مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۱۱/هفته چهارم دی ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۶/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۹/۹

بررسی ارتباط بین خونریزی مغزی و بیان ژن ماتریکس متالوپروتئیناز ۹ و ۲ (MMP-2,9) در بیماران مبتلا به نقص شدید عامل انعقادی XIII

دکتر مجید نادری[۱]، محمدرضا یونسی[۲]، اکبر درگلاله[۳]، دکتر شعبان علیزاده[۴]، دکتر احمد کاظمی[۵]، شادی طبیبیان[۲]، زهرا کاشانی خطیب[۶]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: آنزیم‌های خانواده‌ی ماتریکس متالوپروتئیناز (MMPs یا Matrix metalloproteinases) نقشی اساسی در تجزیه‌ی غشای پایه، ماتریکس خارج سلولی و بازسازی بافتی ایفا می‌نمایند و در روند بروز خونریزی مغزی دخیل هستند. از طرفی، نقص عامل انعقادی XIII یک بیماری بسیار نادر خونریزی دهنده است که شیوع آن یک در ۲-۱ میلیون نفر تخمین زده می‌شود. خونریزی مغزی علت اصلی مرگ در این بیماران است. این مطالعه به بررسی ارتباط بین بیان ژن ماتریکس متالوپروتئیناز ۹ و ۲ با خونریزی مغزی در این بیماران پرداخت.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مورد- شاهدی با بررسی یافته‌های بالینی و کلی بیماران مورد مطالعه، روش Q-Real-time RT-PCR (Quantitative real-time reverse transcription polymerase chain reaction) برای بررسی کمی مقادیر mRNA ماتریکس متالوپروتئیناز ۹ و ۲ در ۴۲ بیمار دچار نقص ارثی عامل انعقادی XIII (شامل دو گروه با و بدون سابقه‌ی خونریزی مغزی (به ترتیب گروه‌های مورد و شاهد) به کار گرفته شد. روش مقایسه‌ای ($۲^{-\Delta\Delta cCt}$) برای بررسی سطح بیان ژن‌های هدف استفاده شد. سطوح بیان ژن آنزیم گلیسیرالدئید ۳ فسفات (GAPDH یا Glyceraldehyde ۳-phosphate dehydrogenase) برای استانداردسازی بیان ژن‌های ماتریکس متالوپروتئیناز مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: خونریزی از بند ناف شایع‌ترین علامت بالینی بین همه‌ی بیماران بود. مقادیر بالای بیان ژن MMP-۹ در ۱۳ بیمار گروه مورد (۲۸/۷۲ درصد) و ۳ بیمار گروه شاهد (۱۲/۵ درصد) مشاهده شد که نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بود (CI: ۲/۸-۹۵/۳) (P = ۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: بیماران دارای نقص عامل انعقادی XIII طیف وسیعی از علایم بالینی را نشان می‌دهند که دارای اهمیت فراوانی در غربالگری و تشخیص این دسته از بیماران است. بر اساس نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد که افزایش بیان ژن MMP-۹ به علت پلی‌مورفیسم یا التهاب مرتبط با بیماری‌زایی خونریزی مغزی در این دسته از بیماران است. شاید بتوان با استفاده از مهار کننده‌های MMP-۹ این اثر را کاهش داد و به کاهش نرخ بستری شدن و مرگ این بیماران کمک نمود.

واژگان کلیدی: نقص عامل انعقادی XIII، خونریزی مغزی، ماتریکس متالوپروتئیناز

ارجاع: نادری مجید، یونسی محمدرضا، درگلاله اکبر، علیزاده شعبان، کاظمی احمد، طبیبیان شادی، کاشانی خطیب زهرا. **بررسی ارتباط بین خونریزی مغزی و بیان ژن ماتریکس متالوپروتئیناز ۹ و ۲ (MMP-2,9) در بیماران مبتلا به نقص شدید عامل انعقادی XIII.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۱): ۲۰۳۴-۲۰۲۵

۱- استادیار، گروه خون و انکولوژی کودکان، بیمارستان علی ابن ابی طالب (ع)، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران
۲- کارشناس ارشد، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، تهران، ایران
۳- کارشناس ارشد، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران و دانشجوی دکتری، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۴- استادیار، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۵- استاد، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶- کارشناس ارشد، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر شعبان علیزاده
Email: alizadehs@sina.tums.ac.ir

مقدمه

عامل انعقادی XIII (FXIII یا Factor XIII) پروتئینی از دسته‌ی ترانس گلوتامینازها است که دارای دو زیر واحد کاتالیتیک A (FXIII-A) و دو زیر واحد ناقل B (FXIII-B) می‌باشد و حضور آن در مراحل نهایی آبشار انعقادی الزامی است. عامل XIII فعال به صورت مکانیکی لخته‌ی فیبرین را با پل‌های ارتباطی گاما گلوتامیل لیزین تقویت و از این طریق، لخته را پایدار می‌نماید (۲-۱).

علاوه بر این، عامل XIII انعقادی فعال شده با افزایش اتصال α_2-plasmin به شبکه‌ی فیبرینی تازه تشکیل شده، مانع تخریب آن توسط سیستم فیبرینولیتیک می‌گردد. نقص ارثی عامل انعقادی XIII به صورت اتوزوم مغلوب به ارث می‌رسد و به شدت نادر و در عین حال از دسته‌ی بیماری‌های خونریزی دهنده‌ی شدید و مرگ‌آور می‌باشد (۳-۲). میانگین شیوع فرم شدید بیماری در بین جمعیت‌های مختلف جهان متفاوت است، اما در حالت کلی، فراوانی یک در ۵-۳ میلیون نفر گزارش شده است (۴).

بسته به مقادیر پلاسمایی عامل XIII، علایم بالینی نقص عامل XIII از ملایم تا شدید متفاوت خواهد بود (۵). بیماری با خونریزی شدید، خونریزی خودبه‌خودی CNS (Central nervous system)، سقط خودبه‌خود، تأخیر در ترمیم زخم و خونریزی از بند ناف که چند روز پس از تولد بروز می‌کند، همراه است. خونریزی مغزی، علت اول مرگ و نهایی‌ترین علامت بیمار از نقص عامل انعقادی XIII می‌باشد. این علامت، تهدید کننده‌ی زندگی فرد و مهم‌ترین علت مرگ این دسته از بیماران در اثر علل خونریزی دهنده است (۷-۴). در حالت کلی، با وجود درمان‌های نوین، خونریزی داخل جمجمه‌ای، به هر دلیلی که اتفاق بیفتد، به عنوان یکی از شدیدترین اشکال بیماری‌های مرتبط با اعصاب مرکزی شناخته می‌شود؛ به طوری که ۵۰-۳۰ درصد بیماران دچار مرگ می‌شوند (۱۱-۸).

خونریزی مغزی در ۳۰ درصد بیماران دچار نقص ارثی عامل XIII اتفاق می‌افتد و شایع‌ترین علت مرگ در این بیماران در مقایسه با سایر بیماری‌های ارثی خونریزی دهنده است (۱۲). همه‌ی بیماران دچار نقص شدید عامل انعقادی XIII (FXIII < ۱ U/dl) درمان‌های جایگزین کننده با فراورده‌هایی مثل پلاسمای تازه منجمد (FFP یا Fresh frozen plasma)، رسوب کرایو و یا کنسانتره‌ی خالص شده‌ی فاکتور XIII (Fibrogammin P) را دریافت می‌نمایند (۱۳، ۵).

از سوی دیگر، ماتریکس متالوپروتئینازها (MMPs یا Matrix metalloproteinases) خانواده‌ی بزرگی از اندوپپتیدازهای وابسته به کلسیم و حاوی روی می‌باشند که در بازسازی بافتی و تجزیه‌ی ماتریکس خارج سلولی شامل کلاژن‌ها، ژلاتین، گلیکوپروتئین‌ها و پروتئوگلیکان‌های ماتریکس نقش اساسی ایفا می‌نمایند. غشای پایه دارای مقادیر فراوانی از کلاژن نوع ۴، لامینین، فیبرونکتین و الاستین است. نکته‌ی جالب توجه در این باره، توانایی بسیار زیاد دو آنزیم MMP-۲ و MMP-۹ در تجزیه‌ی کلاژن نوع ۴ (بیشترین پروتئین ماتریکس خارج سلولی) است که بیش از همه‌ی پروتئینازهای دیگر است. این توانایی می‌تواند منجر به ایفای نقش مهم آن‌ها در تجزیه‌ی سد خونی- مغزی و ایجاد آسیب شود. اطلاعات بسیار زیادی درباره‌ی این موضوع وجود دارد که افزایش بیان

ژن MMP-۲ و MMP-۹ دارای اثرات فراوانی در بیماری‌زایی خونریزی داخل جمجمه‌ای است.

مطالعات بسیاری نشان داده است که ماتریکس متالوپروتئینازها باعث تجزیه‌ی ترکیبات لامین پایه می‌شوند که در نهایت، منجر به تخریب سد خونی-مغزی می‌گردد و همچنین در پاسخ‌های التهابی به برخی بیماری‌های نورولوژیک دخیل است. در حالی که به منظور جلوگیری از عوارض مرگ‌آور بالینی، بیماران دارای نقص شدید عامل XIII درمان‌های جایگزین پیشگیرانه دریافت می‌دارند؛ به طوری که کنسانتره‌ی عامل ۱۳ نقص و یا کمبود عامل آن‌ها را جبران می‌نماید (۶)، اما هنوز هم خونریزی داخل جمجمه‌ای علت اصلی مرگ مرتبط با خونریزی در این بیماران است. خونریزی مغزی در این بیماران به صورت مکرر اتفاق می‌افتد و حدود ۳۰ درصد بیماران را درگیر می‌نماید.

هدف این مطالعه بررسی اثرات تغییرات سطح بیان ژن‌های MMP-۲ و MMP-۹ بر بیماری‌زایی خونریزی مغزی در بیماران مبتلا به نقص شدید ارثی عامل XIII بود (۱۵-۱۴).

روش‌ها

جمعیت مطالعه: این مطالعه‌ی مورد- شاهدی بر روی ۴۲ بیمار با نقص ارثی شدید عامل انعقادی XIII در یک بازه‌ی زمانی ۱۰ ماهه انجام شد. در حالت کلی، ۴۲ بیمار برای مطالعه انتخاب گردیدند که سابقه‌ی خونریزی داخل جمجمه‌ای ۱۸ نفر آن‌ها با مدارک CTscan (Computerized tomography scan) و پرونده‌ی پزشکی تأیید شده بود. ۲۴ نفر باقی‌مانده، پس از تطابق سن و جنس از میان بیماران دیگر به عنوان گروه شاهد انتخاب گردیدند. به منظور اطمینان از شرایط بیماران گروه مورد برای مشارکت آنان در مطالعه، CTscan یا MRI (Magnetic resonance imaging) انجام شده در ۲۴ یا ۴۸ ساعت پس از شروع علایم خونریزی مغزی مورد بررسی قرار گرفت. رضایت‌نامه‌ی امضا شده از همه‌ی مشارکت کنند گان دریافت گردید و مطالعه توسط کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران تأیید گردیده است.

استخراج اطلاعات، معیارهای ورود و خروج مطالعه

اطلاعات مستند همه‌ی بیماران مراجعه کننده از سراسر استان سیستان و بلوچستان به مرکز هموفیلی شهر زاهدان در مرکز مدارک پزشکی در دسترس بود. اطلاعات بیماران از مدارک پزشکی و پرسش‌نامه‌ی تکمیل شده توسط پزشک معالج استخراج گردید. به منظور ورود به مطالعه، تمامی بیماران دچار نقص عامل XIII دارای سابقه‌ی خونریزی داخل جمجمه‌ای انتخاب گردیدند. معیارهای خروج از مطالعه شامل سابقه‌ی پزشکی نا کامل، نقص عامل XIII به همراه اختلال خونریزی دهنده‌ی دیگر، هر گونه شواهد آمیلوئید آنژیوپاتی، بیماری کبدی یا تومور مغزی می‌شد. علاوه بر این، همه‌ی بیماران توسط پرسنل آموزش دیده مورد مصاحبه قرار گرفتند و پرسش‌نامه شامل اطلاعات دموگرافیک سن، جنس، علایم خونریزی در طول زندگی و سن در موقع وقوع خونریزی مغزی تکمیل گردید. همه‌ی بیماران به طور منظم تحت آزمایش‌های تشخیصی منگوآنسفالیت، منژیت باکتریایی، ویروس HIV (Human immunodeficiency virus)، HBV (Hepatitis B virus)، HAV (Hepatitis A virus) و

HCV (Hepatitis C virus) قرار گرفتند.

معاینات بالینی

بیماران با نقص شدید عامل XIII اغلب دارای آزمایش حلالیت در اوره‌ی ۵ M غیر طبیعی بودند که به خودی خود نشان دهنده‌ی تمایل شدید آن‌ها به خونریزی در بافت‌های مختلف است. معاینات کامل پزشکی بر روی همه‌ی بیماران مشارکت کننده در مطالعه توسط پزشک متخصص در بیماری‌های خونریزی دهنده انجام شد و به صورت مستند ثبت گردید. بیماران از نظر آزمایشگاهی و کلینیکی برای همه‌ی شواهد آمیلوئید، بیماری کبدی، تومورهای مغزی و عفونت‌های ویروسی مورد بررسی قرار گرفتند.

جداسازی RNA

پس از جمع‌آوری نمونه‌ی خون در لوله‌های خلأ حاوی ضد انعقاد EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) توسط پرسنل آموزش دیده در خون‌گیری با استفاده از روش‌های استریل، نمونه‌ها برای جداسازی RNA در زمانی دیگر در فریزر ۷۵- C^{o} قرار گرفتند. RNA_{Total} با استفاده از کیت TRIzol reagent (Invitrogen) با توجه به دستورالعمل سازنده استخراج گردید. کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتر و ژل آگارز ۲ درصد مورد تأیید قرار گرفت.

ساخت cDNA و آنالیز PCR

با استفاده از کیت یک مرحله‌ای Super script one-step RT-PCR kit (Bioneer, South Korea) و پرایمرهای مناسب، مقدار RNA_{Total} ۱۰ λ به cDNA (Complementary DNA) تبدیل گردید. پرایمرهای استفاده شده برای GAPDH (Glyceraldehyde ۳–phosphate dehydrogenase) (Clontech) به عنوان ژن خانه‌دار (شاهد) استفاده شدند. محصول به دست آمده دارای باند تک و اختصاصی در الکتروفورز ژل آگارز بود.

Real-time RT-PCR کمی

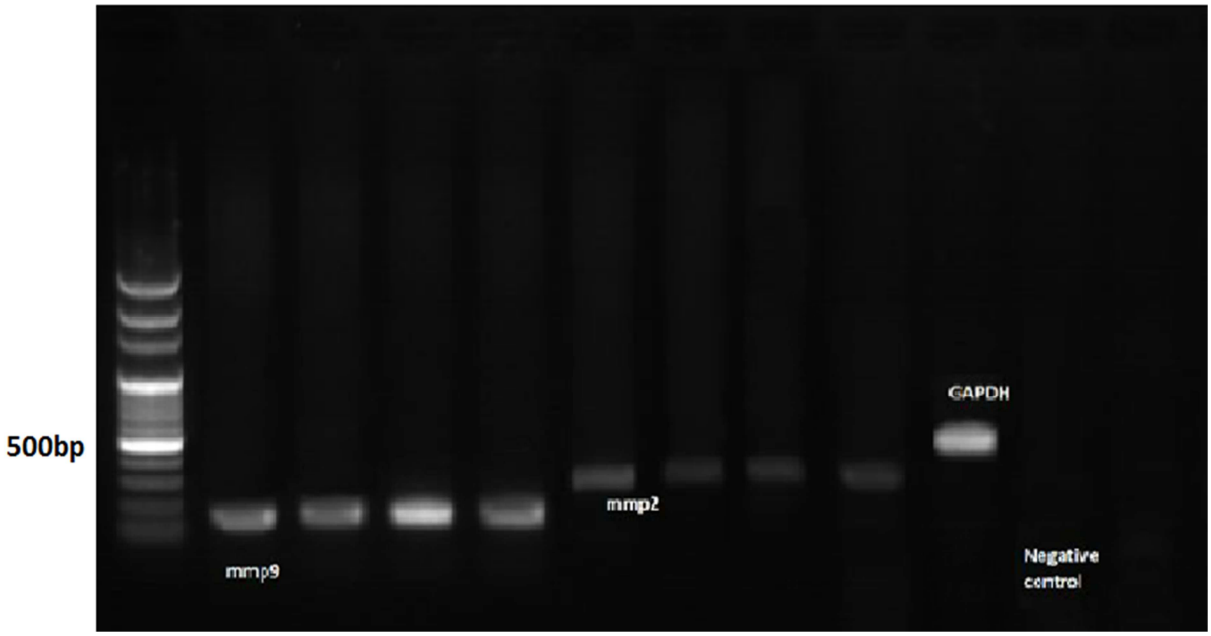
پرایمرهای استفاده شده برای آنالیز بیان ژن‌های MMP–۹، MMP–۲ و GAPDH در جدول ۱ آمده است. همه‌ی پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار آنالیز پرایمر اختصاصی (Gene runner) طراحی گردیدند و توالی مورد نظر در پایگاه اطلاعاتی مربوط (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) بلاست گردید. Real-time RT-PCR (Real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays) کمی با استفاده از کیت SYBR green (Fermentas, UK) در دستگاه ABI, step one (Applied biosystems) انجام شد. پس از PCR منحنی آنالیز (Melting curve) بررسی گردید تا ویژگی محصول مورد نظر آزمایش تأیید گردد.

سطح بیان ژن‌ها به صورت مقایسه‌ای با تغییرات سطح بیان ژن GAPDH به عنوان ژن شاهد با استفاده از فرمول $۲^{-\Delta\Delta C_T}$ در نرم‌افزار Light cycler apparatus (Roche, Germany) محاسبه گردید. به منظور اطمینان از ویژگی محصول تکثیر شده، همه‌ی نمونه‌ها در الکتروفورز ژل آگارز ۲ درصد بررسی گردیدند (شکل ۱). نتایج حاصل در نرم‌افزار SPSS (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL) به صورت درصد، میانه، میانگین و با استفاده از آزمون t محاسبه گردیدند. $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

جدول ۱. پرایمرهای استفاده شده برای آنالیز بیان ژن MMP-۹، MMP-۲ و GAPDH

نام ژن	توالی پرایمر ۳ ۵	اندازه‌ی قطعه
MMP-۹	Forward: TTGACAGCGACAAGAAGTGG Reverse: CCCTCAGTGAAGCGGTACAT	bp۱۴۷
MMP-۲	Forward: ACAAAGGGATTGCCAGGACC Reverse: ATTAGCGCCTCCATCGTAGC	bp۳۵۰
GAPDH	Forward: CGGAGTCAACGGATTTGGTCGTAT Reverse: AGCCTTCTCCATGGTGGTGAAGAC	bp۶۰۰

MMP-9: Matrix metalloproteinase-9; MMP-2: Matrix metalloproteinase-2; GAPDH: Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase



شکل ۱. تصویر نتایج الکتروفورز محصولات qReal time RT-PCR (Real-time reverse transcription polymerase chain reaction) در ژل مرتبط با MMP-۲ (Matrix metalloproteinase-۲)، MMP-۹ (Matrix metalloproteinase-۹) و GAPDH (Glyceraldehyde ۳- phosphate dehydrogenase) به عنوان ژن شاهد می‌باشد. شاهد منفی در ستون سمت راست مشاهده می‌گردد.

یافته‌ها

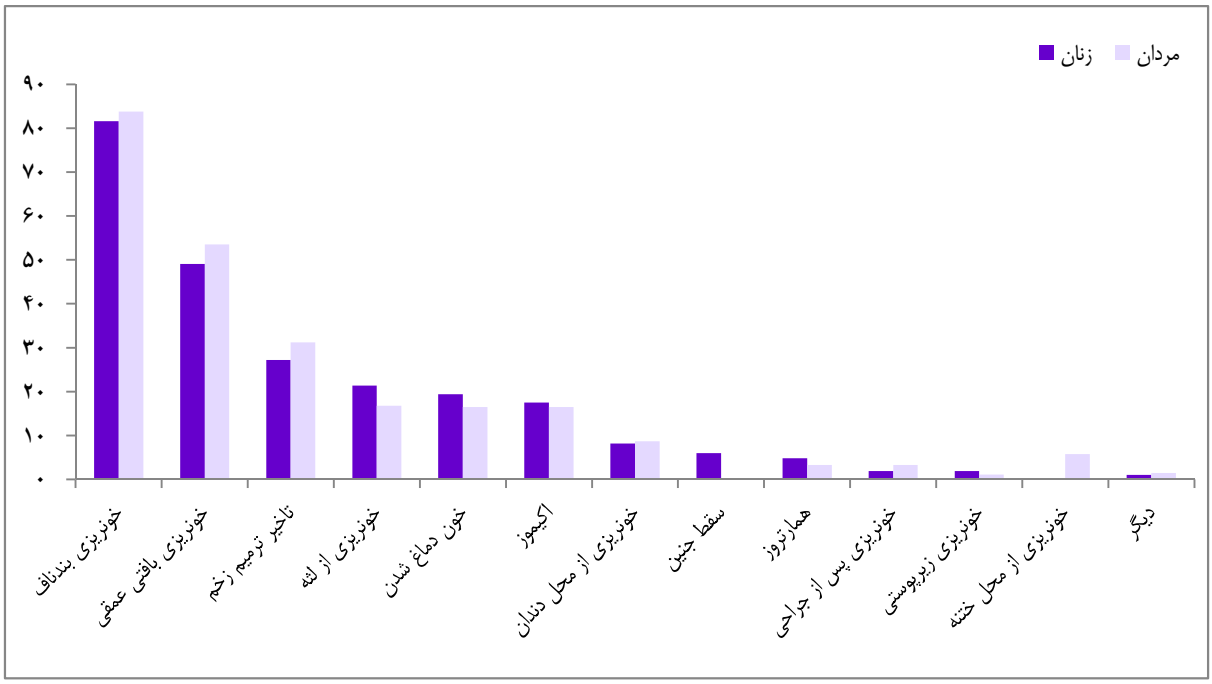
۴۲ بیمار مبتلا به نقص عامل انعقادی XIII شامل ۲۲ مرد و ۲۰ زن برای مطالعه انتخاب شدند. اطلاعات بالینی این افراد در شکل ۲ آمده است. میانگین سن بیماران در زمان ورود به مطالعه ۱۵/۱ سال (بین ۱۴/۲-۲۵/۰ سال) بود. بیماران به صورت یکسان از نظر سنی و جنسی تقسیم گردیدند. میانگین سن در گروه مورد در زمان وقوع خونریزی مغزی ۳۷ ماه بود. اولین یافته‌ی بالینی مرتبط با بیماری خونریزی بند ناف بود که در بیش از ۸۰ درصد بیماران ثبت شد. به طور کلی، در گروه مورد و شاهد شایع‌ترین یافته‌ی بالینی در بیماران نیز خونریزی از بند ناف بود. آزمایش‌های معمول به منظور آشکارسازی آلودگی فرد با HIV، HBV و HCV در طی بازه‌های زمانی شش ماهه برای همه‌ی بیماران دریافت کننده‌ی خون صورت گرفت و در همه‌ی بیماران منفی گزارش شد. همچنین مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که منگوآنسفالیت ویروسی یا

منتژیت، عامل خونریزی مغزی در بیماران نبوده است. تمام افراد مشارکت کننده در مطالعه بسته به میزان شدت بیماری درمان‌های جایگزین به صورت کنسانتره‌ی عامل XIII (Fibrogammin P) (Behring, Germany)، FFP و یا رسوب کرایو دریافت می‌کردند تا از وقوع خونریزی پیشگیری شود.

خونریزی داخل جمجمه‌ای بیماران

در زمان وقوع خونریزی مغزی، بیماران علایم شامل تشنج (۸۳/۳۳ درصد) و تهوع با سردرد (۱۱/۱۱ درصد) را نشان دادند. خونریزی بین بافت‌های پارانشیمی شایع‌ترین نوع خونریزی داخل جمجمه‌ای بود که در ۷۲/۲۲ درصد بیماران رخ داد. سایر اشکال خونریزی مغزی شامل خونریزی Subdural در ۲۲/۲۲ درصد افراد و وقوع همزمان خونریزی بافت بین پارانشیمی و Subdural در ۵/۵۵ درصد بیماران بود. خونریزی داخل جمجمه‌ای در ۲ بیمار با استفاده از MRI و در ۱۶ بیمار با عکس‌های CTscan تشخیص داده شد. حجم هماتوم در ۸ بیمار بیش از ۳۰ ml، در ۳ بیمار بیش از ۲۰ ml و در ۶ بیمار بین ۱۵-۱۰ ml بود. در همه‌ی بیماران درمان‌های جایگزین تا حداکثر ۲ روز پس از تشخیص خونریزی مغزی به فرد تجویز گردید.

۷۲/۲۲ درصد بیماران گروه مورد، پس از خونریزی مغزی پلاسمای تازه منجمد و ۱۷/۷۸ درصد رسوب کرایو دریافت نمودند و سایر افراد، درمان ترکیبی با کنسانتره‌ی عامل انعقادی XIII با یا بدون همراهی کرایو یا پلاسما تزریق شد. پس از درمان بیماران، ۲۷/۳۳ درصد افراد دارای عوارض تشنج بودند. یک بیمار نیز عوارض مرتبط با عقب افتادگی ذهنی و میکرو سفالی داشت؛ در حالی که دیگران به طور تقریبی فاقد عوارض بودند.



شکل ۲. خونریزی‌های ثبت شده در طول زندگی بیماران دچار نقص عامل انعقادی XIII

نتایج آزمایشگاهی

پس از این که مقادیر عددی به دست آمده‌ی mRNA در ژن‌های MMP-۲ و MMP-۹ با توجه به مقادیر عددی GAPDH نرمالیزه گردید، مشاهده شد که مقادیر بالای mRNA ژن MMP-۹ در گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (P = ۰/۰۰۱ ،CI: ۲/۸-۹۵/۳). در حالی که اختلاف معنی‌داری بین بیان ژن MMP-۲ با وقوع خونریزی مغزی مشاهده نشد. همچنین اختلاف معنی‌دار بین سطح بیان ژن‌های هدف با حجم خونریزی، فراوانی وقوع علایم کلینیکی، جنس، سن، ویژگی‌های نژادی و خونریزی از بافت‌های خاص مشاهده نشد.

بحث

میزان بالای ازدواج‌های فامیلی در استان سیستان و بلوچستان منجر به افزایش شیوع بیماری‌های اتوزوم مغلوب به خصوص بیماری‌های خونریزی دهنده‌ی نادر (Rare bleeding disorder) در این استان در جنوب شرقی ایران شده است. مطالعه‌ی مورد-شاهدی حاضر، تعداد فراوانی از این دسته از بیماران نادر را مورد بررسی قرار داد.

Trinh و همکاران (۱۴)، تمدن و همکاران (۱۵) و همچنین نادری و همکاران (۱۶) مطالعاتی جداگانه بر روی DNA بیماران دچار نقص عامل انعقادی XIII در این منطقه انجام دادند که به ترتیب ۱۴ و ۱۶ بیمار را بررسی کردند. نادری و همکاران اثر پلی‌مورفیسم مهار کننده‌ی فیبرینولیز فعال شونده با ترومبین را بر خونریزی مغزی در جمعیتی از افراد این استان بررسی کردند (۱۶). برای اولین بار، از روش کمی Real-time reverse transcription-PCR برای اندازه‌گیری کمی نسبی بیان ژن‌های مورد و شاهد در این مطالعه استفاده گردید و اثر تغییرات بیان ژن ماتریکس متالوپروتئینازهای ۹ و ۲ بر خونریزی مغزی در این بیماران بررسی گردید.

مطالعات بالینی نشان از طیف وسیعی از عوارض و نشانه‌های کلینیکی در این دسته از بیماران است که در شکل ۱ نشان داده شده است. درمان پیشگیرانه، نقص عامل انعقادی XIII را (به صورت جایگزینی آن با سایر فراورده‌ها) جبران می‌نماید؛ به طوری که از وقوع خونریزی‌ها جلوگیری می‌نماید.

با این وجود، هنوز هم ۳۰ درصد بیماران مبتلا به نقص عامل انعقادی XIII دچار خونریزی مغزی می‌شوند؛ به طوری که اولین علت مرگ در این بیماران را موجب می‌شود (۱۷-۱۶). در نهایت، نتایج آزمایشگاهی مطالعه نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین افزایش سطح بیان ژن MMP-۹ و بیماری‌زایی خونریزی داخل جمجمه‌ای وجود دارد. در سیستم اعصاب مرکزی، نشان داده شده است که ماتریکس متالوپروتئینازهای ۹ و ۲ (ژلاتینازها) باعث تجزیه‌ی اجزای لامینای پایه می‌شوند که به طور ثانویه، منجر به تخریب سد خونی- مغزی می‌شود. اثر ژلاتینازها در سکته‌ی ایسکمیک مغزی و در خونریزی داخل جمجمه‌ای در مطالعات بسیاری اثبات گردیده است (۱۷).

Abilleira و همکاران اولین بار افزایش بیان ژن غلظت MMP-۹ mRNA را در خون افراد پس از خونریزی مغزی داخل جمجمه‌ای مشاهده نمودند (۱۸). نتایج این مطالعه در تطابق با مطالعات Abilleira و همکاران (۱۸)، Hernandez-Guillamon

و همکاران و سایر مطالعاتی است که نشان داده‌اند، افزایش بیان ژن MMP-۹ در ارتباط مستقیم با خونریزی شدید مغزی است (۱۹-۱۸).

ژلاتینازها در تخریب ماتریکس خارج سلولی دخیل هستند که این تخریب، نقشی کلیدی در بروز خونریزی داخل جمجمه‌ای ایفا می‌کند. این نکته می‌بایست ذکر شود که ماتریکس متالوپروتئینازها در انواع عفونت‌ها و التهابات افزایش می‌یابند. بیماران گروه مورد مطالعه در معرض تزریقات مکرر پیشگیرانه‌ی انواع فراورده‌های خونی هستند که ممکن است به علت عفونت در زمان تزریقات یا آلودگی خود فراورده‌ها، افراد را دچار عفونت با ویروس‌ها یا باکتری‌هایی نمایند که به صورت معمول در زمان انتقال خون مورد غربالگری قرار نمی‌گیرند (۲۰).

این عفونت‌ها یا التهابات دیگر به علت تزریق خون، می‌توانند به افزایش شدید سطح بیان ژن ژلاتینازها منجر شوند (۲۲-۲۱). علاوه بر این‌ها، پلی‌مورفیسم‌های فراوانی در ژن‌های MMP وجود دارند که در افزایش سطح بیان ژن‌ها دخیل هستند. این پلی‌مورفیسم‌ها زمینه‌ی مطالعات بیشتر در این مورد را فراهم می‌کنند. در نهایت، چنین نتیجه‌گیری شد که افزایش بیان ژن ماتریکس متالوپروتئیناز ۹، به علت پلی‌مورفیسم یا التهاب مرتبط با بیماری‌زایی خونریزی مغزی در بیماران مبتلا به نقص عامل انعقادی XIII می‌باشد و شاید استفاده از داروهای مهار کننده‌ی ژلاتینازها بتواند باعث کاهش تعداد مرگ و دفعات بستری شدن این بیماران شود

تشکر و قدردانی

این تحقیق، حاصل پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد با شماره‌ی طرح ۱۹۲۱۳ و عنوان «بررسی ارتباط بین خونریزی مغزی و بیان ژن ماتریکس متالوپروتئیناز ۹ و ۲ در بیماران مبتلا به نقص شدید عامل انعقادی XIII» بوده است. نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند تا از همکاری معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران به دلیل حمایت مالی این پروژه و همچنین از همکاری کارکنان بخش هموفیلی بیمارستان علی ابن ابیطالب زاهدان و مرکز انتقال خون استان سیستان و بلوچستان در اجرای این طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی نمایند.

References

1. Dorgalaleh A, Naderi M, Hosseini MS, Alizadeh S, Hosseini S, Tabibian S, Eshghi P. Factor XIII Deficiency in Iran: A Comprehensive Review of the Literature. Semin Thromb Hemost 2015. [Epub ahead of print]
2. Naderi M, Imani M, Eshghi P, Dorgalaleh A, Tabibian Sh, Alizadeh Sh, et al. Factor XIII deficiency in Sistan and Baluchistan province. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2013; 10(3): 282-8. [In Persian].
3. Muszbek L, Bereczky Z, Bagoly Z, Komaromi I, Katona E. Factor XIII: a coagulation factor with multiple plasmatic and cellular functions. Physiol Rev 2011; 91(3): 931-72.
4. Hsieh L, Nugent D. Factor XIII deficiency. Haemophilia 2008; 14(6): 1190-200.
5. Schroeder V, Kohler HP. Factor XIII deficiency: an update. Semin Thromb Hemost 2013; 39(6): 632-41.
6. Lak M, Peyvandi F, Ali SA, Karimi K, Mannucci PM. Pattern of symptoms in 93 Iranian patients with severe factor XIII deficiency. J Thromb Haemost 2003; 1(8): 1852-3.
7. Bosche B, Molcanyi M, Noll T, Kochanek M, Kraus B, Rieger B, et al. Occurrence and recurrence of spontaneous chronic subdural haematoma is associated with a factor XIII deficiency. Clin Neurol Neurosurg 2013; 115(1): 13-8.
8. Zhu XL, Chan MS, Poon WS. Spontaneous intracranial hemorrhage: which patients need

diagnostic cerebral angiography? A prospective study of 206 cases and review of the literature. Stroke 1997; 28(7): 1406-9.
9. Qureshi AI, Tuhrim S, Broderick JP, Batjer HH, Hondo H, Hanley DF. Spontaneous intracerebral hemorrhage. N Engl J Med 2001; 344(19): 1450-60.
10. Ferro JM. Update on intracerebral haemorrhage. J Neurol 2006; 253(8): 985-99.
11. Manno EM. Update on intracerebral hemorrhage. Continuum (Minneap Minn) 2012; 18(3): 598-610.
12. Perez DL, Diamond EL, Castro CM, Diaz A, Buonanno F, Nogueira RG, et al. Factor XIII deficiency related recurrent spontaneous intracerebral hemorrhage: a case and literature review. Clin Neurol Neurosurg 2011; 113(2): 142-5.
13. Todd T, Perry DJ. A review of long-term prophylaxis in the rare inherited coagulation factor deficiencies. Haemophilia 2010; 16(4): 569-83.
14. Trinh CH, Sh EW, Eshghi P, Miri-Moghaddam E, Zadeh-Vakili A, Markham AF, et al. Molecular analysis of sixteen unrelated factor XIIIA deficient families from south-east of Iran. Br J Haematol 2008; 140(5): 581-4.
15. Tamaddon GhH, Kazemi A, Rastegar Gh, Alla F, Hejazi Sh. Molecular basis of inherited factor XIII- A deficiency among patients from Sistan - Baluchestan. Zahedan J Res Med Sci 2010; 11(4): 19-24. [In Persian].
16. Naderi M, Dorgalaleh A, Alizadeh S, Kashani Khatib Z, Tabibian S, Kazemi A, et al. Polymorphism of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor and risk of intracranial haemorrhage in factor XIII deficiency. Haemophilia 2014; 20(1): e89-e92.
17. Naderi M, Eshghi P, Cohan N, Haghpanah S, Karimi M. Evaluation of the FXIII deficiency prophylaxis intervals in large number of FXIII deficiency patients from Iran. Haemophilia 2013; 19(3): e175-e176.
18. Abilleira S, Montaner J, Molina CA, Monasterio J, Castillo J, Alvarez-Sabin J. Matrix metalloproteinase-9 concentration after spontaneous intracerebral hemorrhage. J Neurosurg 2003; 99(1): 65-70.
19. Hernandez-Guillamon M, Martinez-Saez E, Delgado P, Domingues-Montanari S, Boada C, Penalba A, et al. MMP-2/MMP-9 plasma level and brain expression in cerebral amyloid angiopathy-associated hemorrhagic stroke. Brain Pathol 2012; 22(2): 133-41.
20. Naderi M, Eshghi P, Cohan N, Miri-Moghaddam E, Yaghmaee M, Karimi M. Successful delivery in patients with FXIII deficiency receiving prophylaxis: report of 17 cases in Iran. Haemophilia 2012; 18(5): 773-6.
21. Wang L, Deng S, Lu Y, Zhang Y, Yang L, Guan Y, et al. Increased inflammation and brain injury after transient focal cerebral ischemia in activating transcription factor 3 knockout mice. Neuroscience 2012; 220: 100-8.
22. Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. J Biol Chem 1999; 274(31): 21491-4.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 14.09.2014
Vol. 32, No. 311, 4th Week, January 2015
Accepted: 30.11.2014

Relationship between the Matrix Metalloproteinases and the Occurrence of Central Nervous System Bleeding in Factor XIII Deficiency

Majid Naderi MD[1], Mohammad Reza Younesi MSc[2], Akbar Dorgalaleh MSc[3], Shaban Alizadeh PhD[4], Ahmad Kazemi PhD[5], Shadi Tabibian MSc[2], Zahra Kashani-Khatib MSc[6]

Original Article

Abstract

Background: Matrix metalloproteinase (MMP) has a crucial role in degradation of basal membrane and tissue remodeling and has a possible role in occurrence of central nervous system (CNS) bleeding. Factor XIII deficiency is an extremely rare bleeding disorder with estimated incidence of 1 per 2 million. Since central nervous system bleeding is the main cause of death among these patients, this study aimed to assess to role of MMP-9 and MMP-2 in occurrence of this bleeding in factor XIII deficiency.

Methods: In this case-control study, gene expression of MMP-9 and MMP-2 was determined via quantitative real-time reverse transcription polymerase chain reaction (Q-RT-PCR) assays in 42 patients with factor XIII deficiency that were divided in two groups of with (case) and without central nervous system bleeding (control). Gene expression was compared with comparison method ($2^{-\Delta\Delta cCt}$) and glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) was used for standardization of gene expression.

Findings: Cord bleeding was the most common bleeding episode among all the patients. Overexpression of MMP-9 was observed among 13 patients in case (72.2%) and 3 patients in control group (12.5%) that showed a statistically significant difference (P = 0.001, CI95%: 2.8-95.3).

Conclusion: Patients with factor XIII deficiency have a wide spectrum of clinical presentations that has a crucial role in screening and diagnosis of the disease. According to results of this study, overexpression of MMP-9, due to polymorphism or inflammation, had a role in pathogenesis of central nervous system bleeding. Inhibition of MMP-9 may have a role in decreasing the rate of morbidity and mortality among patients with factor XIII deficiency.

Keywords: Factor XIII deficiency, Central nervous system bleeding, Matrix metalloproteinase

Citation: Naderi M, Younesi MR, Dorgalaleh A, Alizadeh Sh, Kazemi A, Tabibian Sh, et al. **Relationship between the Matrix Metalloproteinases and the Occurrence of Central Nervous System Bleeding in Factor XIII Deficiency.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(311): 2025-34

1- Assistant Professor, Department of Pediatrics Hematology and Oncology, Ali Ebn-e Abi Taleb Hospital, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran
2- Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences AND PhD Student, Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- Assistant Professor, Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5- Professor, Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6- Department of Hematology, School of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Corresponding Author: Shaban Alizadeh PhD, Email: alizadehs@sina.tums.ac.ir