

بررسی ارتباط عوامل ترومبوفیلیک با شدت خونریزی در بیماران مبتلا به هموفیلی A شدید

محمد فرانش^۱ (M.D)، نوید دانایی^{۱*} (M.D)، راهب قربانی^۲ (Ph.D)، محبوبه رحمانی^۳ (M.D)، محمد جاذبی^۳ (M.Sc)، طاهره شعشعانی^۳ (M.Sc)، مجتبی ملک^۴ (M.D)

۱- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، بیمارستان امیرالمؤمنین (ع)، گروه کودکان

۲- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، گروه پزشکی اجتماعی

۳- درمانگاه جامع بیماران هموفیلی، تهران

۴- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، بیمارستان فاطمیه، گروه داخلی

چکیده

سابقه و هدف: هموفیلی‌ها شایع‌ترین و جدی‌ترین نقایص فاکتورهای انعقادی هستند. در اکثر این بیماران شدت علائم با شدت نقص در فاکتور انعقادی متناسب است ولی در بعضی از بیماران مبتلا به هموفیلی شدید (که سطح فاکتور زیر ۱٪ است)، علائم بالینی کم‌تر و خفیف‌تر از سایر مبتلایان است و حتی در مواردی پدیده‌های ترومبومبولیک در بیماران مبتلا به هموفیلی شدید رخ داده است. در مورد علل این تفاوت در مطالعات مختلف اختلاف نظر وجود دارد. با توجه به اهمیت شناخت عوامل تعیین‌کننده در شدت خونریزی بیماران هموفیلی در تعیین پیش‌آگهی عوارض مفصلی در این بیماران و شناسایی عوامل کاهشدهنده خونریزی در جهت تعیین میزان فاکتور مورد نیاز و هزینه‌کرد بسیار مؤثر می‌باشد. هدف این مطالعه بررسی نقش این عوامل و نیز نقش جهش ژنتیکی برخی فاکتورها در شدت خونریزی و علائم بیماران مبتلا به هموفیلی شدید است.

مواد و روش‌ها: ۶۰ بیمار مبتلا به هموفیلی A شدید ($FVIII < 1\%$)، که در درمانگاه جامع کودکان هموفیل پرونده داشتند، بر اساس معیارهای میزان فاکتور دریافت شده در سال، امتیاز خونریزی، امتیاز ارئوپدی و امتیاز رادیولوژی در سه گروه با تظاهرات بالینی خفیف، متوسط و شدید (هر گروه ۲۰ بیمار) گروه‌بندی شدند و آزمایش‌های جهش در ژن فاکتور V لیدن، MTHFR، PG20210A، میزان پروتئین C و S، سطح فاکتورهای انعقادی (۲، ۵، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و فیبرینوژن)، آنتی‌ترومبین III، تعداد پلاکت، سطح فسفولیپید آنتی‌بادی و هموسیستئین انجام شد. داده‌ها با استفاده از تست χ^2 ، فیشر، ANOVA تست تعقیبی Tukey و با استفاده از نرم‌افزار SPSS-14 تجزیه و تحلیل شد. یافته‌ها: از بین عوامل بررسی شده، تفاوت سه گروه از نظر میزان فعالیت روزانه ($P < 0/002$)، آنتی‌ترومبین III ($P < 0/013$)، تعداد پلاکت ($P < 0/007$)، پروتئین C ($P < 0/013$) و سطح فاکتور XII ($P < 0/01$) معنی‌دار بود و سه گروه از نظر سایر عوامل تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P > 0/05$).

نتیجه‌گیری: در مطالعه اخیر تفاوت گروه‌های مورد بررسی، تنها در میزان فعالیت روزانه، آنتی‌ترومبین III، تعداد پلاکت، پروتئین C و سطح فاکتور XII معنی‌دار بود. به نظر می‌رسد با توجه به نقش میزان فعالیت و نیز سطح پلاکت خون که در مطالعات دیگر کم‌تر به آن پرداخته شده است و تناقض‌های مشاهده شده در این مطالعات، باید برای یافتن علت تفاوت در تظاهرات بالینی بیماران مبتلا به هموفیلی شدید، به دنبال عوامل دیگری نیز باشیم که شاید حلقه مفقوده این معما است.

واژه‌های کلیدی: هموفیلی A شدید، تظاهرات بالینی، عوامل ترومبوفیلیک، پلاکت، امتیاز خونریزی، امتیاز ارئوپدی و امتیاز رادیولوژی

مقدمه

هموفیلی‌ها شایع‌ترین و جدی‌ترین نقایص فاکتورهای انعقادی هستند که شامل نقص سه فاکتور انعقادی VIII، IX و XI می‌باشد که به ترتیب هموفیلی A، B و C نام‌گذاری شده است. کمبود فاکتورهای VIII و IX شدیدترین بیماری‌های خونریزی‌دهنده ارثی به حساب می‌آیند [۱]. توارث هر دو نوع، وابسته به X مغلوب می‌باشد. میزان بروز این بیماری در نوزادان پسر تازه متولد شده یک مورد در هر ۵۰۰۰ نفر است. ۸۵٪ موارد بیماری نقص فاکتور VIII و ۱۵-۱۰٪ نقص در فاکتور IX می‌باشد. در آمریکا ۲۰۰۰۰ فرد مبتلا به هموفیلی وجود دارند و سالانه نزدیک به ۴۰۰ نوزاد با این بیماری متولد می‌شوند [۲،۱].

فاکتورهای VIII و IX به همراه فسفولیپید و کلسیم در کمپلکسی که به منظور فعال کردن فاکتور X ایجاد می‌شود، شرکت می‌کنند (شکل ۱). در هموفیلی A و B، تشکیل لخته با تأخیر صورت می‌گیرد و لخته تشکیل شده نیز لخته نیرومند و محکمی نیست، لذا در بیماران هموفیلی خونریزی به‌ویژه خونریزی‌های عمقی و مفصلی به صورت تأخیری رخ می‌دهد. این خونریزی‌ها می‌تواند در شرایطی به داخل

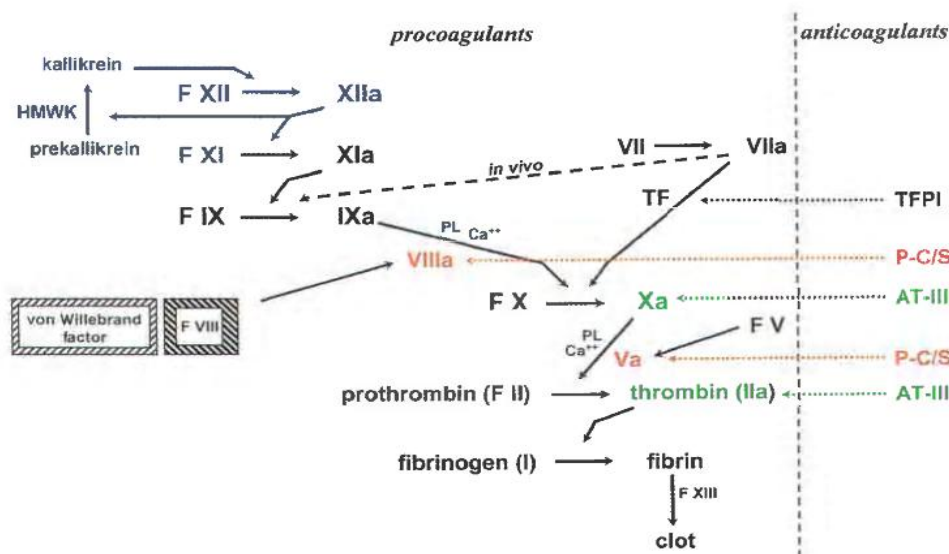
ساختارهای حیاتی بدن مثل CNS یا راه‌های هوایی فوقانی رخ دهد و یا منجر به از دست رفتن مقادیر زیادی خون به خارج از بدن، سیستم گوارش و یا عضله پس‌آس شود که در این حالات می‌تواند تهدید کننده بیمار باشد [۲،۱].

علائم بیماری ممکن است قبل از تولد یا در طی دوران جنینی رخ دهد، اما گاه تشخیص تا پس از یک‌سالگی به تأخیر می‌افتد. حتی در بیماران مبتلا به هموفیلی شدید نیز تنها ۹۰٪ بیماران تا یک‌سالگی علائم خونریزی شدید را نشان می‌دهند. علامت اصلی هموفیلی هماتروز است هرچند خونریزی در این بیماران در هر قسمتی از بدن ممکن است رخ دهد. مشخصه هموفیلی خونریزی به داخل مفصل و عضله و ضایعات مخاطی خونریزی دهنده و تأخیر در توقف خونریزی پس از تروماست. بیماران هموفیلی بر اساس سطح فاکتور انعقادی در خون، به سه گروه به شرح ذیل تقسیم می‌شوند:

شدید: سطح فاکتور زیر ۱٪؛

متوسط: سطح فاکتور بین ۱ تا ۴٪ و

خفیف: سطح فاکتور بین ۵ تا ۲۵٪ [۱،۳]



شکل ۱. مسیر آبشار انعقادی و عوامل ضدانعقاد مؤثر در این مسیر

مواد و روش‌ها

مطالعه از نوع مشاهده‌ای، تحلیلی و مقطعی می‌باشد. ۶۰ بیمار مبتلا به هموفیلی A شدید ($FVIII < 1\%$)، که در درمانگاه جامع بیماران هموفیل دارای پرونده بودند در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. این بیماران که بیماری همزمان دیگری نداشتند، بدون سابقه وجود مهارکننده، بر اساس اطلاعات موجود در پرونده آن‌ها از جمله اطلاعات گرفته شده از داروخانه مرکز که میزان فاکتور VIII دریافتی هر بیمار و دفعات مراجعه را ثبت می‌نماید، با توجه به این‌که سایر معیارهای طبقه بندی بیماران در پرونده موجود نبود، بیماران در ابتدا فقط بر اساس فاکتور دریافتی در سال به سه گروه خفیف، متوسط و شدید طبقه بندی شدند و از بین این بیماران در هر گروه به صورت تصادفی ۲۰ بیمار انتخاب و جهت مراجعه با آنها تماس گرفته شد. بیماران پس از تماس تلفنی در تاریخ مشخص به مرکز مراجعه می‌کردند و پس از توجیه درباره اهداف و اهمیت طرح، چک لیست طراحی شده برای ایشان تکمیل می‌شد که شامل اطلاعات دموگرافیک و معیارهای طبقه بندی و میزان فعالیت بیمار با استفاده از مصاحبه از بیماران بود.

پس از درخواست آزمایش‌های مورد نیاز طرح، شامل بررسی جهش در ژن فاکتور V لیدن، MTHFR، G20210A، میزان پروتئین C و S، سطح فاکتورهای انعقادی (۲، ۵، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و فیبرینوژن)، آنتی ترومبین III، هموسیستین، لوپوس آنتی کوآگولانت، آنتی فسفولیپید آنتی بادی و تعداد پلاکت بیماران جهت انجام آزمایش ارجاع می‌شدند. آزمایش‌ها توسط آزمایشگاه درمانگاه جامع کودکان هموفیل که آزمایشگاه رفرنس کشور در زمینه انعقاد می‌باشد انجام شد.

پس از انجام آزمایش‌ها، بیمار جهت انجام معاینات بالینی لازم و تعیین معیار ارتوپدی به کلینیک فیزیوتراپی مرکز ارجاع می‌گردید تا براساس معیارهای تعیین شده، امتیاز ارتوپدی مشخص و ثبت گردد.

در اکثر بیماران شدت علائم با شدت نقص در فاکتور متناسب است [۱]، ولی با وجود تقسیم بندی فوق، در برخی بیماران سطح فاکتور با میزان و شدت خونریزی تناسب ندارد و در بعضی از بیماران مبتلا به هموفیلی شدید (سطح فاکتور زیر ۱٪)، علائم بالینی کم تر و خفیف تر از سایر مبتلایان است (۴/۲۱٪ بیماران در یک مطالعه) [۵،۴]. حتی در مواردی پدیده‌های ترومبومبولیک در بیماران مبتلا به هموفیلی شدید رخ داده است [۵،۶]. در مورد علل این تفاوت در مطالعات مختلف اختلاف نظر وجود دارد. برخی این موضوع را به مشکلات اندازه گیری فاکتور و اشکالات تکنیکی ربط می‌دهند [۵] برخی دیگر تفاوت در نوع جهش و سکانس ژن معیوب را در این تفاوت و تناقض دخیل دانسته‌اند، برخی نیز به نقش عوامل ترومبوفیلیک مثل جهش در ژن فاکتور V لیدن، MTHFR، G20210A، سطح فاکتورهای انعقادی (۲، ۵، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و فیبرینوژن) و عوامل آنتی ترومبوتیک مثل میزان پروتئین C و S و آنتی ترومبین III (شکل ۱) اشاره کرده‌اند [۴-۹]، هرچند در این باره اتفاق نظر وجود ندارد و برخی مطالعات نقش این عوامل را زیر سؤال برده‌اند و معتقدند علت اصلی تفاوت فنوتیپ بیماران عامل دیگری است [۱۰،۱۱].

با توجه به اهمیت شناخت عوامل تعیین کننده در شدت خونریزی بیماران هموفیلی در تعیین پیش آگهی عوارض مفصلی در این بیماران و شناسایی عوامل کاهش دهنده خونریزی در جهت تعیین میزان فاکتور مورد نیاز و هزینه کرد بسیار موثر می‌باشد. در این مطالعه به نقش این عوامل و نیز نقش برخی عوامل محیطی مثل میزان فعالیت بیمار و جهش ژنتیکی برخی فاکتورها در میزان و شدت خونریزی و علائم بیماران مبتلا به هموفیلی شدید بپردازیم ضمن این‌که ارتباط عوامل احتمالی مرتبط دیگر مثل سطح هموسیستین، آنتی فسفولیپید آنتی بادی و تعداد پلاکت را در این فرآیند ارزیابی نماییم و به این ترتیب در صورت امکان به دنبال راه‌حلی تازه برای مشکلات بیماران هموفیلی برآییم.

درصد انجام شد. نتایج به صورت $Mean \pm SEM$ بیان شده است.

نتایج

حداقل سن بیماران ۲ و حداکثر ۴۹ سال و متوسط سن بیماران $1/61 \pm 21/65$ سال بوده است. بین گروه‌های مورد مطالعه از نظر سن تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

معیارهای طبقه‌بندی. میانگین میزان فاکتور VIII دریافتی به ازای هر کیلوگرم وزن بیماران در یک سال در ۳ گروه تفاوت معنی‌دار داشت. به طوری که میانگین میزان فاکتور VIII دریافتی به ازای هر کیلوگرم وزن بیماران در گروه با علامت شدید $266/25 \pm 4123/6$ واحد بوده، در حالی که میانگین میزان فاکتور VIII دریافتی به ازای هر کیلوگرم وزن بیماران در گروه با علامت متوسط $136/96 \pm 1665/30$ واحد و در بیماران با علامت خفیف $54/91 \pm 237/10$ بوده است ($P < 0.0001$ ، جدول ۱).

میانگین امتیاز خونریزی در ۳ گروه نیز تفاوت معنی‌دار داشت. به طوری که میانگین امتیاز خونریزی در گروه با علامت شدید $1/23 \pm 6/7$ بوده، در حالی که میانگین امتیاز خونریزی در گروه با علامت متوسط $1/71 \pm 5/00$ و در بیماران با علامت خفیف $2/52 \pm 3/60$ بوده است ($P < 0.0001$ ، جدول ۲).

میانگین امتیاز رادیولوژی در ۳ گروه نیز تفاوت معنی‌دار داشت. به طوری که میانگین امتیاز رادیولوژی در گروه با علامت شدید $1/45 \pm 4/3$ بوده، در حالی که میانگین امتیاز رادیولوژی در گروه با علامت متوسط $3/01 \pm 5/70$ و در بیماران با علامت خفیف $1/43 \pm 3/20$ بوده است ($P < 0.002$ ، جدول ۱).

سپس بیماران جهت انجام رادیوگرافی اشعه X از مفاصل بزرگ (هر دو زانو، هر دو آرنج و هر دو مچ پا) به صورت قدامی، خلفی و جانبی فرستاده می‌شد و پس از آن گرافی‌ها توسط رادیولوژیست و بر اساس معیارهای رادیولوژی طرح امتیازدهی شد.

در انتها بر اساس علائم بالینی و بر اساس معیارهای میزان فاکتور دریافت شده در سال، تعداد دفعات خونریزی خودبه‌خودی در سال (امتیاز خونریزی)، امتیاز ارتوپدی و امتیاز رادیولوژی در سه گروه خفیف Mild Bleeder (MB)، گروه متوسط Intermediate Bleeder (IB) و گروه شدید Sever Bleeder (SB) (هر گروه ۲۰ بیمار) به شرح ذیل گروه‌بندی شدند [۹] (جدول ۱).

با احتساب حداقل دو معیار از چهار معیار اصلی فوق (میزان فاکتور دریافت شده در سال، امتیاز خونریزی، امتیاز ارتوپدی و امتیاز رادیولوژی) بیماران در گروه خفیف، متوسط یا شدید قرار گرفتند. قابل ذکر است که با توجه به این‌که برخی از بیماران که در ابتدا بر اساس معیار میزان فاکتور دریافت شده در سال طبقه‌بندی شده بودند، با احتساب سایر معیارها در گروه‌های دیگر قرار گرفتند مجدداً جهت تکمیل لیست هر گروه با بیماران دیگری تماس گرفته شد و همین مراحل طی شد تا در نهایت به ۲۰ بیمار در هر گروه دست یافتیم.

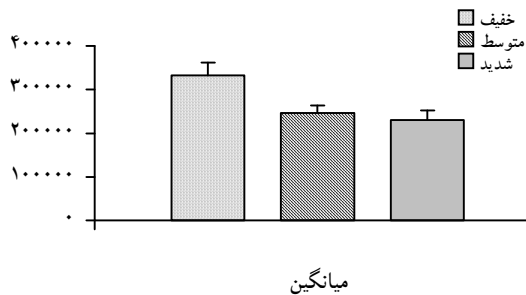
روش تجزیه و تحلیل داده‌ها. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون Chi-Square، فیشر، One Way ANOVA و تست تعقیبی Tukey در سطح معنی‌داری ۵

جدول ۱. جدول گروه‌بندی بیماران مورد مطالعه بر اساس امتیازهای خونریزی، ارتوپدی و رادیولوژی

گروه	میزان فاکتور دریافت شده در سال (U/Kg/y)	دفعات خونریزی در سال	امتیاز ارتوپدی	امتیاز رادیولوژی
گروه خفیف	$120 >$	$2 >$ بار	$3 >$	$2 >$
گروه متوسط	$120 \leq$ و $3000 \geq$	$2 \leq$ و $25 \geq$ بار	$2 \geq$ و $3 \leq$	$10 \geq$ و $2 \leq$
گروه شدید	$3000 <$	$25 <$ بار	$20 <$	$10 <$

جدول ۲. میانگین و SEM، معیارهای طبقه بندی در بیماران تحت مطالعه

نام گروه	تعداد نمونه	فاکتور VIII دریافتی به ازای هر کیلوگرم وزن بیمار		امتیاز خونریزی		امتیاز ارتوپدی		امتیاز رادیولوژی	
		SEM	میانگین	SEM	میانگین	SEM	میانگین	SEM	میانگین
خفیف	۲۰	۵۴/۹۱	۲۳۷/۱	۰/۵۶	۳/۶۰	۰/۳۲	۳/۲۰	۰/۲۷	۲/۷۰
متوسط	۲۰	۱۳/۹۷	۱۶۶۵/۳	۰/۳۸	۵/۰	۰/۶۷	۵/۷	۰/۲۱	۳/۱
شدید	۲۰	۲۶۶/۲۶	۴۱۲۳/۶	۰/۵۱	۶/۷۰	۰/۳۲	۴/۳۰	۰/۲۸	۳/۵۰



اما میانگین امتیاز ارتوپدی در ۳ گروه تفاوت معنی دار نداشت. به طوری که میانگین امتیاز ارتوپدی در گروه با علائم شدید $۱/۲۳ \pm ۳/۵$ بوده، در حالی که میانگین امتیاز ارتوپدی در گروه با علائم متوسط $۰/۹۶ \pm ۳/۱۰$ و در بیماران با علائم خفیف $۲/۲۱ \pm ۲/۷$ بوده است اما این تفاوت معنی دار نبود. (جدول ۲).

شکل ۱. میانگین پلاکت خون بیماران در سه گروه خفیف، متوسط و شدید. تفاوت بین گروه شدید با گروه متوسط ($P < ۰/۰۳۲$) و تفاوت بین گروه شدید با خفیف ($P < ۰/۰۰۹$) معنی دار بود.

میزان فعالیت روزانه. از نظر میزان فعالیت روزانه بین گروه‌ها تفاوت معنی داری مشاهده شد. به طوری که تمام ۶ بیمار که فعالیت زیاد و بیش از هم‌سالان داشتند، در گروه شدید قرار داشتند. ($P < ۰/۰۰۲$).

پروتئین C. تنها ۸ بیمار (۴۴/۴٪) بیماران در گروه شدید مقادیر پروتئین C نرمال دارند؛ که در بررسی معنی داری گروه‌ها در مقایسه مقادیر طبیعی و غیر طبیعی این فاکتور بین گروه‌ها، تفاوت بین گروه شدید با گروه متوسط و خفیف معنی دار بود ($P < ۰/۰۱۳$)؛ اما در مقایسه میانگین‌ها، اگرچه میانگین گروه خفیف کم‌تر از سایر گروه‌هاست ولی این تفاوت معنی دار نیست.

پلاکت PLT. میانگین پلاکت در گروه با علائم شدید با تمام گروه‌های دیگر اختلاف معنی دار داشته است و به طور معنی داری کم‌تر بود ($P < ۰/۰۰۷$). در تست تعقیبی Tukey تفاوت بین گروه شدید با گروه متوسط ($P < ۰/۰۳۲$) و تفاوت بین گروه شدید با خفیف ($P < ۰/۰۰۹$) معنی دار بود. میانگین تعداد پلاکت در بیماران تحت مطالعه در نمودار ۱ آورده شده است.

فاکتور MTHFR. فاکتور MTHFR در ۱۰/۳٪ (۶ بیمار) به صورت هتروزیگوت و در ۶/۹٪ بیماران (۴ بیمار) به صورت هموزیگوت مثبت بوده است. اگرچه این فاکتور در بین بیماران ۳ گروه معنی دار نبود اما چنان‌که در جدول ۲ مشاهده می‌شود وضعیت هموزیگوت فقط در گروه‌های متوسط و شدید مشاهده می‌شود.

فاکتور XII. در بین بیماران مورد مطالعه ۴ بیمار فاکتور ۱۲ پایین‌تر از نرمال (زیر ۵۰٪) داشتند که همگی در گروه با علائم شدید قرار داشتند که در بررسی معنی داری گروه‌ها در مقایسه مقادیر طبیعی و غیر طبیعی این فاکتور بین گروه‌ها، تفاوت بین گروه شدید با گروه متوسط و خفیف معنی دار بود ($P < ۰/۰۱$)؛ اما در مقایسه میانگین‌ها، اگرچه میانگین گروه خفیف کم‌تر از سایر گروه‌هاست ولی این تفاوت معنی دار نیست.

آنتی ترومبین III. میانگین آنتی ترومبین III در گروه‌ها تفاوت معنی داری داشت ($P < ۰/۰۱۳$). میانگین آنتی ترومبین III در گروه با علائم شدید با گروه متوسط اختلاف معنی دار

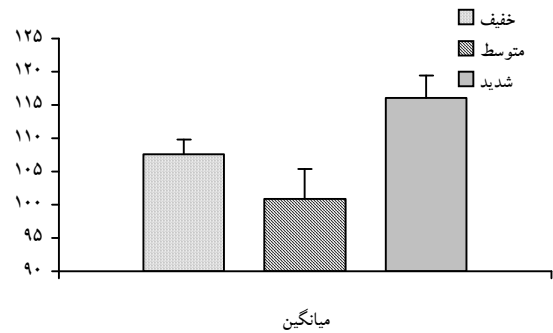
بیماران مورد مطالعه ما از نظر سطح فعالیت روزانه تفاوت معنی داری داشتند که چنانکه ذکر شد فعالیت گروه با تظاهرات شدید به طور معنی داری بیش از دو گروه دیگر بوده است ($P < 0.002$). که مطرح کننده نقش احتمالی این فاکتور در تفاوت تظاهرات بالینی باشد، چنانکه در مطالعه Van den Berg H.M. و همکاران نیز به آن اشاره شده است [۱۳] و در بسیاری از مطالعات مشابه به نقش آن توجهی نشده است [۱۱-۱] و حتی برخی مطالعات مثل مطالعه Harris S و همکاران به نقش مثبت و پیش گیری کننده ورزش اشاره داشته اند [۱۵]. به هر حال به نظر می رسد نمی توان به نقش این معیار در افزایش آسیب مفصلی در بیماران هموفیلی بی توجه بود، شاید علت تفاوت در نظر این نویسندگان این دو مقاله، اشاره Harris S و همکاران به ورزش منظم جهت تقویت المان های اطراف مفصل باشد [۱۵].

دومین عاملی که در بررسی اخیر بین سه گروه تحت بررسی به طور معنی داری تفاوت داشت، تعداد پلاکت بود که به طور معنی داری در گروه با تظاهرات شدید کم تر از دو گروه دیگر بود ($P < 0.007$), این موضوع می تواند مطرح کننده نقش احتمالی این فاکتور در تفاوت فنوتیپ باشد، چرا که این همراهی می تواند فرد را مستعد به خونریزی بیشتر نماید؛ هر چند مسیر و تظاهرات ترومبوسیتوپنی در بیماران با تظاهرات بالینی بیماران هموفیل تفاوت دارد، ولی شاید این یافته راه گشای تحقیقات بیشتر در زمینه این همراهی و نقش آن در تفاوت تظاهرات بالینی بیماران باشد که طبق بررسی های ما به نقش آن در مطالعات اشاره ای نشده است [۱۱-۱].

میانگین آنتی ترومبین III در گروه با علائم شدید با گروه متوسط اختلاف معنی دار داشته است و به طور معنی داری بیش تر بود ($P = 0.01$). به این موضوع مطالعات مختلف اشاره داشته اند [۱۳، ۸، ۷، ۴]. هر چند برخی مطالعات دیگر نیز نقش این فاکتور را رد کرده اند [۱۴، ۱۱، ۹].

این موضوع می تواند مطرح کننده نقش احتمالی این فاکتور در تفاوت فنوتیپ بیماران باشد. با توجه به نقش آنتی ترومبین

داشته است و به طور معنی داری بیش تر بود ($P < 0.01$). در آزمون تعقیبی Tukey ارتباط بین گروه شدید با متوسط از نظر آمار معنی دار بود ($P < 0.01$). میانگین و وضعیت معنی داری آنتی ترومبین III در بیماران تحت مطالعه در نمودار ۲ آورده شده است.



شکل ۲. میانگین آنتی ترومبین III بیماران در سه گروه خفيف، متوسط و شديد.

اختلالات متعدد ترومبوفیلیک. در بررسی عوامل ترومبوفیلیک مشخص شد، برخی از بیماران دارای چند عامل ترومبوفیلیک همزمان هستند. از جمله در ۲ بیمار (۳/۳٪) از بیماران مورد مطالعه در گروه با تظاهرات شدید اختلال همزمان در آنتی ترومبین III و پلاکت، در ۳ بیمار (۵٪) اختلال همزمان در آنتی ترومبین III و فاکتور XIII، و در ۲ بیمار (۳/۳٪) از بیماران مورد مطالعه اختلال همزمان در پروتئین C و پلاکت داشتند. همچنین در ۲ بیمار (۳/۳٪) از بیماران مورد مطالعه اختلال همزمان در آنتی ترومبین III و فاکتور XII داشتند ضمن اینکه همین بیماران فعالیت بیش تر از خم سالان نیز داشتند که این دو بیمار نیز در گروه شدید قرار داشتند.

بحث و نتیجه گیری

یافته ها نشان داد که از بین عوامل ذکر شده تنها میزان فعالیت روزانه، آنتی ترومبین III، تعداد پلاکت، پروتئین C و سطح فاکتور XII بین گروه ها معنی دار است و می تواند جزو عوامل احتمالی این تفاوت در تظاهرات بالینی باشد که در مورد این عوامل به تفصیل بحث خواهد شد:

مقادیر طبیعی و غیر طبیعی این فاکتور بین گروه‌ها، تفاوت بین گروه شدید و گروه متوسط با گروه خفیف معنی‌دار بود ($P < 0.013$)؛ این اثر در مطالعات متعدد بررسی شده و بسیاری از مطالعات اثر آن را تأیید کرده‌اند [۴، ۵، ۸]؛ ولی برخی نیز چنین موضوعی را در بیماران هموفیلی دلیل بر تفاوت تظاهرات بالینی نیافته‌اند [۹، ۱۱، ۱۴]. با نگاه به شکل ۱ مشخص می‌شود که پروتئین C نیز جزء عوامل آنتی ترومبوتیک در مسیر آبشار انعقادی است که می‌تواند با اثر مهار بر روی فاکتور VIII و V فعال، مسیر انعقاد را دچار وقفه و اشکال نماید. با وجود مطالعات متعدد هنوز اثر این فاکتور نیز در پرده ابهام وجود دارد.

در مورد سایر عوامل مورد بررسی تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد؛ که البته با توجه به تناقض‌های موجود در مطالعات متعدد در سطح دنیا در مورد اثرگذاری آن‌ها، نقش این عوامل نیازمند مطالعات وسیع‌تر با حجم نمونه بیشتر و با کنترل عوامل مخدوش‌کننده احتمالی و نیز متآنالیزهای مستدل می‌باشد.

نتیجه‌گیری: چنان‌که ذکر شد، در مطالعه اخیر تفاوت گروه‌های مورد بررسی، تنها در میزان فعالیت روزانه، آنتی ترومبین III، تعداد پلاکت، پروتئین C و سطح فاکتور XII معنی‌دار بود. که این موضوع در بین مطالعات انجام شده قبلی موافقین و مخالفین زیادی دارد. به نظر می‌رسد با توجه به نقش میزان فعالیت و نیز سطح پلاکت خون که در مطالعات کم‌تر به آن پرداخته شده است، باید برای یافتن علت تفاوت در تظاهرات بالینی بیماران مبتلا به هموفیلی شدید، به دنبال عوامل دیگری نیز باشیم که شاید حلقه مفقوده این معماست. به هر حال با توجه به یافته‌های این مطالعه و نیز با توجه به مطالعات اخیر انجام شده [۱۴]، باید در کنار عوامل ترومبوفیلیک و موتاسیون‌های ذکر شده، به نقش عوامل محیطی مثل عوامل اقتصادی، اجتماعی، فرهنگی و حتی فرهنگی بیماران توجه دوباره شود. هم‌چنین با توجه به نقش مشاهده شده برای تعداد پلاکت‌ها شاید لازم باشد به این عامل نیز دقیق‌تر توجه شود.

III در مهار فاکتور X فعال و ترومبین و در نتیجه مهار آبشار انعقادی (شکل ۱) [۱]، هرچه سطح آنتی ترومبین III در بیماران بیش‌تر باشد، تظاهرات بالینی شدیدتر خواهد بود.

تعدادی از مطالعات از جمله مطالعه Nowak-Gottl U و همکاران، Dargaud Y, Ghosh K و همکاران و Van den Berg H.M. و همکاران به نقش مهم و اساسی موتاسیون فاکتور V لیدن در تفاوت تظاهر بالینی بیماران اشاره و تأکید دارند [۷، ۵، ۴]؛ اما در مطالعه ما فاکتور V لیدن در تمام بیماران منفی بود و لذا این فاکتور در گروه‌ها قابل تحلیل نبود. با توجه به این‌که برخی مطالعات دیگر نتوانسته‌اند نقش این فاکتور را نشان دهند [۹، ۱۰، ۱۱] و نیز با توجه این‌که در مورد توزیع این موتاسیون در ایران بررسی جامعی انجام نشده است، شاید علت این موضوع شیوع کم این جهش در ایران در مقایسه با کشورها و جوامع دیگر باشد؛ چنان‌که در مطالعات دیگر نیز نشان داده شده است که این موتاسیون در کشورهای اروپایی و آمریکای شمالی شیوع بالایی دارد [۴].

چنان‌که در یافته‌های مطالعه مشاهده می‌شود، مقادیر پایین فاکتور XII در ۲۰٪ بیماران گروه شدید قابل مشاهده است که این تفاوت نسبت به دو گروه دیگر (که موردی پیدا نشده است) معنی‌دار است ($P < 0.01$). از نظر تئوریک مقادیر پایین فاکتور XII که در ابتدای مسیر داخلی آبشار انعقادی قرار دارد می‌تواند بر افزایش شدت خونریزی اثر گذار باشد (شکل ۱)، اما این موضوع نیز در مطالعات ذکر نشده است. حتی اثر کمبود این فاکتور در افزایش خونریزی در بیماران سالم نیز اثبات نشده است و کمبود این فاکتور را با وجود اثر آن در افزایش PTT، در خونریزی بی‌تأثیر دانسته‌اند [۱، ۱۲]؛ اما شاید چنان‌که در مطالعه اخیر به دست آمده است همراهی آن با کمبود فاکتور VIII بتواند بر شدت خونریزی اثرگذار باشد. که این موضوع نیز مستلزم بررسی‌های تکمیلی است.

چنان‌که ذکر شد تنها ۸ بیمار (۴/۴٪) بیماران در گروه شدید مقادیر پروتئین C نرمال دارند؛ این درحالی است که ۴ بیمار در گروه متوسط و ۴ بیمار در گروه شدید پروتئین C بالا داشته‌اند که در بررسی معنی‌داری گروه‌ها در مقایسه

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات همکاران محترم درمانگاه جامع

بیماران هموفیلی به ویژه جناب آقای چوپان تشکر و قدردانی

می شود.

منابع

- [7] Nowak-Göttl U, Escuriola C, Kurnik K, Schobess R, Horneff S, Kosch A, Kreuz W, and Pollmann H. Haemophilia and thrombophilia. What do we learn about combined inheritance of both genetic variations? *Hamostaseologie* 2003; 23: 36-40.
- [8] Escuriola Ettingshausen C, Halimeh S, Kurnik K, Schobess R, Wermes C, Junker R, Kreuz W, Pollmann H, and Nowak-Göttl U. Symptomatic onset of severe hemophilia A in childhood is dependent on the presence of prothrombotic risk factors. *Thromb Haemost* 2001;85: 218-220.
- [9] Santagostino E, Mancuso ME, Tripodi A, Chantarangkul V, Clerici M, Sei C, Siboni SM, Mannucci PM. Thrombin generation in severe hemophiliacs with different clinical phenotype. *J Thromb Haemost* 2007; 5 Supplement 2: O-S-016
- [10] Kurnik K, Kreuz W, Horneff S, Düring C, Schobess R, Bidlingmaier C, Ettingshausen CE, Krümpel A, Bogdanova N, and Nowak-Göttl U. Effects of the factor V G1691A mutation and the factor II G20210A variant on the clinical expression of severe hemophilia A in children--results of a multicenter study. *Haematologica* 2007; 92: 982-985.
- [11] Arbini AA, Mannucci PM, and Bauer KA. Low prevalence of the factor V Leiden mutation among "severe" hemophiliacs with a "milder" bleeding diathesis. *J Thromb Haemost* 1995; 74: 1255-1258.
- [12] Brenner B. Clinical management of thrombophilia related placental vascular complications. *Blood* 2004; 103: 4003
- [13] Van den Berg HM, De Groot PHG, Fischer K. Phenotypic heterogeneity in severe hemophilia. *J Thromb Haemost* 2007; 5 Suppl. 1: 151-156.
- [14] Shetty S, Vora S, Kulkarni B, Mota L, Vijaporkar M, Quadros L, and Ghosh K. Contribution of natural anticoagulant and fibrinolytic factors in modulating the clinical severity of hemophilia patients. *Br J Haematol* 2007; 138: 541-544.
- [15] Harris S, Boggio LN. Exercise may decrease further destruction in the adult hemophilic joints. *Haemophilia* 2000; 6: 537-546.
- [1] Behrman RE, Kligman R, and Jenson H. *Nelson's Textbook of pediatrics*. 17th ed. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 1994.
- [2] Hedner U, Ginsburg D, Lusher JM, and High KA. Congenital hemorrhagic disorders: new insights into the pathophysiology and treatment of hemophilia. *Hematology*, 2000; 241-265.
- [3] Hoyer LW. Hemophilia A. *N Eng J Med*, 1994; 330: 38-47.
- [4] Dargaud Y, Meunier S, and Negrier C. Haemophilia and thrombophilia: an unexpected association! *Haemophilia*. 2004; 10: 319-326.
- [5] Ghosh K, Shetty S, and Mohanty D. Milder clinical presentation of haemophilia A with severe deficiency of factor VIII as measured by one-stage assay. *Haemophilia* 2001; 7: 9-12.
- [6] Green D, Snapper H, Abu-Jawdeh G, and Reddy J. Acute myocardial infarction, non-bacterial thrombotic endocarditis, and disseminated intravascular coagulation in a severe hemophiliac. *Am J Hematol* 1990; 35: 210-212.

Survey of the relationship between of thrombophilic factors and the rate and severity of bleeding in patients with severe hemophilia A

Mohammad Faranoush (M.D)¹, Navid Danai (M.D)^{*1}, Raheb Ghorbani (Ph.D)², Mahbobeh Rahamni (M.D)³, Mohammad Jazebi (M.D)³, Tahereh Shashaani (M.D)³, Mojtaba Malek (M.D)⁴

1- Dept. of Pediatric Medicine, AmirAlMomenin Hospital, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.

2- Dept. of Social Medicine, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.

3- Hemophilic Patients Center, Tehran, Iran.

4- Dept. of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.

(Received 20 Jul, 2008 Accepted 9 Oct, 2008)

Introduction: Hemophilia is the most common disorder of deficiencies in thrombotic factors. In most patients, severities of symptoms are in proportion of the seriousness of deficiency in the thrombotic factors. But in some patients with severe hemophilia, having less than 1% in factor level; the clinical symptoms are lower and slighter than the other hemophilic patients. Even in some cases, thrombotic events in the severe hemophilic patients have been accrued. The underlying causes of these findings are unknown. The aims of this study were to determine the role of some factors and also the type of genetic mutation of these factors in the rate and severity of bleeding and also the symptoms of the severe hemophilic patients.

Materials & Methods: Sixty hemophilia A patients (FVIII<1%) with having records in Hemophilic Patients Center were divided on the basis of the received factor rate items per year, bleeding score, orthopedic score and radiologic score, in three groups with mild, moderate and sever clinical presentations (each group with 20 patients). And then the mutation tests in the gene of Leiden V factor, PG20210A, MTHFR, level of thrombotic factors (II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, and Fibrinogen), Protein C, S, Antithrombin III, Phospholipid Ab and Hemosisteine and number of platelets were performed. Data using the χ^2 , Fischer, ANOVA and Tukey test and SPSS-14 were analyzed.

Results: Of the studied factors, the differences among 3 groups from view point of daily activity (P<0.002), antithrombin III (P<0.013), number of platelets (P<0.007), protein C (P<0.013) and level of factor XII (P<0.01) was significant. No significant differences were found in three groups in other tested factors

Conclusion: In this study, there were significant differences only in the daily activity, antithrombin III, number of platelets, protein C and level of factor XII. Thus, further studies are required to determine the role of other factors that may contribute to differences in the clinical presentations of the severe hemophilic patients.

Key Words: Severe Hemophilia A, Clinical presentations, Thrombophilic factors, Platelet, Bleeding score, Orthopedic score, Radiologic score

* Corresponding author: Fax: +98 231 4460099; Tel: +98 231 4460055
danaie@sem-ums.ac.ir