

افزایش میزان Fas محلول و ارتباط آن با اتوآنتی‌بادی‌ها در بیماری گریوز درمان نشده در شهر تهران

پیمان شوشتری زاده^۱، دکتر وحید حق‌پناه^۱، بیتا رجبی پور^۱، دکتر آناهیتا لشکری^۱، دکتر رامین حشمت^۲،
دکتر ساسان شرقی^۳، دکتر ناهید صدیقی^۴، دکتر باقر لاریجانی^۵

^۱ پژوهشگر مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
^۲ اپیدمیولوژیست مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
^۳ استادیار مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
^۴ عضو گروه رادیولوژی بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
^۵ استاد مرکز تحقیقات خون و انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

نشانی نویسنده مسؤول: تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، طبقه پنجم، دکتر باقر لاریجانی
E-mail: mrc@sina.tums.ac.ir

وصول: ۸۵/۳/۱۸، اصلاح: ۸۵/۵/۱۵، پذیرش: ۸۵/۹/۱۸

چکیده

زمینه و هدف: محلول سرمی (sFas)، در افراد سالم به میزان کم وجود دارد و در بیماری‌های اتوایمیون، بدخیمی‌ها و بیماری‌های التهابی افزایش می‌یابد. این مولکول با مداخله در واکنش Fas- FasL در پاتوژنز بیماری گریوز نقش دارد. هدف از این مطالعه ارزیابی ارتباط بین میزان سرمی sFas و اتوآنتی‌بادی‌های تیروئید است.

مواد و روش‌ها: در این بررسی برای تعیین ارتباط بین میزان سرمی sFas و اتوآنتی‌بادی‌های تیروئید، میزان سرمی sFas و اتوآنتی‌بادی‌های تیروئیدی در ۳۱ بیمار مبتلا به گریوز درمان نشده و ۳۷ فرد سالم، مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: میزان سرمی sFas در افراد بیمار در مقایسه با افراد سالم بالاتر گزارش شد ($P < 0/005$). نسبت شانس برای اتوآنتی‌بادی‌های سرمی تیروئید که از نظر sFas مثبت بودند، $1/99$ ($95\% \text{ CI}: 1/2 - 2/3$)، برای آنتی‌بادی‌های گیرنده TSH (TRAb)، $1/68$ ($95\% \text{ CI}: 1/04 - 2/71$)، برای آنتی‌بادی‌های پراکسیداز تیروئیدی (TPOAb)، $1/13$ ($95\% \text{ CI}: 0/7 - 1/83$)، برای آنتی‌بادی‌های میکروزومال ضد تیروئیدی و $1/17$ ($95\% \text{ CI}: 0/73 - 1/88$) برای آنتی‌بادی‌های تیروگلوبولین گزارش شد. با این حال، نسبت شانس تیر سرمی اتوآنتی‌بادی‌های تیروئیدی از نظر sFas سرمی معنی‌دار نبود. ارتباط معنی‌دار جزئی بین میزان سرمی sFas و T_3 و T_4 آزاد در بیماران گریوز دیده شد ($P < 0/05$ و $P = 1/360$) و $P = 0/392$.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، ارتباط معنی‌داری بین اتوآنتی‌بادی‌های تیروئیدی (TRAb و TPOAb) و میزان سرمی sFas دیده شد که می‌تواند نشان‌دهنده نقش sFas در بیماری گریوز باشد. (مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار، دوره ۱۳/شماره ۳ / صص ۱۲۱-۱۱۶).

واژه‌های کلیدی: آنتی‌ژن CD 65؛ بیماری گریوز؛ Fas محلول.

مقدمه

نکروز دهنده توموری تعلق دارند (۱). این عوامل نقش مهمی در تنظیم هموستاز سیستم ایمنی ایفا می‌کنند (۲). بافت‌های بسیاری از جمله غده تیروئید، توانایی بروز

گیرنده Fas و لیگاند مربوط به آن (CD 95) و FasL، پروتئین‌های غشایی هستند که به گروه عوامل

۳۴/۴±۱۲/۶ بودند. اساس تشخیص بیماری گریوز شامل کاهش میزان TSH، افزایش T₃ و T₄ آزاد سرم و TRAb مثبت می باشد. افراد سالم شامل کسانی بودند که هیچ علامت و نشانه‌ای از بیماری خود ایمنی نداشتند. از تمام بیماران بر اساس بیانیه هلسینکی، رضایتنامه کتبی گرفته شد.

میزان آنتی بادی سرمی تیروئید پراکسیداز (TPO)، TSH، تیروگلوبین (TG) و آنتی بادی ضد تیروگلوبین (TGA) (RADIM SpA،) توسط روش ایمنورادیومتری (Rome, Italy) اندازه گیری شد. همچنین میزان سرمی T₃ و T₄ آزاد توسط کیت های رادیوایمنواسی (Diasorin،) (Saluggia, Italy) اندازه گیری شد. TRAb توسط روش ایمنواسی دیگری به دست آمد (DLD, Hamburg, Germany). میزان sFas نیز توسط کیت Elisa سنجیده شد (Bender Med system, Vienna, Austria). میزان مرجع برای TSH، ۰/۲ - ۴/۹ mIU/ml، برای TG کمتر از ۴۰ ng/ml، برای T₃ آزاد ۸/۵ - ۳/۴ pmol/L و برای T₄ آزاد ۱۰-۳۰ pmol/L در نظر گرفته شد. کمترین میزان برای مثبت بودن TPO معادل ۵۰ U/ml، برای TGA معادل ۷۰ IU/ml و برای TRAb معادل ۱/۵ U/L در نظر گرفته شد. نمونه سرمی در گروه بیماران و افراد سالم هر دو با یک روش آنالیز شدند. در تمامی بیماران، سونوگرافی تیروئید با پروب ۱۰ MHz در حالت طاقباز انجام شد (ESAOTE-BIOMEDICAL- AU5). هر دو لوب تیروئید و ناحیه ایسکمیک اسکن شدند. اندازه و حجم هر دو لوب محاسبه شد. ندول ها از نظر اندازه، حجم و اکو بررسی شدند (اکوی جامد، کیستیک، هر دو حالت و کلسیفیکاسیون). در بیمارانی که چند ندول داشتند، حجم بیشترین ندول محاسبه گردید. همچنین ناحیه گردنی از نظر وجود لنفادنوپاتی ارزیابی شد.

توزیع نرمال با استفاده از روش کولموگراف اسمیرنوف (kolmogorov-Smirnov) محاسبه شد. توزیع نرمال برای متغیرهای کمی بر اساس فرمول (انحراف

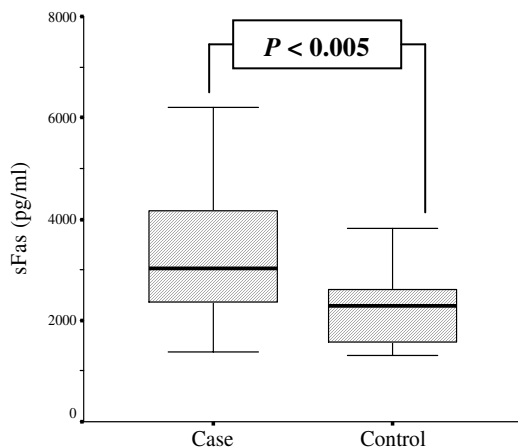
مولکول Fas را دارا هستند. اتصال آنتی ژن Fas به FasL موجود در لنفوسیت ها موجب القای آپوپتوزیس در سلول های تیروئیدی می شود (۵-۳).

در نتیجه روند اتصال متناوب، مولکول های غشایی کاهش یافته و فرم محلول مولکول Fas (sfas) تولید می شود (۶). ساز و کارهای از بین برنده عملکرد Fas، از طریق اتصال به مولکول Fas عمل می کنند؛ حال آن که sFas از این مکانیسم ها در امان است (۷). sFas مولکولی است که در افراد سالم به میزان کم و در بیماران مبتلا به بیماری های اتوایمیون، بدخیمی ها و بیماری های التهابی دیده شده (۸-۱۰) و میزان بروز آن با شدت بیماری، ارتباط مستقیم دارد (۱۱،۱۲).

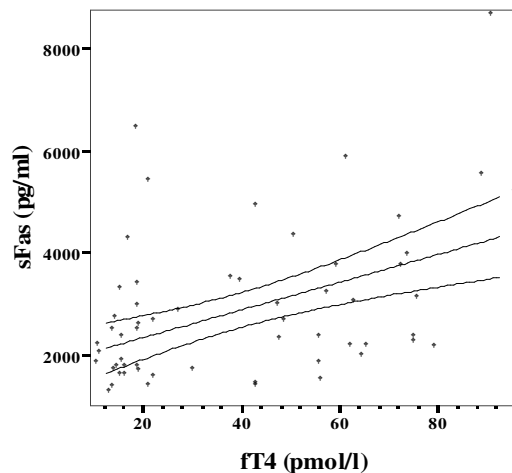
بیماری گریوز (GD) یک بیماری خود ایمنی تیروئید است که با هیپرپلازی تیروئیدها به دنبال تحریک توسط اتوانتی بادی های ضد TSH (TRAb) نمایان می شود (۱۳). بروز Fas و FasL به صورت همزمان توسط تیروئیدها موجود در بدن بیماران مبتلا به گریوز صورت می گیرد، ولی آپوپتوزیس فقط در بیماران مبتلا به گریوز رخ می دهد (۱۴). برخی از مطالعات به نقش ممانعت کننده sFas از روند آپوپتوزیس اجزای تشکیل دهنده Fas در بیماران مبتلا به گریوز تأکید دارند و بیان می دارند که میزان sFas در سرم بیماران مبتلا به گریوز افزایش یافته و باعث افزایش تولید sFas توسط تیروئیدها و تنظیم آن توسط سائتوکاین ها می شود (۱۵). همچنین به نظر می رسد که sFas از طریق مداخله در واکنش Fas-FasL در پاتوژنز GD نقش داشته باشد (۱۶،۱۷). در این مطالعه برآنیم که ارتباط بین میزان سرمی sFas و اتوانتی بادی های تیروئید را ارزیابی نماییم.

مواد و روش ها

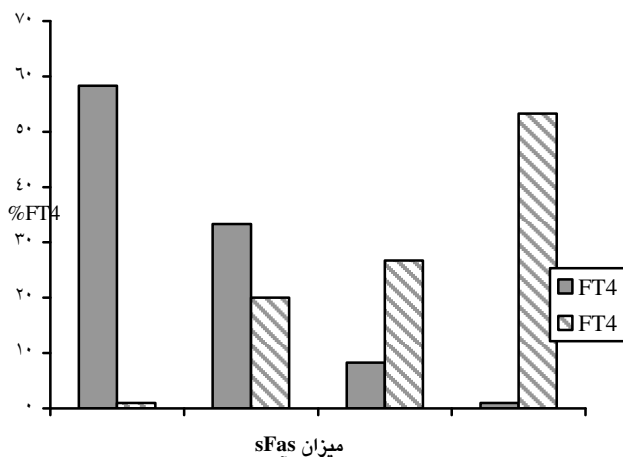
افراد تحت این مطالعه شامل ۳۱ بیمار (۱۱ مرد و ۲۰ زن) درمان نشده گریوز با میانگین سنی ۳۸/۴±۱۵/۷ سال و ۳۷ فرد سالم (۱۲ مرد و ۲۵ زن) با میانگین سنی



نمودار ۱: میزان سرمی Fas (sFas) محلول در گروه مورد و شاهد



نمودار ۲: ارتباط بین Fas (محلول) و sFas (FT4 آزاد) در دو گروه مورد و شاهد



نمودار ۳: ارتباط بین sFas و FT4 آزاد در گروه سالم و بیمار

معیار کمیانگین) و برای داده‌های غیر پارامتریک، بر اساس میانه محاسبه گردید. آزمون تی استیودنت برای مقایسه میانگین داده‌های توزیع نرمال بین دو گروه و آزمون من ویتنی یو برای داده‌های غیر پارامتریک استفاده شد. تست مجذور کای برای مقایسه تغییرات بین دو گروه استفاده شد. آزمون پیرسون نیز برای ارزیابی ارتباط بین اطلاعات به دست آمده و میزان نرمال استفاده شد. اطلاعاتی که در توزیع نرمال وجود نداشتند، با استفاده از روش اسپیرمن ارزیابی شدند. $P < 0.05$ از نظر آماری معنی دار تلقی شد. مجموع بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 11.5 و Stata/ SE 8.0 (Stata corporation, TX) انجام گرفت.

یافته‌ها

مشخصات بالینی گروه بیمار و سالم در جدول شماره ۱ آمده است. هیچ اختلاف معنی‌داری از نظر سن و جنس بین دو گروه دیده نشد. میزان sFas سرم بیماران در مقایسه با افراد سالم به طور معنی‌داری بالا گزارش شد ($P < 0.005$) (نمودار ۱). نسبت شانس sFas سرم در مبتلایان به گریوز معادل $2/02$ ($95\% \text{ CI} : 1/24 - 3/29$) گزارش شد که در صورت در نظر گرفتن BMI به عنوان یک عامل مداخله‌کننده، این میزان $1/98$ ($95\% \text{ CI} : 1/21 - 3/24$) می‌باشد. نسبت شانس آنتی‌بادی‌های سرمی تیروئید مثبت از نظر sFas سرم، $1/99$ ($95\% \text{ CI} : 1/2 - 2/3$) برای TRAb سرم، $1/68$ ($95\% \text{ CI} : 1/04 - 2/71$) برای TPOAb و $1/17$ ($95\% \text{ CI} : 0/73 - 1/88$) گزارش شد. با این وجود، نسبت شانس اتوآنتی‌بادی‌های تیروئیدی برای sFas معنی‌دار نبود.

در این مطالعه هیچ ارتباطی بین میزان sFas سرم و حجم تیروئید به دست نیامد. ارتباط ناچیز ولی معنی‌داری بین میزان سرمی sFas و T_3 ($P < 0.001$) و T_4 ($r = 0.360$ و $P < 0.005$) آزاد سرم بیماران وجود داشت. اگر چه این میزان ارتباط در گروه

جدول ۱: مشخصات بالینی و آزمایشگاهی گروه‌های تحت نظر

گروه شاهد	گروه مورد	مشخصات بالینی / گروه
۲۳/۸±۳/۹	۲۳/۶±۴/۳	BMI(kg/m ²)*
۱/۴۱ (۰/۸۳۸-۲/۱۲۰)	۰/۱۱۵(۰/۰۲۴-۰/۲۱۷)	TSH(μIU/ml) [†]
۷/۳±۰/۸۷	۱۷/۷±۷/۱	fT3(pmol/l)*
۱۶/۴±۲/۵	۶/۱±۱۷/۷	fT4(pmol/l)*
۶/۶(۴/۶-۱۱۲/۸)	۳۵/۵(۴/۶-۱۱۲/۸)	TG(ng/ml) [†]
۳۰/۷	۹/۲۲	TPOAb (مثبت /منفی)
۳۰/۷	۱۶/۱۵	TGAb (مثبت /منفی)
۰/۴ (۰/۳-۰/۶)	۸/۳(۲/۹-۴۳/۳)	TRAb(U/l) [†]
ND	۱۵/۹±۷/۶	حجم تیروئید (ml)*
ND	۱/۵±۱/۸	حجم ندول [†] (ml)
۲۳۰۱(۱۵۵۰-۲۶۴۰)	۳۰۰۳(۲۲۷۳-۴۲۲۸) [‡]	sFas(pg/ml) [†]

همچنین ارتباط معنی دار بین میزان sFas و T3 و T4 آزاد در بیماران مبتلا به گریوز و ارتباط بین sFas و T4 آزاد، هم در گروه سالم هم بیمار (نمودار ۳)، نشان می دهد که sFas توانایی افزایش متابولیسم و هیپرپلازی تیروئید را دارا بوده و می تواند در ایمنی سلولی نقش داشته باشد. نتایج این مطالعه در مقایسه با سایر گزارشات (۳۱) که معتقدند افزایش میزان sFas بیشتر به دنبال هیپر تیروئیدیسم رخ می دهد تا بیماری های خودایمنی، تفاوت دارد. در این بررسی، ارتباط معنی داری بین اتوانتی بادی های تیروئیدی (TPOAb, TRAb) سرم و میزان sFas به دست آمد که نشانه نقش sFas در واکنش ایمنی بیماری گریوز می باشد.

sFas در بیماری گریوز می تواند نشانه دخالت sFas فرایند ایمنی در بیماران گریوز باشد.

لیو و همکاران ارتباط ناهمگونی بین Fas غشایی و تولید sFas در لنفوسیت های فعال را نشان دادند (۲۸). به نظر می رسد افزایش sFas در بیماران مبتلا به گریوز موجب کاهش Fas غشایی برای اتصال به FasL و منجر به ممانعت از ایجاد سیگنال های مرگ سلولی می شود (۲۹). در این مطالعه، برای اتوانتی بادی های تیروئید مانند TRAb و TPOAb نسبت شانس معنی داری به دست آمد که تأییدکننده نظریه نقش افزایش میزان sFas در افزایش ارتشاح سلول های تیروئیدی و تولید آنتی بادی گیرنده های ضد TSH می باشد (۳۰).

References

- Nagata S, Golstein P. The Fas death factor. Science 1995 Mar 10;267(5203):1449-56.
- Xerri L, Devilard E, Hassoun J, Mawas C, Brig F. Fas ligand is not only expressed in immune privileged human organs but is also coexpressed with Fas in various epithelial tissues. Mol Pathol. 1997;50:87-91.
- Arscott PL, Knapp J, Rymaszewski M, Bartron JL, et al. Fas (APO-1, CD95)-mediated apoptosis in thyroid cells is regulated by a labile protein inhibitor. Endocrinology 1997;138:5019-27.
- Giordano C, Stassi G, De MR, Todaro M, Richiusa P, Papoff G. Potential involvement of Fas and its ligand in the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. Science 1997;275: 960-3.

5. Mitsiades N, Poulaki V, Kotoula V, Mastorakos G, Tseleni-Balafuta S. Fas/Fas ligand up-regulation and Bcl-2 down-regulation may be significant in the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2199-203.
6. Cascino I, Fiucci G, Papoff G, Ruberti G. Three functional soluble forms of the human apoptosis-inducing Fas molecule are produced by alternative splicing. *J Immunol* 1995;154:2706-13.
7. Cheng J, Zhou T, Liu C, Shapiro JP, Brauer MJ, Kiefer MC. Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* 1994;263: 1759-62.
8. Fadeel B, Samuelsson A, Hachiya T, Brostrom C, Chiodi F. Elevated serum levels of soluble Fas/APO-1 in human immunodeficiency virus-infected individuals. *Blood* 1996;88: 4727-30.
9. Nozawa K, Kayagaki N, Tokano Y, Yagita H, Okumura K, Hasimoto. Soluble Fas (APO-1, CD95) and soluble Fas ligand in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 1997;40: 1126-9.
10. Shimaoka Y, Hidaka Y, Okumura M, Takeoka K, et al. Serum concentration of soluble Fas in patients with autoimmune thyroid diseases. *Thyroid* 1998;8:43-7.
11. Bijl M, van LT, Limburg PC, Spronk PE, Jaegers SM, Areden LA. Do elevated levels of serum-soluble fas contribute to the persistence of activated lymphocytes in systemic lupus erythematosus? *J Autoimmun* 1998;11:457-63.
12. Nozawa K, Kayagaki N, Tokano Y, Yagita H, et al. Soluble Fas (APO-1, CD95) and soluble Fas ligand in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 1997;40:1126-9.
13. Andrikoula M, Tsatsoulis A. The role of Fas-mediated apoptosis in thyroid disease. *Eur J Endocrinol* 2001;144:561-8.
14. Hiromatsu Y, Hoshino T, Yagita H, Koga M, et al. Functional Fas ligand expression in thyrocytes from patients with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84: 2896-902.
15. Shimaoka Y, Hidaka Y, Okumura M, Takeoka K, Tada H, Amino N. Serum concentration of soluble Fas in patients with autoimmune thyroid diseases. *Thyroid* 1998; 8:43-7.
16. Shimaoka Y, Hidaka Y, Okumura M, Takeoka K, Tada H, Amino N. Serum concentration of soluble Fas in patients with autoimmune thyroid diseases. *Thyroid* 1998;8:43-7.
17. Hiromatsu Y, Hoshino T, Yagita H, Koga M, Sakisaka S, Honda J. Functional Fas ligand expression in thyrocytes from patients with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:2896-902.
18. Wang CY, Zhong WB, Chang TC, Tsai YF. Circulating soluble Fas ligand correlates with disease activity in Graves' hyperthyroidism. *Metabolism* 2002; 51:769-73.
19. Arscott PL, Knapp J, Rymaszewski M, Bartron JL, Bertz JD, Thompson NW. Fas (APO-1, CD95)-mediated apoptosis in thyroid cells is regulated by a labile protein inhibitor. *Endocrinology* 1997;138:5019-27.
20. Giordano C, Stassi G, De MR, Todaro M, et al. Potential involvement of Fas and its ligand in the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. *Science* 1997;275:960-3.
21. Mitsiades N, Poulaki V, Kotoula V, Mastorakos G, Tesleni-Balafouta S. Fas/Fas ligand up-regulation and Bcl-2 down-regulation may be significant in the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2199-203.
22. Cascino I, Fiucci G, Papoff G, Ruberti G. Three functional soluble forms of the human apoptosis-inducing Fas molecule are produced by alternative splicing. *J Immunol* 1995;154:2706-13.
23. Hiromatsu Y, Bednarczuk T, Soyejima E, Miyake I, Yang D, Fukazawa H. Increased serum soluble Fas in patients with Graves' disease. *Thyroid* 1999;9:341-5.
24. Feldkamp J, Pascher E, Schott M, Goretzki P, et al. Soluble Fas is increased in hyperthyroidism independent of the underlying thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4250-3.
25. Feldkamp J, Pascher E, Schott M, Goretzki P, et al. Soluble Fas is increased in hyperthyroidism independent of the underlying thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab*;86:4250-3.
26. Shimaoka Y, Hidaka Y, Okumura M, Takeoka K, et al. Serum concentration of soluble Fas in patients with autoimmune thyroid diseases. *Thyroid* ;8:43-7.

27. Hiromatsu Y, Bednarczuk T, Soyejima E, Miyake I, et al. Increased serum soluble Fas in patients with Graves' disease. *Thyroid* 1999;9:341-5.
28. Liu C, Cheng J, Mountz JD. Differential expression of human Fas mRNA species upon peripheral blood mononuclear cell activation. *Biochem J* 1995;310:957-63.
29. Cheng J, Zhou T, Liu C, Shapiro JP, et al. Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* 1994;263:1759-62.
30. Andrikoula M, Tsatsoulis A. The role of Fas-mediated apoptosis in thyroid disease. *Eur J Endocrinol* 2001;144: 561-8.
31. Feldkamp J, Pascher E, Schott M, Goretzki P, Seissler J, Scherbaum WA. Soluble Fas is increased in hyperthyroidism independent of the underlying thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4250-3.