GSH r ( $r = 0.41$ ,  $p < .001$ ) et que les taux les plus bas se voyaient chez les patients au stade d'hémodialyse. Un travail publié en 2013 par HF. Tbharti portant sur 167 patients, en IRC dont 40 patients hémodialysés, 25 patients en dialyse péritonéale et 102 patients en IRC répartis en 4 groupes du stade débutant au stade préterminal [14]. Le dosage du glutathion peroxydase a été fait chez ces patients et les résultats étaient respectivement (CKD1 :  $7,71 \pm 0,01$  U/ml, CKD2 :  $6,62 \pm 0,50$  U/ml, CKD 3 :  $5,23 \pm 0,23$  U/ml, CKD 4 :  $5,01 \pm 0,82$  U/ml, HD :  $3,99 \pm 1,39$  U/ml et les patients en DP :  $4,94 \pm 1,12$  U/ml) ( $p < 0.001$ ). On constate que plus la fonction rénale se dégrade plus il y a baisse de glutathion et le taux le plus faible se voit chez les hémodialysés.

Malgré la petite taille de l'échantillon étudié et la durée courte de l'étude, nous avons pu mettre en évidence la corrélation négative entre les DFG des malades en IRC et le taux moyen de glutathion.

#### 5. CONCLUSION

Le glutathion est considéré comme un anti-oxydant très puissant dans les phénomènes inflammatoires. Les taux de glutathion sont faibles chez les patients en insuffisances rénales chroniques.

**Déclaration d'intérêts :** les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts.

#### 6. REFERENCES

1. Tepel M, van der Giet M, Statz M et al. The antioxidant acetylcysteine reduces cardiovascular events in patients with end-stage renal failure: a randomized, controlled trial. *Circulation* ; 2003 ; 107: 992–995.
2. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt JP et al. Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant*: 2001; 16: 335–340.
3. Bresgen N, Eckl PM. Oxidative stress and the homeodynamics of iron metabolism. *Biomolecules* 2015; 5: 808-47.
4. Kellum JA, Lameire N. Recommendations Kidney Disease Improving Global (KDIGO). *Kidney Int Suppl* 2012; 2: 19-36.
5. Klahr S, Levey AS, Beck JG, et al. The effects of dietary protein

- restriction and blood pressure control on the progression of chronic renal disease. *N Engl J Med.* 1994;330:877–84.
6. Richard MJ, Belleville F, Chalas J, Ceballos-Picot I, Vitoux D, Boyer MJ, Chaudière J, Favier A. Les glutathion peroxydases : intérêt de leur dosage en biologie clinique *Annales de biologie clinique* :1997. 55, 3 ; 52-57.
7. Weisstub, David N., « The Ethical Parameters of Experimentation », dans David N. WEISSTUB (dir.), *Research on Human Subjects*, Oxford, Pergamon, 1998, 1-34.
8. Sies H. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic Biol Med.* 1999; 29: 916–921.
9. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU et al. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; .18: 1272-1280.
10. Leila Azouaou Toualbi, 1 Mounir Adnane, 2 Khelfi Abderrezak, 3 Wafa Ballouti, 4 Medina Arab, 5 Chahine Toualbi, 6 Henni Chader, 7 Ryne Tahae, 8 and Atmane Seba 9 .Oxidative stress accelerates the carotid atherosclerosis process in patients with chronic kidney disease . *Arch Med Sci Atheroscler Dis.* 2020; 5: e245–e254.
11. Colombo G, Reggiani F, Angelini C, Finazzi S, Astori E, Garavaglia ML, Landoni L, Portinaro NM, Giustarini D, Rossi R, Santucci A, Milzani A, Badalamenti S, Dalle-Donne .Plasma Protein Carbonyls as Biomarkers of Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease, Dialysis, and Transplantation. *Oxid Med Cell Longev.* 2020 Nov 24;2020:2975256.
12. Rapa SF, Di Iorio BR, Campiglia P, Heidland A, Marzocco S. Inflammation and Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease- Potential Therapeutic Role of Minerals, Vitamins and Plant-Derived Metabolites. *Int J Mol Sci.* 2019 Dec 30;21(1):263.
13. Picot C , Witko-sarsat V, Merad-boudia M. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure *Free Radical Biology & Medicine*:1996; 21(6) 845-853.
14. Tbahriti H F , Kaddous A, Bouchenak M, Mekki K. Effect of Different Stages of Chronic Kidney Disease and Renal Replacement Therapies on Oxidant-Antioxidant Balance in Uremic Patients .*Biochemistry Research International* .2013;25;475-476.