

## ارتباط سطح نشان گرهای محلول آپوپتوز سیستم Fas /FasL با شدت نارسایی قلبی

دکتر رضا نجفی پور\*    پروفیسور الگا پاولوونا\*\*

## Association between the level of soluble markers of Fas/FasL apoptosis system and heart failure

R Najafipour❖    O Pavelovna

دریافت: ۸۶/۳/۱۹    پذیرش: ۸۷/۱/۲۲

## \*Abstract

**Background:** Heart failure is the main cause of morbidity and mortality worldwide with poor prognosis. Two processes; inflammation and apoptosis, play major roles in the pathogenesis of heart failure with poor prognosis. Apoptosis can be discovered in different conditions within the myocardial tissues. One of the regulatory mechanisms of apoptosis is through Fas (CD95)/FasL system.

**Objective:** Evaluating the level of soluble markers of Fas/FasL apoptosis system in patients with heart failure and its severity.

**Methods:** This was a case-control study in which 85 patients with different functional class of heart failure and 25 healthy persons as control group were examined at Transplantation Institute of Moscow between the years 2004-2007. Evaluation of apoptosis markers was carried out by immunofluorescence analysis using an automatic analyzer (Personal Lab TM, Adaltis, Italy) and the Bender Med system kits, Austria.

**Findings:** In patients with heart failure while the blood level of sFas was lower than that of healthy person, the sFasL was found to be higher compared to control group. Regarding the level of soluble forms of apoptotic markers of sFas/sFasL in HF, the sFas and sFasL levels were demonstrated to have an opposite association with the functional class of heart failure so that a negative relationship for sFas and a positive correlation for sFasL were found. At the same time, the sFas was shown to be weakly associated with ejection fraction whereas the sFasL demonstrated a reverse correlation ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** These markers could be used as complementary laboratory markers to assess the severity of heart failure and also the prognosis.

**Keywords:** Heart Failure, Apoptosis, Inflammation

## \*چکیده

**زمینه:** نارسایی قلبی علت اصلی بیماری، ناتوانی و مرگ در تمام کشورهاست که پیش‌آگهی خوبی ندارد. التهاب و آپوپتوز نقش اساسی در پاتوژنز نارسایی قلبی دارند. Fas (CD95)/FasL یکی از فرایندهای تنظیم کننده آپوپتوز است.

**هدف:** مطالعه به منظور تعیین ارتباط سطح نشان گرهای محلول آپوپتوز سیستم Fas /FasL در بیماران با نارسایی قلبی با شدت بیماری انجام شد. **مواد و روش‌ها:** این مطالعه مورد-شاهدی در سال‌های ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۷ در انستیتوی پیوند اعضای مسکو انجام شد. ۸۵ بیمار با کلاس‌های عملکردی مختلف نارسایی قلبی به عنوان گروه مورد و ۲۵ فرد سالم به عنوان گروه شاهد در مطالعه شرکت داشتند. اندازه‌گیری غلظت نشان گر-های آپوپتوز یعنی شکل محلول Fas/FasL با روش ایمونوفلورسنت در آنالیزاتور ایمونوفلورسنت Personal lab TM و Adaltis ایتالیا با کیت‌های Bender Med system اتریشی انجام شد.

**یافته‌ها:** در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی، سطح sFas کمتر و sFas-L بیشتر از افراد سالم بود. سطح sFas ارتباط معکوس و سطح sFas-L ارتباط مستقیم با کلاس عملکردی نارسایی قلبی داشت. سطح sFas به طور مستقیم و sFas-L به طور معکوس با کسر جهشی بطن چپ به صورت ضعیف مرتبط بودند. نسبت sFas/sFasL در بیماران با افزایش کلاس عملکرد نارسایی قلبی (NYHA) کاهش می‌یافت که نشان دهنده کاهش سطح مهارکننده آپوپتوز (sFas) و زیاد شدن سطح القاء کننده آن (sFas-L) بود ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه گیری:** با توجه به وجود ارتباط بین فرآیند آپوپتوز و نارسایی قلبی، می‌توان از نشان گرهای آپوپتوز به عنوان شاخص‌های تکمیلی آزمایشگاهی جهت نشان دادن شدت نارسایی قلبی و پیش‌آگهی آن استفاده کرد.

**کلیدواژه‌ها:** نارسایی قلب، آپوپتوز، التهاب

\* استادیار بخش ژنتیک دانشگاه علوم پزشکی قزوین    \*\* پروفیسور بخش پیوند اعضای انستیتوی پیوند اعضا و اعضای مصنوعی مسکو، روسیه  
آدرس مکاتبه: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه ژنتیک

**\*مقدمه:**

تعدادی از سلول‌های انسانی وجود دارد. افزایش بروز پروتئین Fas در سطح سلول‌ها، اینترفرون گاما و  $\alpha$ -TNF را تحریک می‌کند و باعث فعال شدن لنفوسیت‌ها می‌شود. شکل محلول (sFas) Fas که قطعه جدا شده بین غشایی است، در پلاسمای خون گردش می‌کند. پپتید اختصاصی و متصل به Fas (FasL) نیز به خانواده TNF تعلق دارد. اتصال Fas با FasL یا آنتی بادی بر ضد Fas منجر به تری مریزاسیون و سپس اتصال پپتیدهایی می‌شود که مجموعه القاءکننده پیام مرگ (DISC) را تشکیل داده و فرآیند آپوپتوز را شروع می‌کند.<sup>(۵-۷)</sup> این تحقیق به منظور تعیین ارتباط سطح نشان‌گرهای محلول آپوپتوز سیستم Fas/FasL در بیماران با نارسایی قلبی با شدت این بیماری انجام شد.

**\* مواد و روش‌ها:**

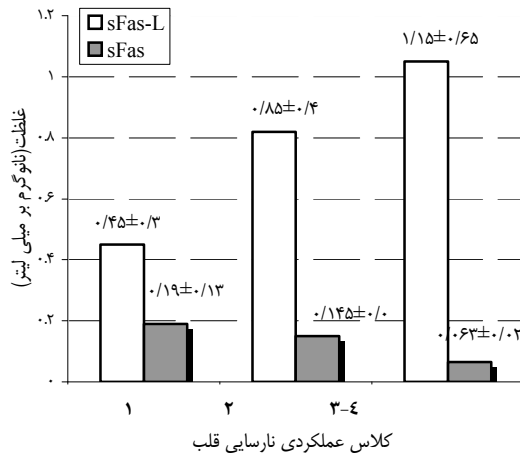
در این مطالعه مورد - شاهی، ۸۵ بیمار مبتلا به نارسایی قلبی که طی سال‌های ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۷ به انستیتوی پیوند اعضای مسکو مراجعه کرده بودند به عنوان گروه مورد و ۲۵ فرد سالم به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. این بیماران با توجه به کلاس عملکرد قلبی بر اساس معیار کمیته قلب نیویورک (NYHA) طبقه‌بندی و مواردی که به پیوند نیاز داشتند از مطالعه خارج شدند. دو گروه از نظر سنی و شرایط فیزیکی مشابه بودند.

گرفتن خون بیماران با برنامه‌ریزی قلبی در آزمایشگاه تخصصی مرکز پیوند اعضا انجام شد. سایر آزمایش‌های تکمیلی مانند نسبت رانش بطن چپ توسط متخصصین مشابه در همان مرکز انجام شد. اندازه‌گیری سطح نشان‌گرهای آپوپتوز یعنی شکل محلول Fas/FasL با روش آنالیز ایمنوفرمنت با استفاده از آنالیزاتور ایمنوفرمنت

بیماری‌های قلبی-عروقی باعث ایجاد نارسایی قلبی می‌شوند که پیش‌آگهی خوبی برای آن متصور نیست. نارسایی قلبی علت اصلی ناتوانی و مرگ در تمام کشورهاست به طوری که تا سال ۲۰۱۰ مرگ ناشی از بیماری‌های قلبی-عروقی علت اصلی مرگ در تمام کشورهای جهان خواهد بود. هزینه درمان نارسایی قلبی قسمت مهمی از هزینه‌های بهداشتی کشورهای مختلف را در برمی‌گیرد. لذا جستجو برای امکانات جدید جهت تشخیص زود هنگام، تعیین پیش‌آگهی، سنجش خطر، پیش‌گیری و درمان بیماری‌های قلبی لازم به نظر می‌رسد.<sup>(۱)</sup>

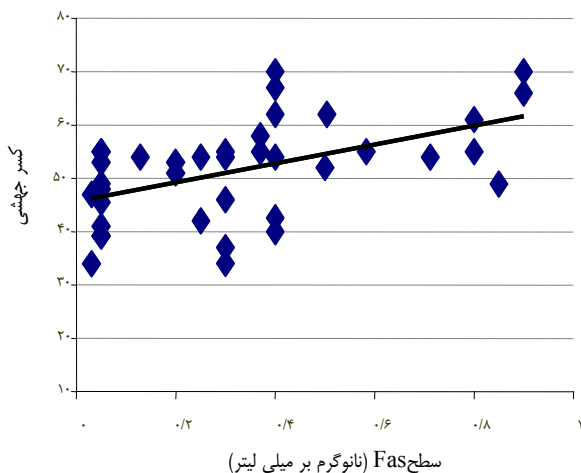
در سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای جهت یافتن علت‌های پاتوژنز نارسایی قلبی انجام شده است. در حال حاضر مشخص شده است که دو فرآیند التهاب و آپوپتوز نقش اساسی را در پاتوژنز نارسایی قلبی بازی می‌کنند و کلید اصلی در تنظیم جزئیات سیستم قلبی-عروقی هستند. آپوپتوز فرآیند ضروری فیزیولوژیک است که باعث حذف سلول‌های اضافه و مشکل‌دار از موجود زنده می‌شود و در صورت فعالیت کم یا زیادتر از حد طبیعی، مشکل ساز می‌گردد. علائم ظاهری آپوپتوز در میوکارد و عروق در شرایط هیپوکسی، استرس اکسیداتیو و تغییرات پس از سکته قابل کشف است.<sup>(۳و۲)</sup> یکی از سیستم‌های اصلی تنظیم‌کننده آپوپتوز، سیستم Fas(CD95)/FasL است. فعال شدن آپوپتوز از این طریق با پیشرفت نارسایی قلبی و مرگ سلول‌های قلبی مرتبط است. شکل محلول نشان‌گرهای Fas، پپتید sFas (لقاء کننده آپوپتوز) و sFas (مهارکننده آپوپتوز) هستند که به سنجش وجود پدیده آپوپتوز در بیماران با نارسایی قلبی کمک می‌کنند.<sup>(۵و۴)</sup> Fas (CD95) پپتید گلیکولیز شده در سطح خارجی غشای سلولی و متعلق به خانواده عوامل نکروز تومور (TNF) است. Fas بر روی سطح لنفوسیت‌های T و B، انواع سلول‌های سرطانی و

**نمودار ۱- میانگین غلظت محلول Fas و Fas-L در بیماران مورد مطالعه بر حسب کلاس عملکردی نارسایی قلب**



نسبت غلظت sFas/sFasL با افزایش شدت نارسایی قلبی کمتر شد و در بیماران با کلاس یک، دو و همچنین سه و چهار نارسایی قلبی به ترتیب ۰/۱۸، ۰/۰۶ و ۰/۰۶ بود. ارتباط سطح FasL و sFas با میزان کسر جهشی (Ejection Fraction) ضعیف بود (نمودارهای شماره ۲ و ۳).

**نمودار ۲- ارتباط سطح Fas با کسر جهشی بطن چپ در بیماران با نارسایی قلب**



Adaltis و TM Personal lab ایتالیابا کیت‌های Bender Med system اتریشی انجام شد.

اطلاعات در برنامه SPSS11.5 پردازش و تمام اندازه‌ها با میانگین و انحراف معیار سنجیده و استاندارد شدند. داده‌ها با آزمون‌های آماری تی و مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

**\* یافته‌ها:**

دامنه سنی بیماران (گروه مورد) ۱۷ تا ۶۸ سال با میانگین ۴۶/۵±۹/۵ سال بود. تعداد ۷۷ بیمار (۹۰ درصد) مذکر و ۸ بیمار (۱۰ درصد) مؤنث بود. علت نارسایی قلبی در ۶۵ بیمار (۷۶ درصد) ایسکیمی و در ۲۰ بیمار (۲۴ درصد) کاردیومیوپاتی انبساطی بود. ۳۲ بیمار (۳۷/۶ درصد) در کلاس یک نارسایی قلب، ۱۸ بیمار (۲۱/۲ درصد) در کلاس دو و ۳۵ بیمار (۴۱/۲ درصد) در کلاس ۳ تا ۴ بودند.

میانگین سطح sFas در بیماران با نارسایی قلبی ۰/۱۰ ± ۰/۱۳ با محدوده ۰/۰۶ تا ۰/۳ نانوگرم بر میلی لیتر بود که به طور واضح از افراد سالم (۱/۶ ± ۰/۱۵) با محدوده از ۱/۳ تا ۲/۴ نانوگرم بر میلی لیتر) کمتر بود (p<۰/۰۱). میانگین سطح sFasL در بیماران با نارسایی قلبی ۰/۸ ± ۰/۱ با محدوده از ۰/۱ تا ۰/۸۵ نانوگرم بر میلی لیتر بود. در پلاسماي خون افراد سالم سطح FasL پایین تر از حد حساسیت روش اندازه‌گیری این مطالعه (۰/۱ نانوگرم بر میلی لیتر) بود. نسبت سطح sFas به sFasL (sFas/sFasL) در بیماران با نارسایی قلبی ۰/۱۶ بود. غلظت sFasL و sFas با کلاس عملکردی بیماران مرتبط بود (به ترتیب p<۰/۰۱، r=۰/۷ و r=-۰/۵، p<۰/۰۵)؛ یعنی با افزایش کلاس عملکردی میانگین sFas کاهش و sFasL افزایش یافتند (نمودار شماره ۱).

مانده و فوت شده پس از ۶ ماه در مراحل نهایی نارسایی قلبی تفاوتی نشان نداده، ولی سطح sFas در بیماران با وضعیت بالینی بهتر تمایل به کاهش داشته است.<sup>(۷)</sup> در تحقیقات آداموپولوس و همکاران سطح sFasL در بیماران با کلاس‌های مختلف عملکرد، تفاوت نداشته و در این زمان سطح sFas در بیماران با کلاس سه و چهار نسبت به بیماران با کلاس دو و سه تمایل به کاهش داشت.<sup>(۶)</sup>

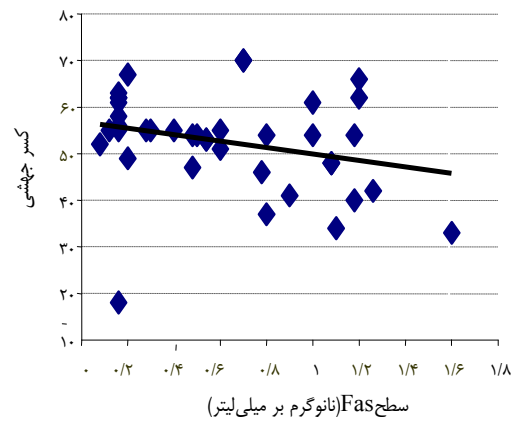
در این مطالعه در بیماران با نارسایی قلبی سطح شکل محلول FasL به طور مستقیم و Fas به صورت معکوس با شدت نارسایی قلبی مرتبط بود، یعنی سطح sFas-L در بیماران با کلاس سه و چهار از بیماران با کلاس یک و دو بیشتر و سطح sFas کمتر بود.

نتایج متضاد نویسندگان مختلف در مورد تغییر سطح نشانگر سیستم Fas/FasL در بیماران با کلاس‌های مختلف نارسایی قلبی با توجه تفاوت نمونه‌ها قابل توضیح است. زیرا در تحقیق‌ها بیماران با سنین مختلف و علل مختلف نارسایی قلبی (دیلاتاسیون میوکارد، بیماری ایسکمیک قلبی، نقص قلبی و روماتیسم) که ممکن است بر سطح نشان‌گرهای آپوپتوز تأثیر گذارد، وجود داشته‌اند. بنابراین، ارتباط سطح شکل محلول FasL/Fas با شدت نارسایی قلبی و تغییر شکل منفی میوکارد در بیماران با نارسایی قلبی احتقانی به تأیید این فرضیه که تغییر نشان‌گرهای آپوپتوز سیستم FasL/Fas در پلاسمای خون منعکس کننده دخالت آنها در پاتوژنز نارسایی قلبی است، کمک می‌کند.

#### \* مراجع:

1. Orlova OV, Najafipour R, Shevchenko OP. Soluble forms of apoptosis Fas-system markers in heart failure. Clinical Laboratory diagnosis 2006; 9: 38
2. Shevchenko OP, Orlova OV, Gootief CV. Results of 6-month's observation of patients after transplantation of autologous bone 3: 52

#### نمودار ۳- ارتباط سطح FasL با کسر جهشی بطن چپ در بیماران با نارسایی قلبی



#### \* بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد که در بیماران با نارسایی قلبی سطح sFas کمتر و sFas-L بیشتر از افراد سالم است. سطح sFas به طور معکوس و sFas-L به طور مستقیم با کلاس عملکرد نارسایی قلبی در ارتباط بود. که با نتایج برخی از مطالعه‌ها هم‌خوانی دارد.<sup>(۳ و ۹)</sup> کاهش نسبت Fas/sFasL در مطالعه حاضر منعکس کننده کاهش سطح مهارکننده آپوپتوز (sFas) و زیاد شدن سطح القاء کننده آن sFas-L است.

بدیهی است که این نشان‌گرها می‌توانند به عنوان شاخص‌های تکمیلی آزمایشگاهی جهت نشان دادن شدت و پیش‌آگهی نارسایی قلبی استفاده شوند. در حال حاضر در مورد تغییرات سطح شکل محلول نشان‌گرهای آپوپتوز در بیماران با نارسایی قلبی توافق نظر وجود ندارد. در مطالعه‌های نیشیگوکی و سونگیوکس و ارتباطی بین سطح sFasL و شدت نارسایی قلبی به دست نیامده است. این نویسندگان گزارش کردند که sFas به طور مستقیم با شدت نارسایی قلبی ارتباط داشته و در کلاس‌های سه و چهار نارسایی قلبی نسبت به کلاس‌های یک و دو بیشتر بوده است. در همین زمان سطح sFas در بیماران زنده

marrow cells: correlation of inflammatory and apoptosis markers dynamics with efficiency of treatment. *The Bulletin of transplanto logy and artificial organs* 2005;

3. Shomakof VE, Shevchenko OP, Anishenko NA. Transplantation of autologus bone marrow cells in the patient with heart failure: molecular mechanisms and markers of treatment efficiency. *Mol Medicine* 2006; 2: 54-61
4. Shomakof VE, Shevchenko OP, Orlova OV, et al. Correlation of inflammation and apoptosis with efficiency of transplantation of bone marrow cells in the patient with chronic heart failure. *The Bulletin of Russian Academy of Medical Science* 2006;11:14-21
5. Cherviakova NV. Fas/Fas-ligand: apoptosis markers. *Laboratory* 2004; 2: 7-10
6. Adamopoulos S, Parissis JT, Georgiadis M, et al. Growth hormone administration reduces circulating proinflammatory

cytokines and soluble Fas/soluble fas ligand system in patients with chronic heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am Heart J* 2002 Aug; 144(2): 359-64

7. Chen QM, Tu VC. Apoptosis and heart failure: mechanisms and therapeutic implications. *J Am Cardiovasc Drugs* 2002; 2(1):43-57
8. Gang L, Huhua L, Liangming W. Serum levels of soluble Fas ligand and soluble Fas receptor in patients with chronic congestive heart failure. *Chin Med Sci J* 2002 Dec; 17(4) 258
9. Nishigaki K, Minatoguchi S, Seishima M, et al. Plasma Fas ligand, an inducer of apoptosis, and plasma soluble Fas, an inhibitor of apoptosis, in patients with chronic congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1997 May; 29(6): 1214-20