بسم الله الرحمن الرحيم

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی سلولی ومولکولی

تعیین میزان بیان فاکتورهای نسخه برداری و سایتوکاین های مرتبط با سلول های Th1/Th2 در بیماران مبتلا به 'Graves با روش Real Time PCR

نگارش

یگانه اسحق خانی

استاد راهنما

دکتر محمدحسین صنعتی

اساتید مشاور

دکتر زهره جدلی

دکتر منوچهر نخجوانی

شهریورماه ۱۳۹۱

حق استفاده از مفاد پایان نامه برای پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری محفوظ است

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

رساله جهت دریافت کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی سلولی و مولکولی

بررسی میزان بیان فاکتورهای نسخه برداری و سایتوکاین های مرتبط با سلول های Th1/Th2 در بیماران مبتلا به گریوز با روش Real Time PCR

نگارش

یگانه اسحق خانی

این پایان نامه در تاریخ ۱۳۹۱/۶/۲۷ توسط کمیته داوری مورد تایید قرار گرفته و با درجه عالی ارزیابی گردید.

استاد راهنما : جناب آقای دکتر محمدحسین صنعتی

استاد مشاور : سرکار خانم دکتر زهره جدلی

داور داخلی : جناب آقای دکتر سید مسعود هوشمند

داور خارجی : جناب آقای دکتر سید ابوالحسن شاهزاده فاضلی

سرپرست آموزش : جناب آقای دکتر فرید حیدری

چکیده

در غدد تشکیل دهنده ی سیستم اندوکرین، بیماری های خودایمن مختلفی بروز می کند که از جمله مهمترین آنها بیماری گریوز می باشد. گریوز یک بیماری خودایمن غده تیروئید است که حدود ۱تا ۵٪ مردم دنیا به آن مبتلا می شوند و ۵۰–۸۰ درصد بیماری های ناشی از پرکاری تیروئید را شامل می شود.
اگرچه تا کنون عامل بوجود آورندۀ این بیماری مورد شناسایی قرار نگرفته است ولی به نظر می رسد که عوامل مختلفی نظیر عوامل ژنتیکی، محیطی و ایمونولوژیک در پاتوژنز بیماری موثر باشند. مطالعات متعدد نشان می دهد بیماری گریوز که متعاقب اختلال در تولرانس و فعالیت سلولهای T ایجاد می شود با تولید آنتی بادیهایی همراه است که با ساختارهای سلولی نظیر پذیرندۀ هورمون تحریک کنندۀ تیروئید (TSHR) واکنش نشان می دهند. به علاوه بررسی های انجام شده نشان می دهد که سایتوکاین هایی که در جریان این بیماری ایجاد می شوند، نقش مهمی را در فاز اجرایی پاسخ ایمنی و التهابی بازی می کنند و در گسترش این بیماری خودایمن دخالت می کنند. به نظر می رسد که اختلال در تعادل سلولهای Th1 و Th2، و سایتوکاین های تولید شده توسط آنها، نقش مهمی در پاتوژنز بیماری بازی می کند. در سالهای اخیر، مکانیسم های مولکولی که منجر به تکامل سلولهای Th1 و Th2 می شود مورد توجه قرار گرفته است. نتایج این مطالعات نشان می دهد که مولکولهای درون سلولی متعددی در تکامل Th1 و Th2، و تولید سایتوکاین های مربوط به آنها مؤثر می باشند که از جملۀ آنها می توان به فاکتورهای نسخه برداری T-bet و GATA-3 اشاره کرد که به ترتیب بیان ژنهای Th1 و Th2 را تنظیم می کنند و نقش مهمی در تمایز سلولهای Th بازی می کنند. اهمیت این فاکتورهای نسخه برداری در بیماریهای ایمونولوژیک مختلف نظیر بیماری کرون، کاوازاکی و آسم شناسایی شده است، ولی اطلاعات کمی در مورد نقش آنها در بیماران مبتلا به گریوز در دسترس می باشد و مطالعات بیشتر در این زمینه می تواند به روشن شدن مکانیسم های موثر در ایمونوپاتوژنز بیماری کمک کند. لذا هدف تحقیق حاضر،آنالیز میزان بیان mRNA مربوط به T-bet، GATA-3، IFN-γ و IL-4 در سلولهای تک هسته ای خون محیطی (PBMC) بیماران و افراد کنترل و مقایسه میزان بیان آنها بین این دو گروه می باشد. اندازه گیری مقادیر mRNA توسط دستگاه Applied Biosystems StepOne انجام شد. نتیجه تحقیق حاضر، افزایش بیان ژن های T-bet و IFN-γ و همچنین کاهش بیان ژن های GATA-3 و IL-4 در بیماران مبتلا به گریوز بود. این نتایج، نشاندهنده مختل شدن تعادل بین دو رده سلولی Th1 و Th2، و غالبیت رده سلولی Th1 بر رده سلولی Th2 در مراحل اولیه بیماری است.

کلید واژه ها: T-bet ، GATA-3، IFN-γ، IL-4، هایپرتیروئیدیسم گریوز، Th1 و Th2

فهرست مطالب

مقدمه	۱
۱-۱- گریوز	۲
۱-۲- مطالعات اپیدمیولوژیکی و دموگرافی گریوز	۳
۱-۳-غده تیروئید و تنظیم عملکرد آن	۴
۱-۴-تشخیص بیماری گریوز	۵
۱-۵- نقص های فیزیولوژیکی ناشی از ابتلا به بیماری گریوز	۷
۱-۶-علائم بالینی بیماری گریوز	۸
۱-۶-۱- افتالموپاتی گریوز	۸
۱-۶-۱-۱- ویژگی های بالینی و آزمایشگاهی	۸
۱-۶-۱-۲- یافته های آناتومیکی و هیستولوژیکی	۹
۱-۶-۱-۳- مکانیسم های سلولی و مولکولی درگیر در ایجاد افتالموپاتی	۱۱
۱-۶-۲- میکس ادم پری تیبال	۱۳
۱-۶-۲-۱- علت میکس ادم پری تیبال	۱۳
۱-۶-۲-۲- درمان درموپاتی	۱۵
۱-۷-فاکتورهای خطر محیطی در ایجاد هایپرتیروئیدیسم گریوز	۱۵
۱-۷-۱- سن و جنس	۱۵
۱-۷-۲- سابقه خانوادگی	۱۵
۱-۷-۳- بارداری	۱۵
۱-۷-۴- استعمال دخانیات	۱۶
۱-۷-۵- وجود ید اضافی در رژیم غذایی / استفاده از داروهای ید دار	۱۶

۱-۷-۶- برخی درمان های خاص	۱۶
۱-۷-۷- عفونت باکتریایی یا ویروسی	۱۶
۱-۷-۸- استرس شدید	۱۷
۱-۸- ژنتیک بیماری گریوز	۱۷
۱-۸-۱- اپیدمیولوژی ژنتیکی	۱۷
۱-۸-۲- ژن های مستعد کننده ابتلا به بیماری گریوز	۱۸
۱-۸-۲-۱- MHC	۱۸
۱-۸-۲-۲- CD40	۲۰
۱-۸-۲-۳- CTLA-4	۲۰
۱-۸-۲-۴- PTPN	۲۱
۱-۸-۲-۵- TSHR(Thyroid-Stimulating Hormone Receptor)	۲۱
۱-۸-۲-۶- Tg(thyroglobulin)	۲۲
۱-۸-۲-۷- ß-2-Adrenergic Receptor Gene	۲۲
۱-۸-۲-۸- Intercellular Adhesion Molecule 1 Gene	۲۲
۱-۹-درمان بیماری گریوز	۲۳
۱-۹-۱- داروهاي ضد تيروئيد	۲۳
۱-۹-۱-۱- پروپیل تیو اورسیل	۲۳
۱-۹-۱-۳- بلوکه کننده های گیرنده B-آدرنرژیک	۲۵
۱-۹-۱-۴- بلوکه کننده های کانال کلسیمی و خنثی کننده های سمپاتیک	۲۶
۱-۹-۱-۵- ید	۲۶
۱-۹-۲- جراحی غده تیروئید (تیروئیدکتومی)	۲۷
۱-۹-۳- ید رادیواکتیو	۲۷
۱-۹-٤- درمان در طی بارداری	۲۸

۱-۱۰-معیارها و شرایط یک بیماری اتوایمن	۲۹
۱-۱۱-پاتوژنز بیماری گریوز	۲۹
۱-۱۱-۱- تعریف یک اتوآنتی ژن	۲۹
۱-۱۱-۲- هویت سلول های T	۳۰
۱-۱۱-۳- برهم کنش های آنتی ژن- آنتی بادی و آنتی ژن- T-Cell	۳۰
۱-۱۱-۴- سیگنال های ثانویه	۳۱
۱-۱۲-ایمونولوژی تیروئید در گریوز	۳۲
۱-۱۲-۱- عملکرد سلول های B	۳۲
۱-۱۲-۳- تنظیم گیرنده TSH در بیماری گریوز	۳۳
۱-۱۲-۴- شاخصه ایمونولوژیکی و اپی توپی آنتی بادی های TSHR	۳۵
۱-۱۲-۵- نفوذ لنفوسیت به داخل غده تیروئید	۳۵
۱-۱۲-۵- آنالیز عملکرد سلول های T داخل تیروئیدی	۳۶
۱-۱۳-سلول های T-HELPER	۳۷
۱-۱۳-۱- زیرگروه های TH1 و TH2 از سلول های CD4+T	۳۷
۱-۱۳-۲- ویژگی های زیرگروه های TH1 و TH2	۳۸
۱-۱۳-۳- تکامل زیر گروه های TH1 و TH2	۳۸
۱-۱۴-اصول و پاتوژنز خودایمنی	۴۱
۱-۱۴-۱- تحمل ایمنی	۴۱
۱-۱۴-۱-۱- تحمل مرکزی لنفوسیت های T	۴۲
۱-۱۴-۱-۲- تحمل محیطی لنفوسیت های T	۴۳
۱-۱۴-۱-۲-۱- بی پاسخی (آنرژی)	۴۳
۱-۱۴-۱-۲-۲- حذف (مرگ سلولی القا شده با فعال سازی سلول های T)	۴۳
۱-۱۴-۱-۲-۳- سرکوب ایمنی	۴۴

۱-۴-۲- بیماری های افزایش حساسیت	۴۴
۲- کلیات و مروری بر منابع	۴۶
۳- مواد و روش ها	۵۰
۳-۱-مواد و وسایل مورد نیاز	۵۱
۳-۱-۱- خونگیری	۵۱
۳-۱-۲- استخراج گلبول های سفید تک هسته ای (PBMC) از خون	۵۱
۳-۱-۳- استخراج RNA از گلبول های سفید تک هسته ای خون	۵۱
۳-۱-۴- سنتز CDNA	۵۲
۳-۱-۵- بررسی بیان ژن	۵۳
۳-۲-روشها	۵۳
۳-۲-۱- نمونه گیری	۵۳
۳-۲-۱-۱- روش محاسبه حجم نمونه و تعدادآن:	۵۴
۳-۲-۱-۲- روش نمونه گیری	۵۴
۳-۲-۲- مراحل انجام شده برای بررسی میزان بیان ژن ها	۵۵
۳-۲-۲-۱- استخراج RNA	۵۵
۳-۲-۲-۱-۱- نکات قبل از استخراج RNA	۵۵
۳-۲-۲-۱-۲- مراحل استخراج RNA	۵۶
۳-۲-۲-۱-۳- اساس کار استخراج RNA	۵۹
۳-۲-۲-۱-٤- بررسی غلظت RNA استخراج شده	۵۹
۳-۲-۲-۲- سنتزCDNA	۶۰
۳-۲-۲-۲-۱- نکات قبل از سنتز CDNA	۶۰
۳-۲-۲-۲-۲- سنتز CDNA بر طبق دستورالعمل کیت FERMENTASE	۶۰
۳-۲-۲-۳- بررسی میزان بیان ژن ها	۶۳

۳-۲-۲-۳-۱- طراحی پرایمرها ۶۳

۳-۲-۲-۳-۲- ژل الکتروفورز محصولات PCR ۶۵

۳-۲-۲-۳-۳- REAL TIME RT-PCR ۶۵

۳-۲-۲-۳-۳-۱- رسم منحنی استاندارد ۶۵

- شیوه تهیه رقت های سریالی (SERIALIC DILUTIONS) ۶۶

۳-۲-۲-۳-۳-۲-استفاده از استاندارد داخلی ۶۷

۳-۲-۲-۳-٤-تکنیک REAL TIME PCR و فواید آن ۶۷

۳-۲-۲-۳-٥-تقسیم بندی انواع REAL TIME PCR ۶۸

۳-۲-۲-۳-٦-مراحل پیشرفت واکنش ۶۹

۳-۲-۲-۳-۷-نحوه اطمینان از اختصاصی بودن محصول واکنش ۷۰

۳-۲-۲-۳-۸-دستگاه REAL TIME PCR ۷۱

۳-۲-۲-۳-۹-لوازم جانبی دستگاه APPLIED BIOSYSTEMS STEPONE ۷۱

۳-۲-۲-۳-۱۰-مرحله برنامه دادن به دستگاه ۷۲

۳-۲-۲-۳-۱۱- مرحله انجام REAL TIME PCR ۷۴

۳-۲-۲-۳-۱۲-آنالیز نتایج حاصله و بررسی میزان بیان ژن ها ۷۵

۴- نتایج ۷۶

۴-۱-رسم منحنی استاندارد برای ژن B- اکتین ۷۷

۴-۱-۱- منحنی ذوب و پیک ذوب ژن B-اکتین ۷۸

۴-۲-رسم منحنی استاندارد برای ژن T-BET ۸۰

۴-۲-۱- منحنی ذوب و پیک ذوب ژن T-BET ۸۰

۴-۳-رسم منحنی استاندارد برای ژن GATA-3 ۸۳

۴-۳-۱- منحنی ذوب و پیک ذوب ژن GATA-3 ۸۳

۴-۴-رسم منحنی استاندارد برای ژن IFN-Γ ۸۶

۴-۴-۱- منحنی ذوب و پیک ذوب ژن IFN-Γ ۸۶
۴-۵-رسم منحنی استاندارد برای ژن IL-4 ۸۹
۴-۵-۱- منحنی ذوب و پیک ذوب ژن IL-4 ۸۹
۴-۶-ژل الکتروفورز ۹۲
۴-۷-آنالیز نتایج حاصل از REAL TIME PCR ۹۲
۴-۷-۱- نتایج حاصل از واکنش REAL TIME PCR برای ژن T-BET ۹۳
۴-۷-۱-۱- آنالیز داده های حاصل از واکنش REAL TIME PCR ژن T-BET ۹۴
۴-۷-۲- نتایج حاصل از واکنش REAL TIME PCR برای ژن GATA-3 ۹۶
۴-۷-۲-۱- آنالیز داده های حاصل از واکنش REAL TIME PCR ژن GATA-3 ۹۶
۴-۷-۳- نتایج حاصل از واکنش REAL TIME PCR برای ژن IFN-Γ ۹۸
۴-۷-۳-۱- آنالیز داده های حاصل از واکنش REAL TIME PCR ژن IFN-Γ ۹۹
۴-۷-۴- نتایج حاصل از واکنش REAL TIME PCR برای ژن IL-4 ۱۰۱
۴-۷-۴-۱- آنالیز داده های حاصل از واکنش REAL TIME PCR ژن IL-4 ۱۰۱
۵- بحث ۱۰۶
منابع ۱۱۳

مقدمه

۱ ـ۱ ـگریوز

گریوز نوعی بیماری خودایمن مرتبط با غده تیروئید است که حدود ۰/۵ تا ۱ درصد مردم جهان به آن مبتلا می شوند و شایع ترین عامل پرکاری تیروئید (در ۵۰ تا ۸۰ درصد از موارد موجود) می باشد (Brent GA, 2008; Collins J, 2002) . نرخ وقوع این بیماری در زنان نسبت به مردان ۵ تا ۱۰ برابر بیشتر بوده و نقطه اوج سنی برای ابتلا به آن در بازه ٤٠ تا ٦٠ سالگی می باشد (Weetman AP, 2000) . این بیماری در سرتاسر جهان دیده شده ولی میزان شیوع آن در مناطق مختلف، متفاوت است. ۰/۵ تا ۱ درصد زنان در جمعیت های غربی مبتلا به هایپرتیروئیدیسم گریوز می باشند (Hollowell JG, 2002) و نیز یک مطالعه ۱۲ ساله در آمریکای شمالی، احتمال وقوع آن را ۰/۰٤ درصد در هرسال اعلام کرد. (Holm IA,2005). مطالعه دیگری در انگلستان، وقوع سالیانه این بیماری را ۱ نفر در هر۲۰۰۰ نفر گزارش نموده است (Bunevicius R, 2006). احتمال ابتلا به هایپرتیروئیدیسم گریوز در بین افراد آسیایی و سفیدپوستان غربی تقریبا یکسان است، درحالیکه در بین سیاه پوست ها این احتمال کمتر می باشد. (Vanderpump MPJ, 1999). از این رو با توجه به شیوع متغیر بیماری در نواحی مختلف جهان، به نظر می رسد که هایپرتیروئیدیسم گریوز یک بیماری مولتی فاکتوریال است که عوامل مختلفی نظیر عوامل ژنتیکی، محیطی و ایمونولوژیکی در پاتوژنز آن مؤثر باشند (Sibarani RP, 2009).

نام بیماری " گریوز" از یک پزشک ایرلندی به نام Robert James Graves گرفته شده، کسی که برای اولین بار در سال ۱۸۳۵ این بیماری را به صورت یک گواتر منتشر همراه با اگزوفتالمی توصیف نمود(Graves, 1835). در سال ۱۸٤۰ ، Karl Adolph von Basedow آلمانی به طور جداگانه نیز یک بیمار با علایم گریوز را معرفی کرد و به همین دلیل امروزه در اروپا به این بیماری Basedow' syndrome یا Basedow' disease نیز گفته می شود(Von Basedow,1840). بعدها این بیماری به" گواتر اگزوفتالمیک " نیز معروف شد (Robinson and Victor, 1939).

مراحل اولیه ایجاد بیماری گریوز معمولا به صورت نهفته است و به نظر می رسد که در طولانی مدت، یک سیر بی وقفه و بدون علایم از بیماری طی می شود، تا زمانیکه وسعت بیماری افزایش یافته و علائم آن بروز می کند و شدت آن به تدریج افزایش می یابد. طوریکه ممکن است شروع بیماری، ماه ها یا سال ها قبل از تشخیص آن اتفاق افتاده باشد و بعد از تشخیص نیز عوامل محیطی مثل استرس و استعمال دخانیات و یا درمان می توانند بر سیر و شدت بیماری مؤثر باشند (Elberling TV, 2004).

۱ ـ۲ ـمطالعات اپیدمیولوژیکی و دموگرافی گریوز[1]

علت واحد و مشخصی برای هایپرتیروئیدیسم گریوز که یک بیماری مولتی فاکتوریال است و عوامل متعددی در بروز آن نقش دارند، تاکنون شناخته نشده است و به نظر می رسد بروز بیماری در افراد مستعد از نظر ژنتیکی و به دنبال آن، مواجه شدن با عوامل محیطی نظیر مصرف بالای ید، استرس، استعمال دخانیات، بارداری قبلی و عفونت اتفاق می افتد (Mure, Elaine A, 2001).

بیماری گریوز شیوع جهانی دارد و ۰/۵ درصد از جمعیت کل جهان به آن مبتلا هستند. درصد وقوع آن بسته به نژاد و موقعیت جغرافیایی متفاوت است. در مناطقی که افراد به دلیل زندگی در آنجا مقدار ید بیشتری در رژیم غذایی شان وارد می شود، شیوع این بیماری به طور چشمگیری بالاتر از سایر مناطق می باشد. گریوز شایع ترین بیماری اتوایمن در ایالت متحده آمریکا است که هر ساله حدود ۳٪ از مردم ایالت متحده آمریکا را مبتلا می سازد (Laurberg P, 1991 ; Sherman SI, 2008).

بیش از ٦۰ تا ۸۰ درصد بیماران با پرکاری تیروئید، به گریوز مبتلا هستند و بالاترین وقوع سالیانه این بیماری در زنانی با بیشتر از ۲۰سال سابقه دوران قاعدگی دیده می شود، لذا پیک منحنی سنی افراد مبتلا به آن بین ٤۰ تا ٦۰ سالگی می باشد. با این وجود، این بیماری در اوان کودکی یا در سنین سالخوردگی نیز ممکن است اتفاق بیفتد (Vanderpump MP, 2000 ; Holm IA, 2005)

بعضی از زنان باردار، به علت تغییرات هورمونی، به طور موقتی به هایپرتیروئیدیسم گریوز مبتلا می شوند، ولی اکثر آنها تا سه ماهه سوم بارداری بهبود می یابند. اگرچه معمولاً امکان عود بیماری، در مدت ٤ تا ۸ ماه پس از زایمان وجود دارد (Perros P; 1993)

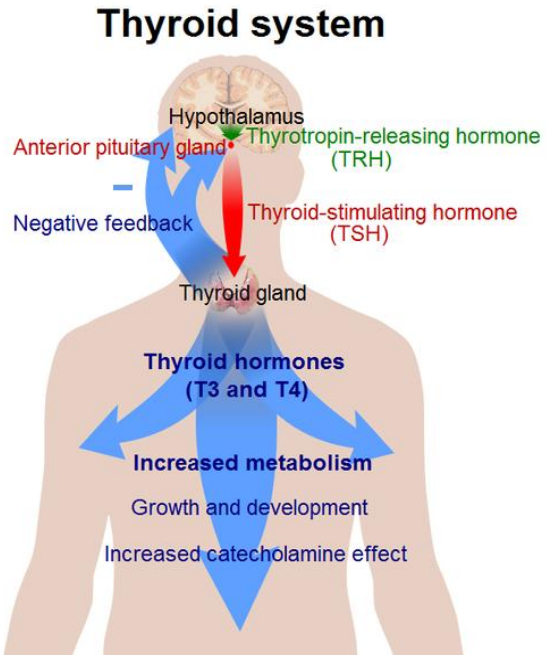
هایپرتیروئیدیسم گریوز یک بیماری خودایمن با شرایط پیچیده ژنتیکی است و آلل های موجود در چند لوکوس کروموزومی مختلف قادرند با درجات متفاوتی بر پاتوژنز آن تأثیرگذار باشند. لذا ۲۵ تا ۳۰ درصد افراد مبتلا به گریوز، با یک فرد دیگر مبتلا به گریوز، یا یک فرد مبتلا به هاشیموتو که یک بیماری اتوایمن دیگر تیروئید است، رابطه خویشاوندی درجه یک دارند (Vaidya B, 2002)

در ایران به دلیل فقدان مطالعات اپیدمیولوژیک گسترده، اطلاعات جامعی در مورد شیوع بیماری گریوز در دست نمی باشد ولی در مطالعه ای که در گذشته بر روی ۳۸٤ بیمار ایرانی مبتلا به گواتر انجام شده و نتایج آن در مجله Acta Medica Iranica به چاپ رسیده است، ۳۲۰ بیمار(۸۳/٤ درصد) یو تیروئید، ٤۹ بیمار (۱۲/۷ درصد) هیپوتیروئید و ۱۵ بیمار(۳/۹ درصد) هایپرتیروئید بودند که از بین بیماران هایپرتیروئید ۹۳٪ به بیماری گریوز و ۷٪ به آدنومای توکسیک مبتلا بودند(Moayeri H and Haghshenas Z, 2002).

۱ ۳ -غده تیروئید و تنظیم عملکرد آن

غده تیروئید، یک غده درون ریز است که در گردن و در جلوی نای واقع شده است. این غده متشکل از دو لوب است که در دو طرف نای قرار گرفته اند و توسط یک نوار باریک بافتی به یکدیگر متصل شده اند. این غده دو نوع هورمون را تولید، ذخیره و ترشح می کند. تیروکسین(T4)[1] و تری یودوتیرونین(T3)[2]. ید بدست آمده از رژیم غذایی، از مسیر گوارشی جذب می شود و به شکل یدید موجود در خون در آمده و توسط سلول های فولیکولی تیروئید مورد استفاده قرار می گیرد و به مونویدوتیرونین (MIT) و یا دی یدوتیرونین (DIT) تبدیل می گردد (Menon Ps, 2003).

مونویدوتیرونین و دی یدوتیرونین به یکدیگر متصل شده و تری یدوتیرونین را می سازند. همچنین دو دی یدوتیرونین به یکدیگر متصل شده و تیروکسین را تشکیل می دهند. بالا رفتن مقادیر تیروکسین و تری یدوتیرونین سرم، سبب ارسال سیگنال های سیستم فیدبک منفی به هیپوتالاموس و هیپوفیز می شود و متعاقباً این دو غده با کاهش ترشح هورمون های خود که به ترتیب TRH[3]و TSH[4]هستند، به غده تیروئید پیام می دهند تا آزادسازی هورمون های تیروئیدی را متوقف کند. در بیماری گریوز، اثر این سیستم فیدبک منفی از بین می رود؛ زیرا آنتی بادی های تحریک کننده تیروئید، گیرنده تیروگلوبولین (TSHR)[5] واقع بر سطح سلول های فولیکولی تیروئید را فعال کرده و با وجود مقادیر بسیار پایین TSH، سبب تحریک ترشح هورمون تیروئید اضافی می گردند. همچنین این تحریک منجر به هایپرتروفی و هایپرپلازیای سلول های فولیکولی، و نهایتاً رشد وخیم غده تیروئید می شود (Sherman SI, 2008 ; Brent GA, 2008).



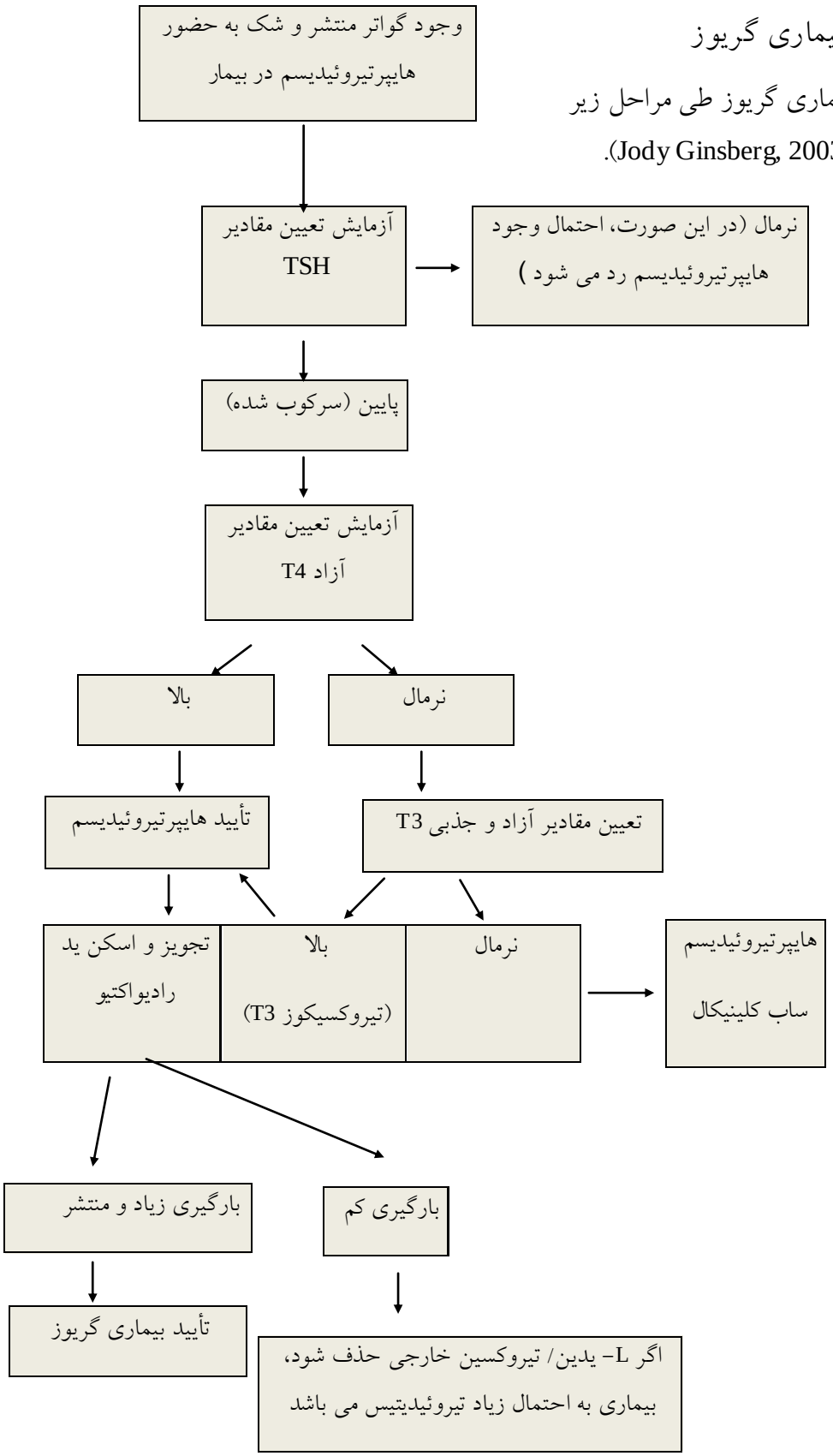
www.wereyouwondering.com

شکل ۱-۱ نشاندهنده سیستم فیدبک منفی بین ترشح هورمون های تیروئیدی و غدد هیپوتالاموس و هیپوفیز در حالت طبیعی است. در بیماری گریوز، این فیدبک به دلیل دخالت آنتی بادی ها از بین می رود.

[1]- Thyroxine
[2]- Triiodothyronine
[3]- Thyrotropine Releasing Hormon
[4]- Thyroid Stimulating Hormon
[5]- Thyroid Stimulating Hormon Receptor

۱ ٤ -تشخیص بیماری گریوز

تشخیص کلینیکی بیماری گریوز طی مراحل زیر صورت می پذیرد (Jody Ginsberg, 2003).

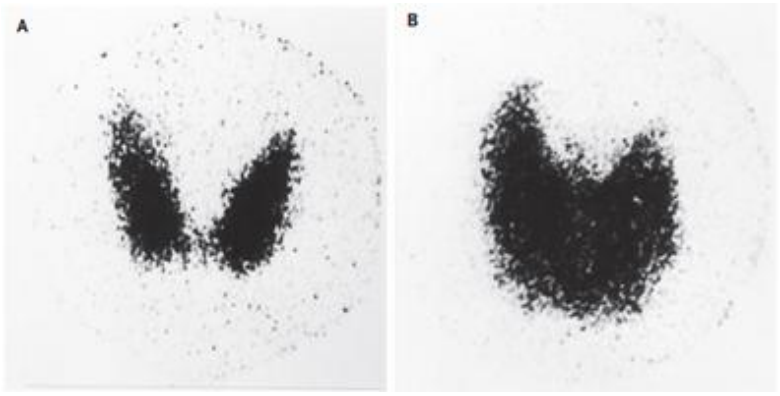


همانطور که در نمودار بالا اشاره شد، اندازه گیری هورمون های تیروئیدی و تیروتروپین مراحلی ضروری در تشخیص بیماری گریوز می باشد. لذا مقادیر طبیعی و غیرطبیعی این هورمونها در جدول ذیل درج شده است (Sherman SI, 2008 ; Pearce EN, 2006).

هورمون	مقادیر طبیعی	مقادیر غیر طبیعی (وضعیت گریوز)
TSH	0.4 – 4.0 mLU/L	< 0.4 mLU/L
Free T4	0.8 – 2.7 ng/dL	>2.7 ng/dL
Total T4	4.5 – 11.2 mcg/dL	>11.2 mcg/dL
Total T3	100 – 200 ng/dL	>200 ng/dL

جدول ۱-۱ نشان دهنده مقادیر طبیعی هورمون های تیروئیدی در افراد سالم و مقادیر غیر طبیعی آنها در بیماران مبتلا به گریوز می باشد.

مرحله نهایی در تشخیص بیماری گریوز، ارزیابی میزان براشت ید رادیواکتیو (I^{123}) توسط غده تیروئید است که ۲٤ ساعت بعد از خوردن I^{123} توسط بیمار، با اسکن غده تیروئید فرد انجام می گیرد (شکل ۱-۲) (Geory A. Brent, M.D. , 2008).



شکل ۱-۲ اسکن ید رادیواکتیو را در غده تیروئید نشان می دهد. A) تصویری است که ۲٤ ساعت بعد از خوردن ید رادیواکتیو ۱۲۳، از غده تیروئید یک فرد نرمال گرفته شده است. B) تصویری است که ۲٤ ساعت بعد از خوردن ید رادیواکتیو ۱۲۳، از غده تیروئید یک فرد مبتلا به بیماری گریوز گرفته شده است. همانطور که در شکل مشاهده می شود، غده تیروئید فرد مبتلا به گریوز بزرگتر است و کسر بزرگتری از ید رادیواکتیو را در خود جمع کرده است.

(Images courtesy of Dr. Jerome Hershman, David Geffen School of Medicine at UCLA, Los Angeles)

۱ ۵ -نقص های فیزیولوژیکی ناشی از ابتلا به بیماری گریوز

سیستم درگیر	یافته ها یا علائم کلینیکی	علت اختلال
هیپوفیز	کاهش تیروتروپین	کاهش بیان زیرواحد β تیروتروپین و زیرواحد α عمومی
تیروئید	افزایش ترشح هورمون های تیروئیدی[1]T3 و [2]T4	افزایش فعالیت '5 دیدیناز نوع ۲ در غده تیروئید، افزایش آنتی بادی های محرک گیرنده TSH، افزایش[3]Anti-TPO و Anti-NA+/I- cotransporter
قلبی	افزایش ضربان و انقباض پذیری قلب	افزایش بیان [4]HCN2، کانال پتاسیمی وابسته به ولتاژ گیت دار، و [5]SERCA- افزایش بیان [6]α–MHC و کاهش بیان βMHC -افزایش پپتید artial natriuretic در سرم
کبدی	افزایش تولید T3 خون محیطی، کاهش مجموع کلسترول LDL و لیپوپروتئین (a)	افزایش بیان '5 دیدیناز نوع ۱، گیرنده [7]LDL و [8]VLDL لیپاز ، [9]SREBP-2 - [10]CYP7A و [11]CETP
اسکلتی	افزایش تغییر و تبدیل استخوانی، پوکی استخوان، کاهش سلول های استخوانی، ضعف و شکستگی استخوان	افزایش استئوکلسین، آلکالین فسفاتاز، و N-تلوپپتید ادراری
تولیدمثلی	زن: قاعدگی نامنظم مرد: اختلال در نغوظ و کاهش میل جنسی	انتاگونیسم عمل استروژن، تنظیم ناقص گنادوتروپین افزایش گلوبولین هورمون جنسی -کاهش تستوسترون آزاد
متابولیک	افزایش گرمای بدن و مصرف اکسیژن	افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب و Na^+/K^+ ATPase
چربی سفید	کاهش حجم چربی	لیپولیز تقویت شده بواسطه غدد و هورمون های آدرنرژیک
عضلانی	ضعف عضلانی و خستگی زودرس	افزایش فعالیت SERCA و کراتین کیناز سرمی

جدول ۱-۲ نشاندهنده نقص های فیزیولوژیکی ناشی از بیماری گریوز است (Motomura K, 1998 ; Brenta G, 2008 ; Klein I , 2001).

[1]- triiodothyronine
[2]- thyroxine
[3]- anti-thyroid proxidase
[4]- hyperpolarization - activated cyclic nucleotide – gated cation channel 2
[5]- sarcoplasmic reticulum calcium- activated ATPase
[6]- α,β- myosin heavy chain
[7]- low density lipoprotein
[8]- very low density lipoprotein
[9]- strol regulatory element- binding protein 2
[10]- cholesterol 7 α-hydroxylase
[11]- cholesterol ester transfer protein

۱ ٦ -علائم بالینی بیماری گریوز

عمومی	خستگی	حرکات شدید دستگاه گوارش	ضعف عضلانی	گواتر	عدم تحمل گرما	کاهش وزن با وجود اشتهای زیاد
فیزیولوژیکی	تشویش	افسردگی	زودرنجی		عصبانیت	
چشمی	بیرون زدگی حدقه (افتالموپاتی)	عقب ماندگی پلک چشم	تأخیر در پلک زدن		خیره ماندن چشم ها	
پوستی	میکس ادم پری تیبال	پوست ضخیم با سطح صاف و براق	خارش		پوست گرم و مرطوب همراه با تعرق شدید	
قلبی- عروقی	انقباض بی نظم رشته های عضلانی دهلیزهای قلب		تپش قلب		مورمور شدن و لرزش قلب	
عصبی- ماهیچه ای	رعشه دست ها		رفلکس های تاندونی فراوان و شدید			

جدول ۱-۳ نشاندهنده علائم کلینیکی بیماری گریوز می باشد (Sherman SI, 2008 ; Streetman DD, 2004).

۱-۶-۱- افتالموپاتی گریوز[1]

افتالموپاتی گریوز، که اوربیتوپاتی گریوز[2] نیز نامیده می شود، به طور بالقوه یک بیماری چشمی است که معمولاً در افراد مبتلا به هایپرتیروئیدیسم اتفاق می افتد و به بیماری چشمی تیروئید معروف می باشد. این بیماری سالیانه در ١٦ زن و ۳ مرد در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر از جمعیت اتفاق می افتد (Bartley GB, 1994).

۱-٦-۱-۱- ویژگی های بالینی و آزمایشگاهی

تقریباً نیمی از مبتلایان به هایپرتیروئیدیسم گریوز، دارای علائم افتالموپاتی شامل احساس خشکی و کرخت شدن چشم ها، نورگریزی، اشک زیاد در چشم، دوبینی و احساس فشار در پشت چشم هستند. عمومی ترین ویژگی های کلینیکی افتالموپاتی شامل عقب ماندگی پلک بالایی چشم، تورم و التهاب بافت و غشای ملتحمه اطراف حدقه، و بیرون زدگی حدقه می باشد. تقریباً ۳ تا ۵ درصد بیمارانی با افتالموپاتی گریوز، دچار وضعیت حاد بیماری و درد شدید، التهاب و زخم قرنیه و یا نوروپاتی حاصل از افزایش فشار داخل چشم هستند (Wiersinga WM, 2002). مشکلات ساب کلینیکال چشمی در این بیماران رایج است

[1]- Graves' Ophthalmopathy
[2]- Graves' Orbitopathy

و در حدود ۷۰ درصد از بیماران بزرگسال با هایپرتیروئیدیسم گریوز، بزرگ شدن عضله extraocular با استفاده از عکسبرداری رزونانس مغناطیسی (MRI)[1] و اسکن توموگرافی کامپیوتری[2] مشخص می شود (Enzmann DR, 1980). اگرچه گاهی فرد مبتلا به بیماری گریوز به ظاهر در یک چشم خود دچار افتالموپاتی است، اما عکسبرداری از حدقه عموماً حضور افتالموپاتی را در هر دو چشم نشان می دهد که در یک چشم شدیدتر از چشم دیگر است (Wiersinga WM, 1990). اساس ایجاد هایپرتیروئیدیسم و نیز افتالموپاتی گریوز، حضور آنتی بادی های ضد گیرنده تیروتیروتروپین است که سبب واکنش پذیری ایمنی می شود (Khoo DH, 2000). مقادیر آنتی بادی های گیرنده تیروتروپین، با ویژگی های کلینیکی افتالموپاتی گریوز رابطه مستقیم دارد (Gerding MN, 2000).

شکل ۱-۳ تصویری از افتالموپاتی در یک زن ۵۹ ساله که در آن بیرون زدگی حدقه، عقب ماندگی پلک ها و التهاب چشم ها به خوبی در آن مشاهده می گردد.

استعمال دخانیات، قوی ترین فاکتور خطر مؤثر برای افتالموپاتی گریوز است، طوریکه در افراد سیگاری ۷/۷ برابر بیشتر از افراد غیر سیگاری اتفاق می افتد و میزان این خطر برای کسانی که به طور روزمره سیگار می کشند، نسبی است. در افراد سیگاری مبتلا به افتالموپاتی گریوز، نسبت به مبتلایانی که سیگار نمی کشند، افتالموپاتی شدیدتر است و این افراد به داروهای سرکوبگر سیستم ایمنی پاسخ خیلی کمتری می دهند (Bartalena L, 2000 ; Stan MN, 2010).

۱-۶-۱-۲- یافته های آناتومیکی و هیستولوژیکی

بسیاری از علائم و نشانه های بالینی افتالموپاتی گریوز، ناشی از رشد و توسعه بافت نرم در حدقه می باشد که منجر به افزایش فشار داخلی چشم می شود (Bahn RS, 1993 ; Otto AJ, 1997). در بسیاری از بیماران، هم رشد عضلات extraocular، و هم توسعه بافت چربی در داخل چشم دیده می شود که معمولاً یکی بر دیگری غالب است (Forbes G, 1986). در بیماران زیر ۴۰ سال معمولاً گسترش بافت چربی مشاهده می شود، درحالیکه در بیماران بالای ۶۰ سال رشد عضله extraocular وجود دارد (Anderson RL, 1989). بیرون زدگی چشم ها از حدقه، و گشاد شدن حدقه مشهود است و زمانی که عضلات داخل چشمی در پشت حدقه رشد می کنند، خطر نوروپاتی ناشی از فشار داخل چشم وجود دارد. دو بینی از التهاب و تورم عضلات extraocular ناشی می شود. عضله درگیر شونده، معمولاً inferior rectus است. عقب ماندگی پلک بالایی چشم بواسطه افزایش تحریک سمپاتیکی عضله Müller's، و فعالیت مفرط عضله

[1]- Magnetic Resonance Imaging
[2]- Computed Tomographic Scanning