

## تعیین سطح سرمی پروتئین C، پروتئین S و فاکتور V لیدن در بیماری سیکل سل در استان خوزستان

محمد پدرام<sup>۱</sup>، بیژن کیخایی<sup>۲</sup>، افشین فتحی<sup>۳\*</sup>، فیروزه دهیوری<sup>۴</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** بیماری سیکل سل به علت موتاسیون در زنجیر بتای گلوبین و جایگزینی والین بجای گلوتامین در موقعیت ششم بوجود می آید که منجر به افزایش پلی مریزاسیون و انسداد عروقی می شود. اخیراً کاهش فعالیت پروتئین C و پروتئین S و افزایش فاکتور V لیدن به عنوان علل افزایش انعقاد پذیری در بیماران سیکل سل مطرح شده است. هدف از این مطالعه بررسی سطح سرمی پروتئین C، پروتئین S و فاکتور V لیدن در اختلالات سیکل سل با گروه شاهد بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تحلیلی مورد-شاهد از ۱۰۰ بیمار مبتلا به سیکل سل در حالت حمله از نظر پروتئین C، پروتئین S و فاکتور V لیدن بررسی و با ۵۰ نفر کنترل همسان شده و انواع مختلف سیکل، مصرف هیدروکسی اوره، تزریق خون، میزان هموگلوبین F، گروه های سنی و جنسی با نرم افزار SPSS با آزمون های آماری کای دو و آنالیز واریانس مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته ها:** از ۱۰۰ بیمار ۴۷ مرد، ۵۳ زن و متوسط سنی ۲۰/۲ سال با محدوده سنی ۳-۵۸ و  $(ISD \pm 1/0/3)$  بود. سطح پروتئین C در ۳۵ درصد و پروتئین S در ۲۴ درصد بیماران بطور معنی داری هر دو با  $(p < 0/0001)$  پائین بوده و هر دو در کنترل طبیعی بود. فاکتور V لیدن در ۲۷ درصد بیماران در مقابل ۴ درصد گروه کنترل بطور معنی داری  $(p = 0/001)$  بالا بوده است. سطح پروتئین S با گروه های سنی رابطه معنی داری  $(p = 0/02)$  داشته است.

**نتیجه گیری:** در بیماران سیکل سل، سطح پروتئین C و پروتئین S کاهش و فعالیت فاکتور V لیدن افزایش یافته و باعث افزایش انعقاد پذیری در این بیماران می شود.

م ع پ ۱۳۹۰؛ ۱۰(۳): ۲۴۹ - ۲۴۹

**کلید واژگان:** سیکل سل، پروتئین C، پروتئین S، فاکتور V لیدن.

۱- استاد خون و سرطان کودکان.

۲- دانشیار خون و سرطان کودکان.

۳- استادیار خون و سرطان کودکان.

۴- کارشناس آزمایشگاه.

۱،۲- گروه خون و سرطان کودکان، مرکز

تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی دانشگاه

علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، ایران.

۳- گروه خون و سرطان کودکان، اردبیل

۴- آزمایشگاه بیمارستان شفا.

\* نویسنده مسوول:

گروه خون و سرطان کودکان، بیمارستان

بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل،

اردبیل، ایران.

تلفن: ۰۹۱۴۳۵۱۶۰۲۹

Email: dr\_afathi@yahoo.com

## مقدمه

بیماری سیکل سل یکی از قدیمی ترین بیماری ها است و موتاسیون ژن آن ۵۰.۰۰۰ سال قبل اتفاق افتاده است. این موتاسیون در مناطق مالاریا خیز شایع می باشد (۱). شدت بیماری به هاپلو تیپ های اختصاصی مناطق منبع موتاسیون هموگلوبین S یعنی سنگال، بنین و بانتو یا کار (CAR) بستگی دارد (۱). انتشار جغرافیای سیکل سل در ایران در جنوب غربی کشور و جزایر خلیج فارس تا کیلومترها از ساحل می باشد. همچنین سیکل سل در خوزستان علاوه بر عرب ها در افراد بومی غیر عرب نظیر اهالی زیدون، ماهشهر، کهنه، جراحی، هندیجان و قوم قنواتی دیده می شود (۲). هموگلوبین S در نتیجه یک موتاسیون در زنجیره بتای هموگلوبین ایجاد می شود. موتاسیون  $\beta^S$  باعث نشستن تیمین بجای آدنین در کدون ۶ می شود که آن هم باعث قرار گرفتن والین بجای گلوتامیک اسید در وضعیت ششم می شود. والین هیدروفوبیک است و موقع تشکیل تترامرهای هموگلوبین در وضعیت فاقد اکسیژن در حفره هیدروفوبیک زنجیره بتای مجاور مخفی شده و باعث پلی مریزاسیون هموگلوبین و سفت و داسی شدن گلبولهای قرمز و نهایتاً انسداد عروقی می گردد. انسداد عروقی در این بیماران عوارض شایع و خطرناکی از جمله حملات درد، سندرم قفسه سینه حاد و گیر افتادگی طحالی ایجاد می کند. اخیراً علاوه بر مکانیسم فوق افزایش انعقاد پذیری نیز در این بیماران مطرح شده است که می تواند منجر به تشکیل ترومبوز و افزایش عوارض گردد. ولی مطالعات وسیعی در این زمینه انجام نشده است (۱). برای استفاده از داروهای ضد انعقادی برای این بیماران، مطالعات کمی که نتایج متغیری داشته اند انجام شده است (۳)، و تاثیر مثبت هیپارین نشان داده شده است (۴). پروتئین C و کوفاکتور آن، پروتئین S جزء اصلی پروتئین های ضد انعقادی هستند و با مهار فاکتور V و VIII فعال سیستم انعقاد را مهار می کنند.

بطوری که کمبود هتروزیگوس پروتئین C ۷ برابر احتمال ترومبوز را زیاد می کند (۵). اخیراً کمبود این پروتئین ها بعنوان عامل افزایش انعقاد پذیری و ترومبوز در بیماران سیکل سل مورد توجه قرار گرفته است (۷، ۶). و حتی برای افزایش این پروتئین ها از هیدروکسی اوره استفاده شده که نتایج مثبتی داشته است (۸). احتمال افزایش کمبود پروتئین C از ۰/۲ درصد در افراد عادی به ۲۰ درصد در بیماران سیکل و در مورد پروتئین S از حداکثر ۰/۷ درصد به ۱۵ درصد گزارش شده است (۹، ۱۰). علاوه بر آن، فاکتور V لیدن که در نتیجه موتاسیون ژنی در مقابل غیر فعال شدن توسط پروتئین C و پروتئین S مقاومت می کند و احتمال ترومبوز را ۸۰-۵ برابر بیشتر می کند (۵)، بعنوان عامل دیگری برای افزایش انعقاد پذیری و ترومبوز در این بیماران مطرح شده است (۱۱). افزایش فاکتور V لیدن در بیماران سیکل سل ۱۴/۳ درصد در مقابل ۱/۶ درصد در افراد کنترل با روش PCR نشان داده شده است. در این مطالعه که در شمال غرب ایران در شهر کرمانشاه انجام شده است موتاسیون فاکتور V لیدن و پروترومبین G20210A در بیماران سیکل سل با روش PCR بررسی و با افراد سالم مقایسه شده است. در نتیجه این بررسی فقط موتاسیون فاکتور V لیدن در بیماران سیکل بصورت معنی داری بالا بوده و موتاسیون G20210A در افراد بیمار و کنترل تفاوت نداشته است (۱۲) که نشان می دهد موتاسیون های ترومبوز می تواند بصورت مستقل ایجاد شود. با توجه به هزینه بالای بررسی مولکولی در مطالعات مشابه، وضعیت انعقادی بر مبنای آزمایشات انعقادی و سطح فاکتورها انجام شده است (۶، ۱۰). در مطالعه ای که در کالیفرنیا انجام شده فاکتور V لیدن در حملات سیکل سل نقش نداشته است (۱۳). از آنجایی که شدت بیماری سیکل در انواع مختلف آن متفاوت می باشد با وجود شیوع آن در منطقه چنین مطالعاتی تا کنون در این بیماران انجام نشده است. اگر بتوان میزان پروتئین C،

انجام گردید. بعد از ارسال نمونه به آزمایشگاه نمونه طی کمتر از نیم ساعت با دور ۲۵۰۰ در ثانیه به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و سپس پلاسماي سطحی جمع آوری و در فریزر ۲۰- درجه نگه داری گردید. نمونه های جمع آوری شده در هر دو هفته توسط دستگاه تمام اتوماتیک ACL8000 کواکومتر ساخت کشور ایتالیا توسط کیت های مخصوص ACL، پروتئین C و پروتئین S و فاکتور V لیدن ارزیابی شد. پاسخ دستگاه برای پروتئین C و پروتئین S بصورت فعالیت پروتئین ها داده می شود. هر ۱۰۰ درصد فعالیت، یک واحد در دسی لیتر (u/ml) می باشد. بنابراین با تقسیم درصد فعالیت بر صد سطح سرمی پروتئین C و پروتئین S بصورت u/ml قابل محاسبه می باشد. محدوده طبیعی برای فعالیت پروتئین C برای گروه سنی ۵-۱۵ سال (۹۲-۴۰ درصد)، ۱۰-۶ سال (۹۳-۴۵ درصد)، ۱۶-۱۱ سال (۱۱۰-۵۵ درصد) و بیشتر از ۱۶ سال (۱۲۸-۶۴ درصد) در نظر گرفته شد. محدوده طبیعی برای فعالیت پروتئین S برای گروه سنی ۵-۱ سال (۱۱۸-۵۴ درصد)، ۱۰-۶ سال (۱۱۴-۴۱ درصد)، ۱۶-۱۱ سال (۹۲-۵۲ درصد) و بیشتر از ۱۶ سال (۱۱۳-۶۰ درصد) در نظر گرفته شد. برای ارزیابی وجود فاکتور V لیدن در حقیقت از مقاومت به پروتئین C فعال (APCR) Activated protein C resistant استفاده می شود. به این صورت که نخست در حضور پروتئین C فعال و سپس در غیاب پروتئین C فعال زمان لخته سازی انجام می شود، اگر نسبت زمان لخته با اضافه شدن پروتئین C فعال به ثانیه (Sa) تقسیم بر زمان لخته در غیاب پروتئین C فعال به ثانیه (S) که با واحد  $Sa/S=R$  نشان داده می شود، به اندازه کافی بالا باشد (بیشتر از ۲/۱)، نشان می دهد که مقاومت به پروتئین C فعال و فاکتور V لیدن وجود ندارد در مقابل، مقادیر پائین بیانگر مقاوم بودن نمونه به پروتئین C فعال وجود فاکتور V لیدن می باشد. به این ترتیب هر چقدر واحد R نمونه کمتر

پروتئین S و فاکتور V لیدن را در انواع اختلالات سیکل سل استان خوزستان، که بیشترین میزان بیماران سیکل سل را در ایران دارا می باشد تعیین کرد، می توان دریچه ای بسیار بزرگ برای ارایه راه کارهای درمانی و پیشگیری کننده برای کاهش عوارض مهلک این بیماری باز نمود و از بار جسمی و روحی و مالی سنگینی که این بیماری بر مردم و جامعه تحمیل کرده است کم نمود. در غیر این صورت ممکن است بیماران با عوارض ناشی از افزایش انعقاد پذیری، با درمان غیر اختصاصی دچار عوارض غیر قابل برگشت و ناتوان کننده گردند.

### روش بررسی

بیمارانی که اختلال اثبات شده سیکل سل داشتند و از تمام نواحی استان خوزستان جهت کنترل به درمانگاه تالاسمی بیمارستان شفا ارجاع داده شده بودند مورد بررسی قرار گرفتند. بیمارانی که از نژاد عرب بودند و بخاطر یکی از عوارض شناخته شده کم خونی سیکل سل در بخش بستری شدند وارد مطالعه شدند. بیمارانی که سیکل سل در آنها مشکوک بوده و سیکل پرب مثبت نداشتند و قبل از نمونه گیری هپارین یا وارفارین مصرف کرده بودند از مطالعه خارج شدند. گروه شاهد از بین افراد سالم بدون سابقه هموگلوبینوپاتی و عدم مصرف داروهای ضد انعقادی با قومیت عرب انتخاب شدند. سعی شد از لحاظ جنسی و سنی بیماران و گروه شاهد همسان سازی انجام شوند. بعد از بستری شدن بیماران بخاطر عوارض بیماری سیکل سل در اولین صبح بستری بعد از پر کردن پرسشنامه و اخذ رضایت و توضیح کافی در خصوص مطالعه از بیمار ۱۸ سی سی خون گرفته شده و با ۰/۲ سی سی سیترات سدیم در لوله پلاستیکی درپوش دار مخلوط شده و بعد از کددار کردن نمونه همراه با نمونه شاهد ها به آزمایشگاه ارسال شدند. نوع مطالعه بنیادی- کاربردی بوده و بصورت مورد- شاهدهی

حال و بررسی پرونده درمانگاهی به سه گروه عدم تزریق، تزریق بصورت نامنظم و تزریق بصورت منظم با حداقل ۱۰ سی سی برای هر کیلوگرم وزن بدن در ماه و برای بیشتر از شش ماه تقسیم شدند. سپس مقادیر پروتئین C و پروتئین S و فاکتور V لیدن بر حسب نوع بیماری، گروه های سنی و جنسی، دریافت هیدروکسی اوره و تزریق خون بین بیماران و با گروه شاهد با هم مقایسه شدند. داده ها وارد پرسشنامه ای که از قبل طراحی شده بود وارد گردید. سایر اطلاعات مربوط به سن، جنس، مصرف هیدروکسی اوره و سابقه تزریق خون نیز از طریق پرسشنامه جمع آوری گردید. با توجه به اینکه میزان شیوع کمبود پروتئین C و S و بالا بودن فاکتور V لیدن در بیماران سیکل سل در حدود ۲۰ درصد برآورد می شد حجم نمونه با دقت ۹۵ درصد تقریباً ۱۰۰ بیمار محاسبه گردید و تعداد نمونه شاهد ۵۰ مورد در نظر گرفته شد. نتایج بدست آمده با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ ارزیابی شد. p کمتر از ۰/۰۵ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد.

#### یافته ها

یکصد بیمار که با الکتروفورز هموگلوبین، سیکل پرب و CBC، بیماری سیکل سل در آنها اثبات و نوع آن تعیین شده و بخاطر عوارض ناشی از کم خونی سیکل سل در بخش خون بیمارستان شفا بستری شدند مورد مطالعه قرار گرفتند. و سطح خونی پروتئین C، پروتئین S و فاکتور V لیدن در آنها با پنجاه شاهد همسان شده و بر حسب سن، جنس، هموگلوبین F، دریافت هیدروکسی اوره، خون و نوع بیماری مقایسه گردیدند. از ۱۰۰ بیمار ۴۷ (۴۷ درصد) مرد و ۵۳ (۵۳ درصد) زن با نسبت مرد به زن ۰/۸۸ و در گروه شاهد ۲۳ (۴۶ درصد) مرد و ۲۷ (۵۴ درصد) زن با نسبت مرد به زن ۰/۸۵ بود. متوسط سن در گروه بیمار ۲۰/۲ سال با محدوده (۳-۵۸) و (۱/۰۳±۱SD) و گروه شاهد

باشد فاکتور V لیدن آن نمونه بیشتر است. بر این اساس با دستگاه تمام اتوماتیک ACL8000 کواکلوتر نمونه ها از نظر وجود فاکتور V لیدن بررسی شدند و جواب دستگاه با واحد R با محدوده طبیعی (۲/۱-۳/۳) مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه هائی که واحد R آنها از ۲/۱ کمتر بود از نظر وجود فاکتور V لیدن مثبت در نظر گرفته شدند. نوع اختلال سیکل سل تحت نظارت مشاور ناظر بر اساس مطالعه پرونده درمانگاهی، ارزیابی آزمایشات هموگلوبین الکتروفورز، فنوتیپ، سیکل پرب و Activated protein C CBC resistant بصورت زیر تعیین شد.

در صورتی که هموگلوبین S بیمار، هموگلوبین غالب (بیش از ۵۰ درصد) و مقادیر  $MCV \geq 80$  (Main) و  $MCH \geq 27$  (corpuscular value) و  $corpuscular\ hematocrit$  در نظر گرفته شد. در مواقعی که هموگلوبین S همچنان هموگلوبین غالب بوده ولی مقادیر  $MCV, MCH$  کمتر بود، در صورت وجود هموگلوبین A و هموگلوبین F به عنوان بقیه هموگلوبین، بیمار  $SB^+$  در صورت وجود فقط هموگلوبین F به عنوان بقیه هموگلوبین بیمار  $SB^0$  و در صورت وجود هموگلوبین C بیمار SC در نظر گرفته شد. بیماران از لحاظ جنسی بر اساس فنوتیپ به دو گروه مذکر و مونث و از لحاظ گروه سنی بر اساس شناسنامه به چهار گروه سنی ۵-۱ سال، ۱۰-۶ سال، ۱۱-۱۶ سال و بیشتر از ۱۶ سال تقسیم شدند. همچنین بیماران از نظر مقادیر هموگلوبین F الکتروفورز به سه گروه هموگلوبین F کمتر از ۱۰ درصد، ۱۰-۲۰ درصد و بیشتر از ۲۰ درصد تقسیم شدند. بیماران از لحاظ مصرف هیدروکسی اوره بر اساس شرح حال و بررسی پرونده درمانگاهی به سه گروه عدم مصرف، مصرف کمتر از شش ماه و مصرف بیش از شش ماه با مقدار حداقل معمول ۱۵ میلیگرم برای هر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند. علاوه بر آن بیماران از سابقه تزریق خون بر اساس شرح

(۱۲ درصد) کمبود هر دو پروتئین ضد انعقادی را داشتند. در ۵ (۵ درصد) بیمار کمبود هر دو پروتئین های ضد انعقادی C، S همراه با افزایش فاکتور V لیدن را داشته اند. ۴ نفر از این ۵ نفر سابقه مصرف هیدروکسی اوره نداشتند. در نتیجه کمبود هر دو پروتئین های ضد انعقادی C و S همراه با افزایش فاکتور V لیدن با عدم مصرف هیدروکسی اوره رابطه مستقیم داشته ولی از نظر آماری معنی دار ( $p=0/189$ ) نبوده است. متوسط پروتئین C در بیماران  $SB^+$  بیشتر و در  $SB^0$  کمتر از بقیه بوده ولی بین سطح پروتئین C و انواع بیماری سیکل سل از نظر آماری اختلاف معنی داری ( $p=0/136$ ) وجود نداشته است. با اینکه متوسط پروتئین S در بیماران  $SB^+$  بیشتر و در SS کمتر از بقیه بوده ولی بین سطح پروتئین S و انواع بیماری سیکل سل از نظر آماری اختلاف معنی داری ( $p=0/9$ ) وجود نداشته است. بین سطح فاکتور V لیدن و انواع بیماری سیکل سل از نظر آماری اختلاف معنی داری ( $p=0/911$ ) وجود نداشته است (جدول ۳). با اینکه بین سطح پروتئین C و مصرف هیدروکسی اوره رابطه مستقیم مثبت وجود داشته ولی از نظر اختلاف آماری، معنی دار ( $p=0/142$ ) نبوده است. بین سطح پروتئین S و فاکتور V لیدن با مصرف هیدروکسی اوره از نظر آماری اختلاف معنی داری به ترتیب با ( $p=0/838$ ) و ( $p=0/727$ ) وجود نداشته است (جدول ۴). بین سطح پروتئین C و تزریق خون، رابطه مستقیم منفی وجود داشته ولی از نظر آماری معنی دار ( $p=0/191$ ) نبوده است. سطح پروتئین S در افرادی که بصورت منظم خون تزریق کرده اند پائین تر از بقیه بوده ولی بین پروتئین S و تزریق خون از نظر آماری اختلاف معنی داری ( $p=0/197$ ) وجود نداشت. بین فاکتور V لیدن و تزریق خون رابطه مستقیم مثبت وجود داشته ولی از نظر آماری اختلاف معنی دار ( $p=0/096$ ) نبوده است (جدول ۵). بین سطح پروتئین C، پروتئین S و فاکتور V لیدن با میزان هموگلوبین F اختلاف آماری معنی داری به

۲۰/۸ سال با محدوده (۳-۵۲) و ( $ISD \pm 1/08$ ) بود (جدول ۱). از ۱۰۰ بیمار، ۶۲ نفر (۶۲ درصد) SS، ۲۵ نفر (۲۵ درصد)  $SB^0$  و ۱۳ نفر (۱۳ درصد)  $SB^+$  بودند و مورد SC وجود نداشت.

پنجاه و هفت (۵۷ درصد) بیمار، هیدروکسی اوره مصرف نکرده، ۱۱ (۱۱ درصد) بیمار کمتر از ۶ ماه و ۳۲ (۳۲ درصد) بیمار بیشتر از ۶ ماه هیدروکسی اوره مصرف کردند. بیست و یک (۲۱ درصد) بیمار سابقه تزریق خون نداشته، ۷۳ (۷۳ درصد) بیمار نامنظم و ۶ بیمار (۶ درصد) بصورت منظم سابقه تزریق خون داشته اند. شش (۶ درصد) بیمار در گروه سنی ۵-۱ سال، ۱۲ بیمار (۱۲ درصد) ۱-۶ سال، ۱۸ بیمار (۱۸ درصد) ۱۱-۱۶ سال و ۶۴ بیمار (۶۴ درصد) در گروه سنی بیشتر از ۱۶ سال قرار داشتند. هموگلوبین F در ۳۲ (۳۲ درصد) بیمار کمتر از ۱۰ درصد، در ۳۹ بیمار (۳۹ درصد) ۱۰-۲۰ درصد و در ۲۹ (۲۹ درصد) بیمار بیشتر از ۲۰ درصد بود. سطح پروتئین C در ۳۵ (۳۵ درصد) بیمار پائین تر از سطح طبیعی بوده در حالی که در افراد شاهد سطح پروتئین C در تمام موارد طبیعی بوده و اختلاف از نظر آماری معنی دار ( $p < 0/0001$ ) می باشد. سطح پروتئین S در ۲۴ (۲۴ درصد) بیمار پائین تر از سطح طبیعی بوده و در افراد شاهد، تمام موارد در حد طبیعی بوده است و اختلاف از نظر آماری معنی دار ( $p < 0/0001$ ) می باشد. طبیعی بودن پروتئین C و پروتئین S در ۵۰ مورد شاهد با توجه به شیوع آنها به ترتیب ۰/۲ درصد و ۰/۷-۰/۱۷ درصد دور از انتظار نمی باشد (۱۴،۹). فاکتور V لیدن در ۲۷ (۲۷ درصد) بیمار بیش از حد طبیعی و در گروه شاهد در ۲ بیمار (۴ درصد) بیشتر بوده و اختلاف از نظر آماری معنی دار ( $p < 0/0001$ ) می باشد (جدول ۲). وجود فاکتور V لیدن ۴ درصد در افراد شاهد با توجه به شیوع آن ۱-۸/۵ درصد دور از انتظار نمی باشد (۵). در ۵۳ (۵۳ درصد) بیمار کمبود یکی از پروتئین های ضد انعقادی C یا S و در ۱۲ بیمار

بیشتر از بقیه بوده ولی بین سطح پروتئین C و گروه های سنی مختلف اختلاف رابطه آماری معنی داری ( $p=0/112$ ) وجود نداشته است. سطح پروتئین S در افراد ۱۶-۱۱ ساله کمتر و در افراد کمتر از ۵ سال بیشتر از بقیه بوده و بین سطح پروتئین S و گروه های سنی مختلف اختلاف آماری معنی داری ( $p=0/02$ ) وجود داشته است. بین سطح فاکتور V لیدن و گروه های سنی مختلف اختلاف آماری معنی داری ( $p=0/679$ ) وجود نداشته است (جدول ۷).

ترتیب با ( $p=0/421$ )، ( $p=0/708$ ) و ( $p=0/658$ ) وجود نداشته است (جدول ۶). با اینکه سطح پروتئین C در افراد مذکر کم تر بوده است ولی از نظر آماری اختلاف، معنی دار ( $p=0/909$ ) نبوده است. سطح پروتئین S در بیماران مونث کم تر بوده ولی از نظر آماری اختلاف، معنی دار ( $p=0/634$ ) نبوده است. سطح فاکتور V لیدن در بیماران مذکر بیشتر بوده ولی از نظر آماری اختلاف معنی دار ( $p=0/989$ ) نبوده است. سطح پروتئین C در افراد بیشتر از ۱۶ سال

جدول ۱: فراوانی تعداد افراد مذکر، مونث و متوسط سنی در بیماران سیکل سل و گروه کنترل

افراد	مذکر		مونث		SD
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
بیمار	۴۷	۴۷	۵۳	۵۳	۱/۰۳
کنترل	۲۳	۴۶	۲۷	۵۴	۱/۰۸

جدول ۲: تعیین فراوانی نسبی کمبود پروتئین های C و S و افزایش فاکتور V لیدن در افراد سیکل سل و گروه کنترل

موارد	گروه	بیمار		کنترل	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد
کمبود پروتئین C	۳۵	۳۵	۰	۰	۰/۰۰۱
کمبود پروتئین S	۲۴	۲۴	۰	۰	۰/۰۰۱
افزایش فاکتور V لیدن	۲۷	۲۷	۲	۴	<0/001

جدول ۳: تعیین فراوانی نسبی پروتئین های C و S و فاکتور V لیدن در انواع سیکل سل

مقدار	SS	SB <sup>0</sup>	SB <sup>+</sup>	p
متوسط و محدوده کمبود پروتئین C	۷۳ درصد (۱۱/۷-۱۶۲)	۶۲/۵ درصد (۹/۵-۹۶/۳)	۷۷/۸ درصد (۴۱/۲-۱۶۶)	۰/۱۳۶
متوسط و محدوده کمبود پروتئین S	۸۰/۸ درصد (۱۰/۲-۱۶۷)	۸۳/۱ درصد (۲۵/۲-۱۶۷)	۸۵/۳۵ درصد (۲۷/۴-۱۷۲)	۰/۹
متوسط و محدوده افزایش فاکتور V لیدن	۲/۲۹ درصد (۱/۴-۳/۳)	۲/۳۲ درصد (۱/۶-۳/۱)	۲/۳۳ درصد (۱/۶-۳/۱)	۰/۹۱۱

جدول ۴: تعیین فراوانی نسبی پروتئین های C و S و فاکتور V لیدن در بیماران سیکل سل با مصرف هیدروکسی اوره

مقدار	عدم مصرف	مصرف کمتر از ۶ ماه	مصرف بیشتر از ۶ ماه	P
متوسط و محدوده کمبود پروتئین C	۶۷/۴ درصد (۹/۵-۱۶۶)	۶۷/۸ درصد (۴۸/۱-۹۱/۶)	۷۸/۵ درصد (۴۱/۲-۱۴۲)	۰/۱۴۲
متوسط و محدوده کمبود پروتئین S	۸۱/۱ درصد (۲۵/۲-۱۷۲)	۸۷/۹ درصد (۴۸/۹-۱۴۶)	۸۱/۴ درصد (۱۰/۷-۱۶۷)	۰/۸۳۸
متوسط و محدوده افزایش فاکتور V لیدن	۲/۳۲ درصد (۱/۴-۳/۳)	۲/۲۱ درصد (۱/۶-۲/۷)	۲/۳ درصد (۱/۵-۳/۱)	۰/۷۲۷

جدول ۵: تعیین فراوانی نسبی پروتئین های C و S و فاکتور V لیدن در بیماران سیکل سل با تزریق خون

مقدار	عدم تزریق	تزریق نامنظم	تزریق منظم	P
متوسط و محدوده کمبود پروتئین C	۷۵/۳ درصد (۱۱/۷-۱۶۶)	۷۱/۲ درصد (۹/۵-۱۶۲)	۵۳/۵ درصد (۳۹/۵-۶۷/۳)	۰/۱۹۱
متوسط و محدوده کمبود پروتئین S	۸۰/۹ درصد (۲۸-۱۵۰)	۸۴/۳ درصد (۱۰/۷-۱۷۲)	۵۷/۴ درصد (۱۶/۴-۹۵/۲)	۰/۱۹۷
متوسط و محدوده افزایش فاکتور V لیدن	۲/۴۴ درصد (۱/۴-۳/۳)	۲/۲۸ درصد (۱/۵-۳/۱)	۲/۰۸ درصد (۱/۶-۲/۵)	۰/۰۹۶

جدول ۶: تعیین فراوانی نسبی پروتئین های C و S و فاکتور V لیدن در بیماران سیکل سل با مقادیر مختلف هموگلوبین F

مقدار	کمتر از ۱۰ درصد	۱۰-۲۰ درصد	بیشتر از ۲۰ درصد	P
متوسط و محدوده کمبود پروتئین C	۷۳/۷ درصد (۴۲/۳-۱۰۸)	۷۳ درصد (۱۴/۱-۱۶۶)	۶۵/۷ درصد (۹/۵-۱۶۲)	۰/۴۲۱
متوسط و محدوده کمبود پروتئین S	۸۱/۵ درصد (۲۸-۱۴۲)	۸۵/۳ درصد (۲۵/۲-۱۷۲)	۷۸/۱ درصد (۱۰/۲-۱۶۷)	۰/۷۰۸
متوسط و محدوده افزایش فاکتور V لیدن	۲/۳۵ درصد (۱/۵-۳/۱)	۲/۳ درصد (۱/۴-۳/۳)	۲/۲۵ درصد (۱/۷-۳/۱)	۰/۶۵۸

جدول ۷: تعیین فراوانی نسبی پروتئین های C و S و فاکتور V لیدن در بیماران سیکل سل با گروه های سنی مختلف

مقدار	کمتر از ۵ سال		۶-۱۰ سال		۱۱-۱۶ سال		بیشتر از ۱۶ سال		P
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
متوسط و محدوده کمبود پروتئین C	۶۹/۷۵	۹/۵-۹۳/۸	۶۰/۸	۴۵/۹-۸۱/۶	۶۲/۲	۱۱/۷-۱۰۴	۷۵/۵۵	۱۴/۱-۱۶۶	۰/۱۱۲
متوسط و محدوده کمبود پروتئین S	۱۰۹	۸۲-۱۴۴	۸۱/۵	۲۶/۵-۱۴۵	۶۲/۶	۱۰/۷-۱۵۰	۸۵	۱۶/۴-۱۷۲	۰/۰۲
متوسط و محدوده افزایش فاکتور V لیدن	۲/۴۸	۱/۹-۳/۱	۲/۳۵	۱/۷-۲/۸	۲/۲۷	۱/۵-۳/۳	۲/۲۸۰/۶۷۹	۱/۴-۳/۱	۰/۶۷۹

## بحث

فاکتور V لیدن از روی فعالیت آن باشد که می تواند تحت تاثیر سایر عوامل باشد و یا می تواند نظیر پروتئین C و پروتئین S افزایش انعقاد پذیری بیشتری داشته باشند. خان و همکاران (۱۹۹۷) در آمریکا در مطالعه ای بر روی ۸۲ بیمار آفریقائی آمریکا تبار مبتلا به بیماری سیکل سل گزارش داده اند که فاکتور V لیدن در بروز عوارض سیکل سل نداشته و پیشنهاد مطالعه بیشتری را در این زمینه نموده اند. البته بروز فاکتور V لیدن در آن منطقه در افراد شاهد ۰/۶ درصد گزارش شده که در مقایسه گروه کنترل ما (۰/۴) بسیار پائین بوده است و نشان می دهد بروز موتاسیون ژنی فاکتور V لیدن در مناطق مختلف متفاوت بوده و در منطقه مورد مطالعه ما بیشتر بوده است (۱۳). در این مطالعه کمبود هر دو پروتئین های ضد انعقادی C و S همراه با افزایش فاکتور V لیدن با عدم مصرف هیدروکسی اوره رابطه مستقیم داشته بطوریکه از ۵ بیماری که در هر سه فاکتور مشکل داشتند، ۴ بیمار هیدروکسی اوره مصرف نکرده بودند، ولی اختلاف از نظر آماری معنی دار ( $p=0/189$ ) نبوده است. با این حال بخاطر مختل بودن هر سه فاکتور بیمارانی که اصلاً "هیدروکسی اوره مصرف نکردند شدیداً" مستعد ترومبوز می باشند (۵). متوسط پروتئین C و پروتئین S در انواع مختلف سیکل سل با اینکه در SB+ بیشتر از بقیه بوده ولی اختلاف از نظر آماری معنی دار ( $p=0/136$ )، ( $p=0/9$ ) نبوده است. در مورد فاکتور V لیدن هم به همین ترتیب در انواع مختلف سیکل سل با اینکه در SB+ بیشتر از بقیه بوده ولی اختلاف از نظر آماری معنی دار ( $p=0/911$ ) نبوده است. بین متوسط پروتئین C، پروتئین S و فاکتور V لیدن و مصرف هیدروکسی اوره اختلاف معنی داری به ترتیب ( $p=0/142$ ) ( $p=0/838$ ) ( $p=0/727$ ) وجود نداشت، با اینکه متوسط پروتئین C با مصرف هیدروکسی اوره رابطه مستقیم داشت. نظیر این مطالعه، در سال ۲۰۰۳ در ترکیه توسط کوک و همکاران برای هر دو پروتئین های ضد انعقادی C و S انجام شده که

سطح پروتئین C در ۳۵ درصد بیماران و سطح پروتئین S در ۲۴ درصد بیماران هر دو بصورت معنی داری ( $p<0/0001$ ) پائین بود است. در یک مطالعه مشابه که در توکیو در سال ۲۰۰۱ انجام شد، سطح این فاکتورها را در ۷۰ بیمار مبتلا به سیکل سل در وضعیت عادی اندازه گیری کردند. در نتیجه فاکتور V لیدن به صورت معنی دار بالا و پروتئین های ضد انعقادی C و S پائین بوده ولی از لحاظ آماری معنی دار نبوده است. نتایج این مطالعه نشان می دهد تغییرات این فاکتورها حتی در وضعیت عادی بیماری هم مشابه مطالعه ما بوده و در وضعیت حمله افت پروتئین های ضد انعقادی C و S بیشتر می باشد (۱۵،۷). فرانسیس (۱۹۸۸) در لوس آنجلس در مطالعه ای سطح پروتئین های ضد انعقادی C و S در ۲۰ بیمار مبتلا به سیکل سل را اندازه گیری نمود. سطح پروتئین S بطور معنی داری در حالت حمله و عادی پائین بوده ولی سطح پروتئین C تفاوت واضحی با گروه کنترل نداشته است که نشان می دهد بیماران سیکل سل در منطقه مورد مطالعه ما که با تعداد نمونه بیشتری بررسی شده است به علت پائین بودن بیشتر پروتئین C استعداد بیشتری برای ترومبوز دارند (۱۰). فاکتور V لیدن در ۲۷ درصد بیماران و در ۴ درصد گروه شاهد وجود داشته که اختلاف از نظر آماری معنی دار ( $p<0/0001$ ) نبوده است. کورن و همکاران (۱۹۹۹)، فاکتور V لیدن را بعنوان عامل ترومبوز های عروقی مکرر در بیماران سیکل سل با سابقه سکنه مغزی مطرح نموده اند (۱۱). رحیمی و همکاران (۲۰۰۷) در کرمانشاه روی ۶۰ بیمار مبتلا به سیکل سل با روش PCR موتاسیون ژن فاکتور V لیدن را مستقیماً بررسی نموده و با ۱۲۶ نمونه شاهد مقایسه نموده اند در نتایج، فاکتور V لیدن در ۱۴/۳ درصد بیماران SS و ۱/۶ درصد افراد شاهد وجود داشته است (۱۲). بالا بودن فاکتور V لیدن در بیماران ما می تواند ناشی از اندازه گیری



نظر باشد. در ۱۲ درصد از بیماران هر دو پروتئین های C و S کاهش داشته که در چنین مواقعی احتمال ترومبوز بیشتر می شود و در ۵۳ درصد بیماران حداقل یکی از پروتئین - های C و S کاهش داشته است از آنجایی که پروتئین S کوفاکتور پروتئین C می باشد و در صورت کمبود پروتئین S بصورت غیر مستقیم پروتئین C را هم تحت تاثیر قرار می دهد، در درصد بالایی از بیماران سیکل سل افزایش انعقاد پذیری و ترومبوز می تواند مطرح باشد.

### نتیجه گیری

در ۱۰۰ بیمار سیکل سل در حالت حمله، سطح سرمی پروتئین های C و S نسبت به ۵۰ نفر کنترل بصورت معنی داری ( $p=0/0001$ ) پائین و سطح فاکتور V لیدن بصورت معنی داری ( $p=0/001$ ) بالا بوده است که نشان دهنده افزایش انعقاد پذیری و استعداد ترومبوز در این بیماران می باشد. به نظر می رسد استفاده از داروهای ضد انعقادی برای پیشگیری و درمان ضد ترومبوز در مواقع نیاز در بیمارانی از سیکل سل که افزایش انعقاد پذیری دارند در کاهش ناتوانی های این بیماران موثر باشد. همچنین به نظر می رسد متغیر بودن نتایج استفاده از داروهای ضد انعقاد در بیماران سیکل سل بخاطر استفاده از این داروها در کل بیماران نه فقط در آنهایی که افزایش انعقاد پذیری داشته اند ناشی می شود. هیدروکسی اوره فقط در افزایش پروتئین C نقش داشته است، با اینکه از نظر آماری معنی دار ( $p=0/142$ ) نبوده است. بنابراین احتمال می رود با افزایش مقدار هیدروکسی اوره در این بیماران پروتئین C افزایش معنی داری پیدا کند. بین سطح سرمی پروتئین های C و S و فاکتور V لیدن و سابقه تزریق خون و میزان هموگلوبین F و جنس اختلاف معنی داری وجود نداشته است و از لحاظ سنی فقط پروتئین S با گروه های سنی مختلف، اختلاف معنی داری داشته است. این مقاله از مطالعه پایان نامه فوق

هر دو پروتئین با مصرف هیدروکسی اوره افزایش داشته ولی فقط بالا رفتن پروتئین C بعد از مصرف هیدروکسی اوره در آن مطالعه معنی دار بوده است (۸) که احتمالاً به بخاطر مصرف هیدروکسی اوره با دوز بالاتر می باشد. با اینکه متوسط پروتئین C و پروتئین S در کسانی که بصورت منظم خون دریافت می کردند پائین تر و متوسط فاکتور V لیدن در آنها بالاتر بوده است که علت آن می تواند در زمینه شدت بیماری باشد نه تزریق خون، ولی با این حال اختلاف بین متوسط پروتئین C، پروتئین S و فاکتور V لیدن با تزریق خون، معنی دار نبوده است. (به ترتیب  $p=0/191$ ،  $p=0/197$  و  $p=0/096$ ). و نیز بین متوسط پروتئین C، پروتئین S و فاکتور V لیدن با میزان هموگلوبین F اختلاف معنی داری نبوده است (به ترتیب  $p=0/421$ ،  $p=0/708$  و  $p=0/658$ ) و موید این فرضیه است که اولاً میزان هموگلوبین F در پیشگویی وضعیت انعقادی بیماران کمک کننده نبوده، دوماً هیدروکسی اوره بدون افزایش هموگلوبین F و مستقیماً در بالا بردن پروتئین C و پروتئین S نقش داشته است. بین متوسط پروتئین C، پروتئین S و فاکتور V لیدن با جنس، اختلاف معنی داری از نظر آماری (به ترتیب  $p=0/909$ ،  $p=0/634$  و  $p=0/989$ ) وجود نداشته است. متوسط پروتئین C با افزایش سن با اینکه از نظر آماری معنی دار نبوده ( $p=0/112$ ) ولی رابطه مستقیم داشته و این با افزایش سطح پروتئین C هر ۱۰ سال، ۴ درصد هم خوانی دارد (۱۴). متوسط پروتئین S در گروه سنی ۱۱-۱۶ سال کمتر و در گروه سنی کمتر از ۵ سال بیشتر از بقیه گروه ها بوده و اختلاف از نظر آماری معنی دار ( $p=0/02$ ) بوده است. توجهی برای این مطلب وجود نداشت و باید کمبود پروتئین S در گروه سنی ۱۱-۱۶ سال بیشتر مد نظر باشد. بین فاکتور V لیدن و گروه های سنی مختلف اختلاف معنی داری از نظر آماری ( $p=0/679$ ) وجود نداشته و در هر سنی وجود فاکتور V لیدن باید مد

تخصصی دکتر افشین فتاحی در اسفند ماه ۱۳۸۸ تهیه و تدوین شده است.

## منابع

- 1-Matthew H, Dover GJ. Sick cell disease. In: Nathan DG , Orkin SH, Ginsburg D, Thomas Look A ,Fisher DE, Lux SE. (eds). Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 7<sup>th</sup> ed. New York(NY): WB Saunders; 2009. P.949-1014.
- 2-Zandian Kh. Sick Cell first activating reports. 7<sup>th</sup> ed. Ahvaz(Iran): Research center of thalassemia and hemoglobinopathies. Ahvaz Jondishapur university of medical sciences; 2005. P.25-6.
- 3-Salvaggio JE, Arnold CA, Banov CH. Long-term anti-coagulation in sickle-cell disease. A clinical study. N Engl J Med. 1963 Jul;269:182-6. [PMID=13991207]
- 4-Chaplin H Jr, Monroe MC, Malecek AC, Morgan LK, Michael J, Murphy WA. Preliminary trial of minidose heparin prophylaxis for painful sickle cell crises. East Afr Med J.1989 Sep;66(9):574-84. [PMID=2691231]
- 5-Bauer KA. Inherited disorders of thrombosis and fibrinolysis. In: Nathan DG , Orkin SH, Ginsburg D, Thomas Look A ,Fisher DE, Lux SE. (eds). Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 7<sup>th</sup> ed. New York(NY): WB Saunders; 2009. P.1536-45.
- 6-Schnog JB, Mac Gillavry MR, van Zanten AP, Meijers JC, Rojer RA, Duits AJ, et al. Protein C and S and inflammation in sickle cell disease. Am J Hematol. 2004 May;76(1):26-32. [PMID=15114593]
- 7-Bayazit AK, Kiliç Y. Natural coagulation inhibitors (protein C, protein S, antithrombin) in patients with sickle cell anemia in a steady state. Pediatr Int. 2001 Dec;43(6):592-6. [PMID=11737735]
- 8-Koc A, Gumruk F, Gurgey A. The effect of hydroxyurea on the coagulation system in sickle cell anemia and beta-thalassemia intermedia patients: a preliminary study. Pediatr Hematol Oncol. 2003 Sep;20(6):429-34. [PMID=14631615]
- 9-Lanzkowsky Ph, lipton J, Render A, Sahdev I, Shende A. Manual of pediatric hematology and oncology. 4<sup>th</sup> ed. New York (NY): Elsevier academic press; 2005. P.346-7.
- 10-Francis RB jr. Protein S deficiency in sickle cell anemia . J lab clin Med. 1988 May;111(5): 571-6. [PMID=2966224]
- 11-Koren A, Zalman L, Levin C, Abu Hana M, Mader R, Shalev S. Venous thromboembolism, factor V Leiden, and methylenetetrahydrofolate reductase in a sickle cell anemia patient. Pediatr Hematol Oncol. 1999 Sep-Oct;16(5) : 469-72. [PMID=10505325]
- 12-Rahimi Z, Vaisi-Raygani A, Nagel RL, Muniz A. Thrombophilic mutations among Southern Iranian patients with sickle cell disease: high prevalence of factor V Leiden. J Thromb Thrombolysis. 2008 Jun;25(3):288-92. [PMID=17619828]
- 13-Kahn MJ, Scher C, Rozans M, Michaels RK, Leissinger C, Krause J. Factor V Leiden is not responsible for stroke in patients with sickling disorders and is uncommon in African Americans with sickle cell disease. Am J Hematol. 1997 Jan;54(1);12-5. [PMID=8980255]
- 14-Golafshan H. Principles of Coagulation and laboratory tests 2<sup>nd</sup> ed. Shiraz: Shiraz university of medical sciences press, 2004. p.156-61.
- 15-Westerman MP, Green D, Gilman-Sachs A, Beaman K, Freels S, Boggio L, et al. Antiphospholipid antibodies, protein C and S , and coagulation changes in sickle cell disease. J Lab Clin Med. 1999 Oct;134(4):352-62. [PMID=10521081]

## Determination of serum C and S protein and factor V leiden in sickle cell disorder in Khozestan province

Pedram M<sup>1</sup>, Keikhaei B<sup>2</sup>, Fathi A<sup>3\*</sup>, Dehuri F<sup>4</sup>

1-Professor of Pediatrics  
Hematology & Oncology

2-Associate Professor of  
Pediatrics Hematology  
& Oncology

3- Assistant Professor of  
Pediatrics Hematology &  
Oncology

4- Lab Manager

Department of Pediatric  
Hematology & Oncology,  
Research Center of Thalassemia &  
Hemoglobinopathy, Shafa  
Hospital, Ahvaz Jondishapur  
University of Medical Sciences  
Ahvaz, Iran.

\*Corresponding author:  
Department of Pediatric  
Hematology & Oncology, Boali  
Hospital, Ardabil University of  
Medical Sciences Ardabil, Iran.  
Tel: 09143516029  
Email: dr\_afathi@yahoo.com

### Abstract

**Background and Objective:** Sickle cell disease (SCD) is due to  $\beta$  chain mutation and substitution of valine for glutamic acid in sixth position, that is cause increasing polymerization and vaso-occlusion. Decrease of protein C, protein S and increase in factor V leiden activity contribute to hypercoagulation state in SCD, recently. The aim of this study was to determinate the differences of serum C & S protein and factor V leiden between sickle cell patients and control subjects.

**Subjects and Methods:** In this randomized case-control study, protein C, protein S and factor V leiden activity were measured in 100 SCD patients in crisis phase. And were compared between 50 age- gender - race- matched controls and SCD patients in, hydroxyurea intake, blood transfusion, levels of HbF, age and gender by Chi-Square and Anova statistical tests in SPSS software.

**Results:** In 100 patients 47 were males and 53 females, mean age was 20.2 (range 3-58, 1SD $\pm$  1.03). Protein C and protein S levels were significantly low (both  $P < 0.0001$ ) in 35% and 24% patient; respectively. But in controls it was not like this. Factor V leiden was increased significantly ( $P = 0.001$ ) in 27% of patient and 4% of controls. A significant ( $P = 0.02$ ) correlation was detected between protein S levels and age groups.

**Conclusion:** Protein C and protein S levels reduced and factor V leiden activity increased in SCD patients and cause hypercoagulable state in these patients.

*Sci Med J 2011; 10(3):249-259*

**Keywords:** Sickle cell disease, Protein C, Protein S, factor V leiden.

Received: Mar 13, 2010

Revised: Apr 19, 2011

Accepted: Apr 26, 2011