مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۷۲/هفته اول فروردین ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۲۲

بررسی ارتباط پلی مورفیسم Pro۵۶۴Leu با خونریزی سیستم اعصاب مرکزی در بیماران مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳

دکتر مجید نادری[۱]، اکبر درگلاله[۲]، دکتر شعبان علیزاده[۳]، دکتر احمد کاظمی[۴]، شادی طبیبیان[۲]، دکتر حسین درگاهی[۵]، زهرا کاشانی خطیب[۶]، میثم کشیری[۲]، مریم سادات حسینی[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کمبود فاکتور ۱۳ یک اختلال خونریزی دهنده‌ی نادر است که بالاترین شیوع جهانی آن مربوط به استان سیستان و بلوچستان می‌باشد. این اختلال با تظاهرات بالینی مختلف از جمله خونریزی در سیستم اعصاب مرکزی همراه است. Pro۵۶۴Leu یکی از جهش‌های شایع در فاکتور ۱۳ می‌باشد. هدف مطالعه‌ی حاضر، ارزیابی نقش پلی مورفیسم Pro۵۶۴Leu ژن کد کننده‌ی زیرواحد A فاکتور ۱۳، در خونریزی سیستم عصبی مرکزی (خونریزی داخل یا خارج مغزی) در بیماران مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ بود.

روش‌ها: مطالعه‌ی حاضر از نوع مورد- شاهد بود که بر روی ۳۲ بیمار مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ با سابقه‌ی خونریزی داخل جمجمه‌ای (گروه مورد) و همچنین ۳۲ بیمار مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ اما بدون هیچ گونه تاریخچه‌ای از خونریزی داخل جمجمه‌ای (گروه شاهد) انجام شد. در ابتدا، هر دو گروه به منظور تأیید اختلالشان از نظر پلی مورفیسم فاکتور ۱۳، Trp۱۳Arg مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس تمامی بیماران از نظر پلی مورفیسم Pro۵۶۴Leu ژن فاکتور ۱۳ بررسی شدند و در نهایت، داده‌های به دست آمده توسط نرم‌افزار SPSS آنالیز شدند.

یافته‌ها: تمامی بیماران تحت مطالعه برای پلی مورفیسم Trp۱۳Arg هموزیگوت بودند و هیچ یک از بیماران جهش Pro۵۶۴Leu نداشتند.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که پلی مورفیسم Pro۵۶۴Leu، اثری در بروز خونریزی داخل یا خارج جمجمه‌ای در بیماران مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ ندارد.

واژگان کلیدی: کمبود فاکتور ۱۳، خونریزی CNS، خونریزی داخل جمجمه‌ای، خونریزی خارج جمجمه‌ای

ارجاع: نادری مجید، درگلاله اکبر، علیزاده شعبان، کاظمی احمد، طبیبیان شادی، درگاهی حسین، کاشانی خطیب زهرا، کشیری میثم، حسینی مریم سادات. **بررسی ارتباط پلی مورفیسم Pro۵۶۴Leu با خونریزی سیستم اعصاب مرکزی در بیماران مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۲): ۳۳-۲۵

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات ژنتیک در بیماری‌های غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران
۲- کارشناس ارشد، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳- استادیار، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴- استاد، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۵- دانشیار، گروه مدیریت خدمات بهداشتی- درمانی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر شعبان علیزاده
Email: alizadehs@sina.tums.ac.ir

مقدمه

کمبود فاکتور ۱۳ اختلالی خونریزی دهنده با توارث اتوزوم مغلوب و با شیوع ۱ در ۳ــ۱ میلیون نفر می‌باشد (۲-۱). کمبود شدید فاکتور ۱۳ به عنوان یک اختلال خونریزی دهنده‌ی نادر (RBD یا Rare bleeding disorder) اغلب در مناطق وفور ازدواج فامیلی مشاهده می‌شود. بر اساس اطلاعات موجود، استان سیستان و بلوچستان در جنوب شرق ایران بیشترین شیوع کمبود فاکتور ۱۳ در جهان را دارا می‌باشد (۱). این اختلال طیف گسترده‌ای از علایم بالینی از خونریزی خفیف تا عوارض تهدید کننده‌ی زندگی از جمله خونریزی (Central nervous system) CNS را بروز می‌دهد (۳، ۱).

خونریزی داخل جمجمه‌ای، یک تظاهر بالینی شایع اما تهدید کننده‌ی حیات در بیماران مبتلا به کمبود شدید فاکتور ۱۳ است که به عنوان علت اصلی مرگ و میر در این بیماران شناخته می‌شود (۵-۴). در میان اختلالات خونریزی دهنده‌ی نادر شامل کمبود فاکتورهای X، XIII، V، V + VIII، VII و نیز کمبود فاکتور ۱۳، خونریزی CNS در بیماران مبتلا به کمبود فاکتورهای FVII، V۱۳ و FX دارای شیوع بیشتری می‌باشد (۷-۶).

جهش در زیرواحد A فاکتور ۱۳، علت اصلی کمبود مادرزادی فاکتور ۱۳ است و اغلب در هر ۳-۱ میلیون نفر مشاهده می‌شود. این در حالی است که زیرواحد B فاکتور ۱۳ علت نادر بیماری محسوب می‌شود. اگر چه، جهش‌های مختلفی در هر یک از این زیرواحدها گزارش شده است؛ اما جهش Missense در زیرواحد A در برگیرنده‌ی ۵۰ درصد کل جهش‌های فاکتور ۱۳ می‌باشد (۸، ۳).

در حال حاضر، تعداد قابل توجهی از جهش‌های فاکتور ۱۳ شناخته شده است؛ به طوری که شایع‌ترین جهش‌های زیرواحد A فاکتور ۱۳ شامل Val۳۴Leu در اگزون ۲، Tyr۲۰۴Phe در اگزون ۵، Pro(CCC)۳۳۱(CCA)Pro در اگزون ۸، Glu(GAA)۵۶۷Glu(GAG)، Pro۵۶۴Leu در اگزون ۱۲، Glu۶۵۱Gln و Val۶۵۰Ile در اگزون ۱۴ می‌باشد. در زیرواحد B دو پلی مورفیسم شایع گزارش شده است که شامل His۹۵Arg و تغییر C۲۹۷۵۹G می‌باشد (۸-۷، ۳).

مطالعات بر روی اثرات ساختاری و عملکردی این جهش‌ها منجر به فهم بهتر دلایل و تشخیص دقیق این اختلال می‌گردد. بر این اساس، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی نقش پلی مورفیسم Pro۵۶۴Leu در خونریزی مغزی در بیماران مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ در جنوب شرق ایران انجام شد.

روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه و گروه شاهد

مطالعه‌ی حاضر بر روی ۳۲ بیمار مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ و دارای سابقه‌ی خونریزی سیستم اعصاب مرکزی به عنوان گروه مورد و نیز ۳۲ بیمار مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ و بدون هیچ گونه سابقه‌ی خونریزی مغزی به عنوان گروه شاهد انجام شد.

تمام بیماران از مرکز هموفیلی شهر زاهدان انتخاب شدند و پس از توجیه طرح از تمام بیماران یا والدین آن‌ها رضایت‌نامه‌ی کتبی کسب شد. همچنین مطالعه به تصویب کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران رسید.

بیماران با آزمایش حلالیت لخته در اوره‌ی ۵

مولار یا منوکلرواستیک اسید ۱ درصد غیر طبیعی، سابقه‌ی خونریزی داخل یا خارج جمجمه‌ای که توسط اسکن توموگرافی کامپیوتری (CT scan یا Computed tomography scan) (Toshiba Aquilion:Toshiba medical systems, Japan) تأیید شده بودند و یا پاسخ مناسب به درمان با فرآورده‌ی درمانی، وارد مطالعه شدند. در ادامه، بیماران با کمبود همزمان فاکتور ۱۳ و سایر فاکتورهای انعقادی، سابقه‌ی خونریزی مغزی به وسیله‌ی سایر عوامل، بیماری کبدی و تومورهای مغزی از مطالعه خارج شدند.

بیماران تحت مطالعه، کمبود شدید فاکتور ۱۳ داشتند که توسط آزمایش‌های اوره‌ی ۵ مولار و منوکلرو استیک ۱ درصد شناسایی شدند که این آزمایش‌ها نشان دهنده‌ی سطح پلاسمایی ۱۳ به ترتیب ۱ درصد > و ۱۰ درصد > می‌باشد. در ابتدا، یک پرسش‌نامه راجع به ویژگی‌های دموگرافی، شامل سن، جنس، وزن و سابقه‌ی خونریزی از CNS و همچنین مدت زمان، مقدار و نوع درمان برای هر بیمار، توسط یک پرسنل آموزش دیده تکمیل شد.

استخراج DNA

به منظور جداسازی DNA، ۲ میلی‌لیتر نمونه‌ی خون از بیماران تحت مطالعه در لوله‌ی حاوی ضد انعقاد EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) جمع‌آوری شد. DNA ژنومی از گلبول‌های سفید نمونه‌ها توسط کیت (Viogene, USA) استخراج و در مرحله‌ی بعد به منظور تعیین کیفیت DNA استخراج شده، نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر و نیز توسط الکتروفورز بررسی شدند.

مطالعات DNA

پلی مورفیسم فاکتور ۱۳ (Trp۱۸۷Arg)

در ابتدا تمام بیماران مورد مطالعه از نظر جهش Trp۱۸۷Arg (C.۵۵۹T > C) مورد بررسی قرار گرفتند. جهت ارزیابی این پلی مورفیسم، DNA ژنومی توسط واکنش (Polymerase chain reaction) PCR به صورت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه، ۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه و ۳۰ ثانیه در ۶۰ درجه برای اتصال پرایمر به تک رشته ی DNA، سپس ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه و در نهایت، ۵ دقیقه در ۷۲ درجه تکثیر یافت. تعداد ۳۰ سیکل برای واکنش فوق در نظر گرفته شد. DNA تکثیر یافته، در مرحله‌ی بعد به کمک تکنیک RFLP (Restriction fragment length polymorphism) و توسط آنزیم Eco۱۳۰I (Fermentas life sciences, York, UK) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده، مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. در افراد فاقد موتاسیون، پس از اثر آنزیم، محصول PCR اولیه به سه بخش ۳۹۲، ۶۸ و ۵۳ جفت بازی، در افراد هتروزیگوت به قطعات ۴۶۰، ۳۹۲، ۶۸ و ۵۳ جفت بازی و در افراد هموزیگوت برای موتاسیون قطعات ۴۶۰ و ۵۳ جفت بازی ایجاد می‌شود (جدول ۱).

پلی مورفیسم Pro۵۶۴Leu

پس از تأیید کمبود فاکتور ۱۳ به وسیله‌ی بررسی ملکولی، تمامی بیماران از نظر وجود موتاسیون Pro۵۶۴Leu مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا DNA ژنومی توسط واکنش PCR به صورت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه، ۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه، ۳۰ ثانیه در ۵۸ درجه برای اتصال پرایمر به تک رشته‌ی DNA، سپس ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه و در نهایت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه تکثیر یافت. تعداد دفعات واکنش فوق ۳۰

جدول ۱. شرایط **Polymerase chain reaction** (**PCR**) و پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

مرجع	آنزیم محدود کننده	محصول PCR (جفت باز)	پلی مورفیسم	پرایمر
۹	Eco۱۳۰I	bp ۵۱۳	F۱۳ Trp۱۸۷Arg	۵-Forward: ۳TTGCAGACTTGCCTGATTTG- ۵-Reverse: ۳CAAGCGATCCTCCCATCTTG-
۹	Bst UI	bp ۱۱۶	Pro۵۶۴Leu	۵-Forward: ۳TCACCTTCTACACCGGGGTCG- ۵-Reverse: ۳GACAGCGAGTCTCACAAAGAA-

سیکل در نظر گرفته شد. DNA تکثیر داده شد و در ادامه، محصول PCR که یک قطعه‌ی ۱۱۶ جفت بازی بود، تحت تأثیر آنزیمی با اثر محدود (Bst UI) قرار گرفت تا از نظر وجود موتاسیون فوق، مورد ارزیابی قرار گیرد (جدول ۱).

پس از اثر این آنزیم در افراد فاقد موتاسیون، دو قطعه‌ی ۹۵ و ۲۱ جفت بازی ایجاد شد. در افراد دارای موتاسیون به صورت هتروزیگوت، علاوه بر دو قطعه‌ی فوق، قطعه‌ی اولیه‌ی ۱۱۶ جفت بازی نیز مشاهده می‌شود و در افراد هموزیگوت، برای موتاسیون تنها قطعه‌ی ۱۱۶ جفت بازی اولیه بدون هر گونه برشی مشاهده شد.

آنالیز آماری

نتایج برای متغیرهای کمی به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± SD) گزارش شد. نتایج کمتر از ۰/۰۵۰ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. از آزمون آماری t مستقل نیز برای مقایسه‌ی گروه‌های مورد و شاهد استفاده شد. ارتباط بین پلی مورفیسم ژن Pro۵۶۴Leu و خونریزی مغزی با استفاده از رگرسیون لجستیک محاسبه شد و به صورت نسبت شانس (OR یا Odds ratio) با سطح اطمینان ۹۵ درصد بیان شد.

یافته‌ها

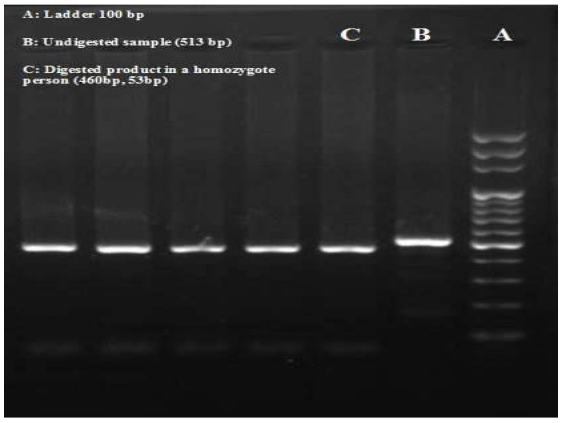
ویژگی‌های افراد مورد مطالعه

تمامی بیماران مورد مطالعه دارای آزمایش حلالیت لخته‌ی غیر طبیعی در محیط اوره‌ی ۵ مولار و یا اسید منوکلرواستیک ۱ درصد بودند. هر چند که این آزمایش‌ها در کنار تظاهرات بالینی و پاسخ به درمان با پلاسمای تازه منجمد (FFP یا Fresh frozen plasma) و کنسانتره‌ی فاکتور ۱۳ برای تشخیص بیماران کافی به نظر می‌رسیدند؛ اما تمامی بیماران از نظر وجود پلی مورفیسم Trp۱۸۷Arg که از قبل برای بیماران این استان گزارش شده بود، مورد ارزیابی قرار گرفتند.

بررسی مولکولی بیماران نشان داد که تمام بیماران تحت مطالعه برای موتاسیون TGG:CGG در کدون ۱۸۷ در اگزون ۴ از ژن زیرواحد A فاکتور ۱۳، هموزیگوت بودند. این موتاسیون منجر به جایگزینی تریپتوفان با آرژنین در جایگاه ۱۸۷ می‌شود. این جایگزینی منجر به ایجاد پیوند استری بین اتم‌های آرژنین و محیط اطراف و در نتیجه، تولید پروتئینی ناپایدار می‌گردد.

شکل ۱ نتایج حاصل از هضم آنزیمی برای پلی مورفیسم Trp۱۸۷Arg را نشان می‌دهد.

بررسی بالینی بیماران نشان داد که خونریزی از بند ناف شایع‌ترین تظاهر بالینی (۸۵ درصد) در تمام افراد مورد مطالعه بود. هماتوم و اکیموز از دیگر تظاهرات بالینی شایع در میان بیماران مورد بررسی بود که به ترتیب در ۷۹ و ۷۵ درصد بیماران مشاهده گردید. خونریزی پس از ختنه، تأخیر در التیام زخم، خونریزی پس از کشیدن دندان و خونریزی از بینی به ترتیب در ۲۲، ۱۵، ۱۳ و ۱۲ درصد بیماران دیده شد.



شکل ۱. نتایج حاصل از هضم آنزیمی برای پلی مورفیسم Trp۱۸۷Arg

A: نشانگر ۱۰۰ جفت بازی :

B: محصول ۵۱۳ جفت بازی که تحت تأثیر آنزیم قرار نگرفته است

C: نمونه‌ی هموزیگوت که پس از اثر آنزیم به دو قطعه‌ی ۴۶۰ و ۵۳ جفت بازی شکسته است.

خونریزی مغزی

از بین ۳۲ بیمار با خونریزی مغزی، ۷ بیمار (۲/۸ درصد) دچار خونریزی مغزی مکرر پیش از آغاز درمان پیشگیرانه شده بودند. در حالی که سایر بیماران مبتلا به خونریزی مغزی، تنها یک بار دچار خونریزی مغزی شده بودند. به طور تقریبی تمام بیماران (۹۶/۹ درصد) داری پاسخ مناسب به درمان پیشگیرانه بودند و هیچ یک از این بیماران به جز یک نفر دچار خونریزی مغزی نشده بودند.

بررسی آماری مشخص کرد که ارتباط معنی‌داری بین سن تشخیص کمبود فاکتور ۱۳ و وقوع خونریزی مغزی وجود دارد ($P < ۰/۰۰۲$، $r = ۰/۴۹۵$). همچنین ارتباط معنی‌داری بین عود خونریزی مغزی و جنسیت بیماران وجود دارد.

خونریزی داخل پارانشیم مغزی، شایع‌ترین محل خونریزی مغزی بود و در ۲۶ بیمار مشاهده شد (۹۲/۸ درصد). همچنین خونریزی Subdural و Epidural در ۲ بیمار دیده شد (۷/۱ درصد). مناطق آناتومیک خونریزی داخل پارانشیم در بیماران در ناحیه‌ی تمپورال در ۹ بیمار (۳۲/۲ درصد)، در ناحیه‌ی پس سری در ۸ بیمار (۲۸/۶ درصد)، خونریزی منتشر داخل پارانشیم در ۷ بیمار (۲۵ درصد)، Tempro-occipital در ۲ بیمار (۷/۱ درصد) وجود داشت.

پلی‌مورفیسم Pro۵۶۴Leu ژن فاکتور ۱۳

پلی‌مورفیسم ژن Pro۵۶۴Leu یک پلی مورفیسم شایع در بیماران با کمبود فاکتور ۱۳ می‌باشد که به جایگزینی اسید آمینه‌ی پرولین با لوسین در جایگاه ۵۶۴ منجر می‌شود (۹). این پلی مورفیسم با خونریزی‌های مغزی، سقط مکرر و سکته‌ی قلبی ارتباط دارد (۱۰). بررسی‌های مولکولی در این مطالعه نشان داد که هیچ یک از بیماران مورد بررسی در گروه‌های مورد و شاهد برای این پلی مورفیسم، هموزیگوت و حتی هتروزیگوت هم نبودند.

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت این پلی مورفیسم در منطقه‌ی سیستان و بلوچستان شایع نیست و با توجه به ارتباط خونریزی مغزی در گروه مورد و شاهد، می‌توان نتیجه گرفت که ارتباطی بین

موتاسیون Pro۵۶۴Leu و خونریزی مغزی وجود ندارد.

بحث

کمبود فاکتور ۱۳ یکی از اختلالات خونریزی دهنده‌ی نادر (RBD یا Rare bleeding disorder) با شیوعی در حدود ۱ نفر به ازای هر ۳-۱ میلیون در جمعیت عمومی می‌باشد. شیوع این اختلال در استان سیستان و بلوچستان بالا است؛ به طوری که بیش از ۳۵۰ بیمار با کمبود شدید فاکتور ۱۳ در مرکز هموفیلی در این استان شناسایی شده‌اند و تحت درمان پیشگیرانه می‌باشند.

در حقیقت، این استان با شیوع ۹۰ نفری به ازای هر یک میلیون نفر از این اختلال، دارای بیشترین شیوع بیماری در سراسر جهان می‌باشد. کمبود شدید فاکتور ۱۳ با طیف گسترده‌ای از تظاهرات بالینی شامل خونریزی پس از ختنه، تأخیر در التیام زخم، خونریزی پس از کشیدن دندان، خونریزی از بینی و خونریزی مغزی همراه می‌باشد (۱۱).

بین پلی مورفیسم‌های Pro۵۶۴Leu و Tyr۲۰۴Phe ژن فاکتور ۱۳ و کاهش مقدار فاکتور ۱۳ در پلاسما ارتباط وجود دارد؛ در نتیجه، بررسی ژنوتایپ فاکتور ۱۳ بر اندازه‌گیری سطح فعالیت فاکتور ۱۳ ارجحیت دارد (۹).

به طور کلی، مزیت مطالعات بر روی واریانت‌های ژنتیکی (از جمله فاکتور ۱۳) در این است که در بدو تولد ثابت هستند؛ اما بررسی سطح فعالیت پلاسمایی فاکتور ۱۳ تحت تأثیر بیماری‌های گوناگون و رخدادهای عروق مغزی تغییر خواهد کرد و سطح فعالیت این فاکتور دچار نوساناتی خواهد شد (۱۱).

خونریزی مغزی مهم‌ترین تظاهر بالینی تهدید کننده‌ی زندگی بیماران مبتلا به کمبود شدید فاکتور ۱۳ می‌باشد. در مرکز مورد مطالعه، حدد ۵۰ بیمار مبتلا به کمبود شدید فاکتور ۱۳، دچار خونریزی مغزی شده‌اند. در استان سیستان و بلوچستان در خانواده‌های مبتلا به کمبود شدید فاکتور ۱۳ و سابقه‌ی مرگ و میر ناشی از خونریزی مغزی، نگرانی بزرگ از تکرار این عارضه‌ی خطرناک وجود دارد. در چنین خانواده‌هایی به علت عدم مراجعه به پزشک و تشخیص به موقع بیماری، برخی از فرزندان آن‌ها به علت خونریزی مغزی ناشی از ضایعات ترومایی یا غیر ترومایی فوت کرده‌اند.

اگر چه این یک ادعا است، اما به نظر می‌رسد که این مرگ و میرهای ناشی از خونریزی مغزی به دلیل کمبود فاکتور ۱۳ در این بیماران بوده است. حضور یک یا چندین کودک مبتلا به خونریزی مغزی ناشی از کمبود فاکتور ۱۳ در این خانواده‌ها دلیلی بر این ادعا است. به دلیل این نگرانی، یک مطالعه‌ی گسترده در بیماران مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ در این استان آغاز گردید.

در ابتدا نگرانی عمده‌ی پژوهشگران در مورد بیماران مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ تشخیص بیماری بود. در تنها مرکز هموفیلی استان در شهرستان زاهدان، تشخیص بیماری بر اساس سابقه‌ی خانوادگی، الگوی تظاهرات بالینی و آزمایش حلالیت لخته‌ی خون در اوره‌ی ۵ مولار یا محیط منوکلرواستیک اسید ۱ درصد صورت می‌گیرد. به علت این نگرانی‌ها، یک مطالعه‌ی مولکولی روی تمام بیماران مورد مطالعه برای تشخیص بیماری انجام شد.

در این پژوهش از نتایجی دو مطالعه‌ی جداگانه

در مورد پلی مورفیسم Arg۱۸۷Trp که توسط Trinh و همکاران (۱۲) و نیز تمدن و همکاران (۹) انجام شده بود، استفاده گردید.

مطالعه‌ی حاضر روی این ۶۴ بیمار، نشان داد که تمامی بیماران برای پلی مورفیسم Arg۱۸۷Trp هموزیگوت بودند. این پلی مورفیسم منجر به ناپایداری زیرواحد A فاکتور ۱۳ و کاهش قابل ملاحظه در سطح پلاسمای فاکتور ۱۳ می‌شود. تعیین این پلی مورفیسم در این گروه بزرگ از بیماران مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ یک یافته‌ی حیاتی در تشخیص و مدیریت بیماری در این استان می‌باشد. این پلی‌مورفیسم می‌تواند به سادگی و با قابلیت اطمینان بالا به عنوان یک آزمون تشخیصی برای بیماران مورد استفاده قرار گیرد و به کارگیری این پلی مورفیسم منجر به تشخیص دقیق بیماری و جلوگیری از تشخیص نادرست این اختلال خواهد شد. این اولین مرحله از مدیریت این اختلال در این استان می‌باشد. از آن جایی که این ۶۴ بیمار، تعداد قابل توجهی از بیماران مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ را تشکیل می‌دهند، اطلاعات بالینی این بیماران نیز دارای اهمیت ویژه می‌باشد. مطالعه‌ی حاضر نشان داد که در میان این بیماران، خونریزی بند ناف شایع‌ترین تظاهر بالینی بیماران است و ۸۳ درصد از بیماران، این تظاهر بالینی را بروز داده‌اند. در مطالعه‌ی عشقی و همکاران بر روی ۶۴ بیمار مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳، خونریزی از بند ناف شایع‌ترین تظاهر بالینی (۸۳ درصد) معرفی شد و در مطالعه‌ی آن‌ها کبودی آسان (۵۰ درصد) و هماتوم (۴۶ درصد) سایر تظاهرات بالینی شایع معرفی شدند (۱۳).

در مطالعه‌ی حاضر نیز هماتوم به عنوان یک تظاهر بالینی شایع شناخته و در ۷۹ درصد از بیماران مشاهده شد. یکی دیگر از اهداف این مطالعه، ارزیابی تأثیر پلی مورفیسم Pro۵۶۴Leu ژن فاکتور ۱۳ در میزان بروز خونریزی مغزی در میان بیماران بود.

پلی مورفیسم Pro۵۶۴Leu در ناحیه‌ی اگزون ۱۲ ژن کد کننده‌ی زیرواحد A فاکتور ۱۳ با اختلالات متعددی از جمله، سقط جنین، بیماری عروقی کرونر، سکته‌ی قلبی (MI یا Myocardial infarction) و عوارض ترومبوتیک و هموراژیک همراه است (۹). در مطالعه‌ی Reiner و همکاران، ارتباط معنی‌داری بین خونریزی‌های مغزی زنان سفیدپوست و پلی مورفیسم Pro۵۶۴Leu فاکتور ۱۳ مشاهده شد. همچنین افرادی که از نظر پلی مورفیسم Pro۵۶۴Leu هموزیگوت بودند، حدود ۵ برابر و افراد هتروزیگوت حدود ۲ برابر افزایش خطر ابتلا به خونریزی مغزی داشتند (۸). در مطالعه‌ی نادری و همکاران، ارتباط قوی بین پلی مورفیسم Thr۳۲۵Ile ژن Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) و احتمال خونریزی مغزی در بیماران مبتلا به کمبود فاکتور ۱۳ شناسایی شد که احتمال خونریزی مغزی را در این بیماران ۲۰ برابر افزایش می‌دهد (۱۴).

هدف مطالعه‌ی حاضر، بررسی نقش این پلی مورفیسم در وقوع خونریزی مغزی در بیماران مبتلا به کمبود شدید فاکتور ۱۳ بود. مطالعه‌ی حاضر همچنین به بررسی جهت یافتن یک عامل ژنتیکی ثانویه برای پیش‌بینی خطر خونریزی دستگاه عصبی مرکزی در بیماران پرداخت. با استفاده از این فاکتور، پیش‌آگهی تمام بیماران مشکوک به خونریزی مغزی را می‌توان تحت مراقبت‌های شدید پزشکی قرار داد و

از نرخ مرگ و میر و عوارض و هزینه‌های اجتماعی و مالی ناشی از این بیماری در استان کاست.

مطالعه‌ی حاضر هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین پلی مورفیسم Pro۵۶۴Leu زیرواحد A ژن فاکتور ۱۳ و خطر خونریزی مغزی در بیماران مبتلا به کمبود شدید فاکتور ۱۳ نیافت. با این وجود، با توجه به نقش فاکتورهای ژنتیکی در بروز اختلالات ترومبوتیک مغزی، بررسی جهت فاکتورهای ژنتیکی دیگر ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر حاصل طرح مصوب شماره‌ی ۹۱-۴-۳۱-۱۹۲۱۳ بوده، نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تهران به دلیل حمایت مالی از این پروژه قدردانی نمایند.

References

1. Karimi M, Bereczky Z, Cohan N, Muszbek L. Factor XIII deficiency. Semin Thromb Hemost 2009 Jun;35(4): 426–38.
2. Hsieh L, Nugent D. Factor XIII deficiency. Haemophilia 2008; 14(6): 1190-200.
3. Naderi M, Dorgalaleh A, Tabibian S, Alizadeh S, Eshghi P, Solaimani G. Current understanding in diagnosis and management of factor XIII deficiency. Iran J Ped Hematol Oncol 2013; 3(4): 164-72.
4. Siboni SM, Zanon E, Sottilotta G, Consonni D, Castaman G, Mikovic D, et al. Central nervous system bleeding in patients with rare bleeding disorders. Haemophilia 2012; 18(1): 34-8.
5. Naderi M, Eshghi P, Saneei ME, Alizadeh S, Dorgalaleh A, Younesi MR, et al. Safety of human blood products in rare bleeding disorders in southeast of Iran. Haemophilia 2013; 19(2): e90-e92.
6. Agren A, Wiman B, Stiller V, Lindmarker P, Sten-Linder M, Carlsson A, et al. Evaluation of low PAI-1 activity as a risk factor for hemorrhagic diathesis. J Thromb Haemost 2006; 4(1): 201-8.
7. Biswas A, Ivaskevicius V, Seitz R, Thomas A, Oldenburg J. An update of the mutation profile of Factor 13 A and B genes. Blood Rev 2011; 25(5): 193-204.
8. Reiner AP, Schwartz SM, Frank MB, Longstreth WT, Jr., Hindorff LA, Teramura G, et al. Polymorphisms of coagulation factor XIII subunit A and risk of nonfatal hemorrhagic stroke in young white women. Stroke 2001; 32(11): 2580-6.
9. Tamadon GH, Kazemi A, Rastegar G, Alla F, Hejazi S. Molecular basis of inherited factor XIII-A deficiency among patients from sistan-baluchestan. Zahedan J Res Med Sci 2010; 11(4): 11-5.
10. Naderi M, Dorgalaleh A, Alizadeh Sh, Kazemi A, Tabibian S, Younesi MR. Assessment of relationship between CNS bleeding in factor XIII deficiency and Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor polymorphism. J Arak Univ Med Sci 2013; 16(7). [In Persian].
11. Naderi M, Eshghi P, Dorgalaleh A, Tabibian S, editors. Clinical manifestations of rare bleeding disorders in South East of Iran. Haemophilia 2013; 19(2): PO 382.
12. 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.
13. Eshghi P, Abolghasemi H, Sanei-Moghaddam E, Anwar R, Jazebi M, Amid A, Et al. Factor XIII deficiency in south-east Iran. Haemophilia. 2004;10(5):470-2.
14. Naderi M, Imani M, Eshghi P, Dorgalaleh A, Tabibian S, Alizadeh S, et al . Factor XIII deficiency in Sistan and Baluchistan province. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2013; 10 (3): 282-8.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 25.11.2013
Vol. 32, No. 272, 1st Week, April 2014
Accepted: 11.02.2014

Role of Pro564Leu of FXIII-A Gene Polymorphism and Risk of Central Nervous Bleeding in Patients with Congenital Factor XIII Deficiency, Southeast of Iran

Majid Naderi MD[1], Akbar Dorgalaleh MSC[2], Shaban Alizadeh PhD[3], Ahmad Kazemi PhD[4], Shadi Tabibian MSC[2], Hossein Dargahi PhD[5], Zahra Kashani-Khatib MSc[6], Meysam Kahiri MSC[2], Maryamsadat Hoseini MSc[2]

Original Article

Abstract

Background: The deficiency of factor XIII is a rare hemorrhagic disorder with the highest global incidence in Sistan and Baluchistan province in Iran. Bleeding of central nervous system (CNS) is a common but life-threatening clinical presentation of severe factor XIII deficiency. The aim of this study was to assess the role of Pro564Leu polymorphism in occurrence of intra- and extra-cranial hemorrhage in factor 13 deficiency.

Methods: 32 patients with factor XIII deficient and history of CNS bleeding and 32 patients with factor XIII deficiency but without CNS bleeding were selected as case and control groups. Initially, the baseline for the Trp187Arg polymorphism was evaluated in both groups to confirm the disorder. Then, all the patients were assessed for Pro564Leu polymorphism.

Findings: All the study patients were homozygote for factor XIII polymorphism. We also found that no patient in both groups was positive for Pro564Leu polymorphism.

Conclusion: It seems that Pro564Leu polymorphism do not have any effect on occurrence of CNS bleeding in factor XIII deficiency.

Keywords: Factor XIII deficiency, Central nervous system (CNS), bleeding, Pro564Leu polymorphism

Citation: Naderi M, Dorgalaleh A, Alizadeh Sh, Kazemi A, Tabibian Sh, Dargahi H, et al. **Role of Pro564Leu of FXIII-A Gene Polymorphism and Risk of Central Nervous Bleeding in Patients with Congenital Factor XIII Deficiency, Southeast of Iran.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(272): 25-33

1- Associate Professor, Genetics of Non-Communicable Disease Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran
2- Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- Professor, Department of Hematology, School of Allied Medical Sciences, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5- Associate Professor, Department of Health Care Management, 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