پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و یکم شماره ۸۱ فروردین سال ۱۳۹۰ (۹-۲)

بررسی فراوانی فاکتور V لیدن [G1691A]، پروترومبین G20210A و تغییر C667T در ژن سازنده آنزیم متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز [MTHFR] در بیماران تالاسمی ماژور و اینترمدیا مراجعه‌کننده به مرکز تحقیقات تالاسمی در مقایسه با افراد سالم در شمال ایران

سید محمد باقر هاشمی سوته[۱] آیلی علی اصغریان[۲] حسین جلالی[۳]
سیده نرگس نجاتی فرد[۴] مهرنوش کوثریان[۵] حسین کرمی[۵]

چکیده

سابقه و هدف : جهش در ژن فاکتور V لیدن (G1691A)، جهش در پروموتور پروترومبین (G20210A) و جهش C667T در ژن سازنده آنزیم متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR) از تغییرات ژنتیکی هستند که خطر ترومبوز را افزایش می‌دهند. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی سه ریسک فاکتور فوق در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور، تالاسمی اینترمدیا و مقایسه آن با افراد سالم می باشد.

مواد و روش ها : در این مطالعه ۱۶۴ نفر شامل ۵۹ بیمار تالاسمی اینترمدیا ، ۹۹ بیمار تالاسمی ماژور و ۱۰۵ فرد نرمال به عنوان گروه کنترل از شمال کشور (شهرستان ساری) مورد بررسی قرار گرفتند. پس از استخراج DNA از خون محیطی به روش استاندارد، به منظور تعیین نوع موتاسیون‌ها در هر یک از ۳ ژن مورد نظر، از دو روش PCR-RFLP و ARMS-PCR استفاده گردید و در نهایت فراوانی آلل‌ها از نظر آماری با هم مقایسه گردید.

یافته ها : فراوانی جهش G20210A در نمونه نرمال ۰/۴۸ درصد بوده است و در نمونه بررسی شده از مبتلایان به تالاسمی ماژور این تغییر دیده نشد. فراوانی آلل جهش یافته C667T (آلل T) در ژن MTHFR به ترتیب با ۲۴ درصد در افراد نرمال، ۲۶ درصد در بیماران اینترمدیا و ۱۸/۴ درصد در افراد تالاسمی ماژور دیده شد. فراوانی فاکتور V لیدن نیز در جمعیت نرمال۳/۳ درصد، در بیماران تالاسمی اینترمدیا ۱/۰۶ و در مبتلایان به تالاسمی ماژور ۰/۴۸ درصد بود.

استنتاج : نتایج این مطالعه نشان داد که علی‌رغم بالاتر بودن ریسک ترومبوز دربیماران تالاسمی (بویژه تالاسمی اینترمدیا)، میزان فراوانی ۳ ریسک فاکتور ژنتیکی بررسی شده بین افراد مبتلا به تالاسمی و افراد نرمال تفاوت معنی‌داری نداشت.

واژه‌های کلیدی: فاکتور V لیدن، پروترومبین G20210A ، متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز(MTHFR)، ترومبوز، تالاسمی

مقدمه

ترومبوز یا اصطلاحاً لخته شدن خون در بسیاری از بیماری‌ها دخیل بوده و عدم تعادل هموستازی، مکانیسمی است که در تمامی انواع آن مشاهده می‌شود. ترومبوز وریدی و شریانی یکی ازمشکلات شایع پزشکی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۱۰۶- ۸۷ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

مولف مسئول: محمدباقر هاشمی سوته- ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی E-mail: hashemisoteh@gmail.com
۱. گروه بیوشیمی، بیوفیزیک و ژنتیک، مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۲. مرکز تحقیقات تالاسمی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۳. مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۴. دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۵. گروه اطفال، مرکز تحقیقات تالاسمی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت : ۸۹/۶/۲۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۹/۷/۲۷ تاریخ تصویب : ۸۹/۱۲/۳

www.SID.ir

می‌باشد و منجر به مرگ و میر در بیماران بستری و همچنین آمبولی ریوی در آن‌ها می‌شود. ترومبوز در هر رگی دیده می‌شود ولی در عروق ساق پا شایعتر است. این بیماری از دسته بیماری‌های چند فاکتوری بوده و دو دسته عوامل محیطی و ژنتیکی در آن دخالت دارند. از عوامل محیطی موثر می توان به سن، وزن بالا، عدم تحرک به مدت طولانی، جراحی، حاملگی و سرطان اشاره کرد(۱). از مهمترین عوامل ژنتیکی موثر در ترومبوز می‌توان به دو دسته از تغییرات ژنتیکی اشاره کرد. نخست تغییراتی است که منجر به کاهش ارثی سطح پروتئین‌های آنتی‌ترومبوتیک می‌شوند (مانند نقص در آنتی ترومبین III و پروتئین‌های C و S). نقص در یکی از پروتئین‌های فوق در ۵ تا ۱۰ درصد از بیماران دارای ترومبوز وریدی دیده شده است و طیف وسیعی از جهش‌ها شناسایی شدند که منجر به تغییرات در پروتئین‌های فوق می‌شوند(۲،۱). دسته دوم تغییرات ژنتیکی بوده که منجر به افزایش ارثی سطح پروتئین‌های پروترومبوتیک می‌شوند، مانند جهش در ژن‌های فاکتور V لیدن، تغییر در ژن پروترومبین (G20210A) و افزایش جهش در ژن کد کننده آنزیم MTHFR، که می‌تواند منجر به بروز ترومبوز شود(۵-۳).

فاکتور V لیدن یکی از پروتئین‌هایی است که سبب مقاومت به پروتئین C فعال، از پروتئین‌های عمل‌کننده در انعقاد می‌شود و امروزه به عنوان شایعترین عامل وراثتی ترومبوز مطرح است. این فاکتور برای اولین بار در سال ۱۹۹۳ شناسایی شد که ناشی از جهش G1691A در این ژن است و به صورت اتوزومی غالب به ارث می رسد. در اروپا علت ۵۰ درصد از ترومبوزهای فامیلی است. افراد هتروزیگوت برای این جهش به طور نسبی ۳ تا ۱۰ برابر و افراد هموزیگوت ۵۰ تا ۱۰۰ برابر بیشتر از افراد نرمال در معرض خطرابتلا به ترومبوز وریدی قرار دارند(۸-۵). جهش در ژن پروترومبین G20210A که برای اولین بار در سال ۱۹۹۶ شرح داده شد دومین پلی‌مرفیسم شایع پروترومبیک بعد از فاکتور V است. این جهش نیز به صورت اتوزومی غالب به ارث می‌رسد و افراد هتروزیگوت به طور نسبی ۳ برابر بیشتر از افراد نرمال در معرض خطر ابتلا به ترومبوز قرار دارند(۴). متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR) آنزیمی است که در تبدیل هموسیستئین به متیونین نقش دارد. هرگونه کاهش در عملکرد این آنزیم منجر به هیپرسیستئینمی (HHC) می‌شود که از عوامل بروز ترومبوز می‌باشد. جهش شناخته شده C667T در این ژن منجر به کاهش فعالیت آنزیم و در نتیجه افزایش ریسک‌پذیری برای ابتلا به ترومبوز می‌شود(۹).

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که افراد مبتلا به تالاسمی، به ویژه تالاسمی اینتر مدیا، در مقایسه با افراد نرمال بیشتر در معرض ابتلا به ترومبوز قرار دارند و ریسک ابتلا به ترومبوز در آن دسته از بیماران که اسپلینکتومی انجام داده‌اند بسیار بیشتر است(۱۱،۱۰). حوادث ترومبولیتیک در بیماران بتاتالاسمی که ریسک فاکتورهای مشخصی مانند دیابت، ناهنجاریهای قلبی و ریوی، هیپوتیروئیدیسم، اختلالات عملکرد کبد و ترومبوسیتوزهای پس از اسپلینکتومی دارند مکرراً گزارش شده است(۱۳،۱۲). افراد مبتلا به تالاسمی اینترمدیا بیشتر در معرض اسپلینکتومی قرار دارند و ناهنجاری‌های مورفولوژیک در پلاکت‌ها که منجر به افزایش ریسک پذیری برای ترومبوز می‌شود بیشتر در آنان دیده می‌شود(۱۵،۱۴). در یک مطالعه گسترده در هفت کشور دنیا بررسی ریسک ترومبوز در بیماران تالاسمی مورد بررسی قرارگرفت. در این مطالعه شیوع ترومبوز در بیماران تالاسمی بتا ۰/۹ درصد و در بیماران اینترمدیا ۴ درصد گزارش گردید(۱۶).

ازآنجایی‌که تالاسمی یکی از بیماری‌های شایع در ایران و بویژه مازندران است و افراد مبتلا به آن در معرض خطر ترومبوز قرار دارند این مطالعه به بررسی سه ریسک فاکتور ژنتیکی دخیل در ترومبوز و مقایسه آن در سه گروه بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور، بیماران مبتلا به تالاسمی اینترمدیا و افراد نرمال در استان مازندران پرداخته است.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش ها

در این مطالعه مقطعی دو گروه از بیماران تالاسمی مراجعه‌کننده به بخش تالاسمی بیمارستان بوعلی سینای ساری و یک گروه غیر تالاسمی مورد بررسی قرار گرفتند. گروه اول ۵۹ بیمار مبتلا به تالاسمی اینترمدیا بودند که در بخش تالاسمی بیمارستان بوعلی سینای ساری دارای پرونده پزشکی بودند. تعدادی از این بیماران سابقه ترومبوز داشتند و تعدادی نیز اسپلینکتومی شده بودند و در معرض خطر ترومبوز قرار داشتند. گروه دوم شامل ۹۹ بیمار تالاسمی ماژور می‌باشد این افراد نیز در بخش تالاسمی بیمارستان بوعلی دارای پرونده پزشکی بودند همچنین گروه سوم که شامل ۱۰۴ نفر افراد سالم جامعه بوده و داوطلبانه در این مطالعه شرکت نمودند به عنوان افرادی که از نظر بیماری تالاسمی نرمال می‌باشند مورد بررسی قرار گرفتند.

استخراج DNA:

از هر یک از افراد شرکت‌کننده در این بررسی، حدود ۱۰ سی‌سی خون وریدی در لوله های حاوی ضد انعقاد EDTA تهیه گردید و تا زمان تخلیص DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس DNA با استفاده از روش استاندارد از خون محیطی استخراج گردید و با استفاده از دستگاه طیف سنج در دو طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر ازنظر میزان خلوص و غلظت (کمیت و کیفیت) مورد ارزیابی قرار گرفت. از نمونه‌های DNA مورد استفاده، رقت ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه شده و برای مطالعات بعدی در حالت انجماد نگهداری شد.

بررسی مولکولی و تعیین ژنوتیپ:

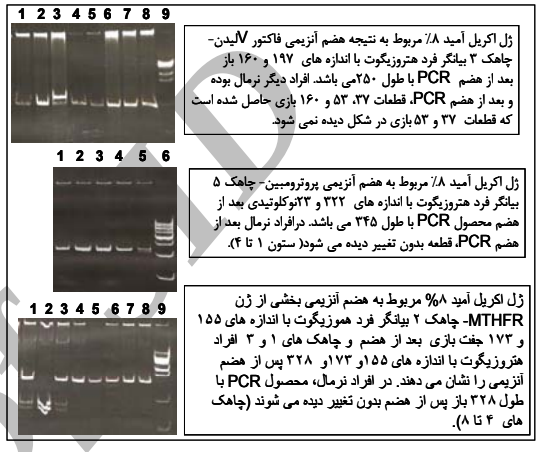
به منظور تعیین ژنوتیپ افراد مورد بررسی در این مطالعه از دو روش مختلف استفاده گردید. برای تعیین موتاسیون فاکتور V لیدن از روش ARMS-PCR استفاده شد بدین صورت که از دو پرایمر رفت اختصاصی، یک پرایمر نرمال و یک پرایمر موتانت و یک پرایمر سوم به عنوان پرایمر برگشت مشترک استفاده شد(۱۷).

یک تا دو میکرولیتر از DNA ژنومی بوسیله آنزیم DNA پلیمراز Taq(شرکت سیناژن) به شیوه زیر تکثیر یافت. ۲۴ میکرولیتر مخلوط واکنش PCR (شرکت سیناژن) در هر میکروتیوب شامل ۱۰ میلی‌مولار (تریس Ph=۸/۳) کلرید پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار، کلرید منیزیم ۱/۵ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرومول از هریک از dNTP و ۰/۲۵ نانوگرم در میکرولیتر از هریک از پرایمرهای جهش یافته یا نرمال و پرایمر مشترک، ۱ واحد از آنزیم پلی مراز Taq و نیم میکرولیتر از DNA ژنومی فرد بیمار ریخته شد. تکثیر DNA در دستگاه ترموسیکلر با شرایط زیر انجام گردید: ۹۵ درجه سانتیگراد ۵ دقیقه، سپس نمونه ها با ترتیب ۹۵ درجه سانتیگراد ۶۰ ثانیه، ۶۲ درجه سانتیگراد ۶۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۶۰ ثانیه برای ۳۵ بار تکثیر گردید و نهایتاً نمونه‌ها در سیکل نهائی در ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۵ دقیقه انکوبه شدند. برای تعیین موتاسیون‌های G20210A و C667T از روش PCR-RFLP استفاده شد. بدین صورت که در ابتدا با استفاده از دستگاه PCR و یک جفت پرایمر مخصوص هر ژن، ناحیه ای از ژنوم که حاوی ژن های مورد نظر است تکثیر گردید شرایط واکنش PCR مشابه واکنشی بود که ذکر شد و پس از اطمینان از صحت عملکرد آن با استفاده از ژل آگارز به منظور شناسایی جهش ها، محصولات PCR توسط آنزیم های محدود کننده مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند. برای شناسایی هر جهش از آنزیم محدود کننده خاص استفاده شد. بدین صورت که ۷ میکرولیتر از محصول PCR، ۰/۵ میکرولیتر از آنزیم محدود کننده، ۱/۵ میکرولیتر از بافر مخصوص هر آنزیم و ۶ میکرولیتر آب مقطر را در یک میکروتیوب ریخته و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار دادیم. به منظور شناسایی جهش G20210A از آنزیم Hind III و به منظور شناسایی جهش C667T از آنزیم Hinf I استفاده شد(۱۷). در نهایت محصولات

Archive of SID

www.SID.ir

حاصل از هضم آنزیمی بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد که حاوی ۱۰ نانوگرم در هر میلی‌لیتر اتیدیوم بروماید بودند با ولتاژ ۱۵۰ و به مدت ۵ ساعت لود شدند و با استفاده از الگوی خاصی که هر جهش ایجاد می‌کند، جهش‌ها شناسایی شدند (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره۱: تصاویر ژل الکتروفورز اکریل آمید ۸ درصد مربوط به هضم‌های آنزیمی ۳ فاکتور انعقادی مورد بررسی در این مطالعه

بررسی نتایج PCR:

پس از انجام PCR، ۱۰ میکرولیتر از محصول تکثیر یافته بر روی ژل آگارز ۱ درصد حاوی ۱۰ نانوگرم در هر میلی لیتر اتیدیوم بروماید در ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۴۰ دقیقه الکتروفورز شدند و در نهایت از ژل عکس برداری شد و مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز آماری:

فراوانی آللی با روش شمارش ژن‌ها (آلل‌ها) صورت پذیرفت. توزیع فراوانی ژنوتیپ‌ها در نمونه‌های نرمال و بیماران نیز با معادله هاردی- واینبرگ مورد بررسی قرار گرفت. بررسی معنی‌دار بودن تفاوت فراوانی آللی ژن‌های بررسی شده در گروه‌های بیماران با جمعیت نرمال، با استفاده از آزمون مربع کای (Chi-square) و نرم‌افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت و $p<0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته ها

یافته‌های حاصل از این بررسی در ۳ گروه مختلف در جدول شماره ۱ خلاصه شده است. از ۵۹ بیمار تالاسمی اینترمدیا، ۲۸ نفر مرد با میانگین سنی ۹/۴ ± ۲۸/۵ (از ۱۲ تا ۴۹ سال) و ۳۱ زن با میانگین سنی ۱۰/۷ ± ۲۸/۱ (۱۳ تا ۵۲ سال) سن داشته‌اند. در میان ۹۹ بیمار تالاسمی ماژور بررسی شده در این مطالعه، ۵۵ مرد با میانگین سنی ۶/۱ ± ۲۵/۳ (۱۵ تا ۴۱) و ۴۴ زن با میانگین سنی ۸/۳ ± ۲۶/۸ (۱۲ تا ۴۹ سال) بوده است. سن افراد گروه کنترل در دسترس نبوده است اما این افراد عمدتاً از دانشجویان و کارمندان دانشگاه علوم پزشکی مازندران و محدوده سنی ۲۰ تا ۴۰ سال بوده اند.

جهش G20210A در ژن پروترومبین در افراد مبتلا به تالاسمی اینترمدیا و تالاسمی ماژور مشاهده نگردید و میزان آن در افراد سالم، تنها یک مورد گزارش شده است (فراوانی ۴/۸ در ۱۰۰۰). همچنین بررسی فاکتور V لیدن نشان داد که ۲ نفر از ۹۸ فرد (۲/۴ درصد) مبتلا به تالاسمی ماژور برای این جهش هتروزیگوت بوده اند. در افراد مبتلا به تالاسمی اینترمدیا، ۵ نفر از ۵۹ نفر (۸/۴۷ درصد) حالت هتروزیگوت را نشان دادند. همچنین بررسی افراد نرمال نشان داد که ۳ نفر هتروزیگوت و ۲ نفر هموزیگوت (۵/۱ درصد) واجد این موتاسیون بودند. بررسی تغییر C667T در ژن MTHFR در بین ۳ گروه نشانگر فراوانی نسبتاً زیاد آن در گروه‌های بررسی شده دارد. به طوری که در ۱۰۴ فرد نرمال ۴۴ هتروزیگوت و ۳ هموزیگوت (۴۵/۱۹ درصد)، در بین ۵۹ فرد مبتلا به تالاسمی اینترمدیا ۲۱ هتروزیگوت و ۵ هموزیگوت (۴۴/۰۶ درصد) و در بین ۹۸ فرد مبتلا به تالاسمی ماژور ۲۸ هتروزیگوت و ۴ هموزیگوت (۳۲/۶درصد) برای این تغییر مشاهده گردید. فراوانی آللی برای ۳ تغییر بررسی شده در این مطالعه، بر اساس شمارش آلل‌ها و با استفاده از قانون هاردی- واینبرگ محاسبه گردید. جهش فاکتور V لیدن (آلل A) به ترتیب در جمعیت نرمال، افراد اینترمدیا و

Archive of SID

www.SID.ir

ماژور در این بررسی برابر با ۳/۳۷ درصد، ۱/۰۶ درصد و ۰/۴۸ درصد بوده است. فراوانی جهش C667T (آلل T) در جمعیت‌های نرمال، تالاسمی اینترمدیا و تالاسمی ماژور به ترتیب ۲۴ درصد، ۲۶ درصد و ۱۸/۴ درصد بدست آمده است. همچنین در این بررسی، فراوانی آلل جهش یافته A در ژن پروترومبین در افراد نرمال، تالاسمی اینترمدیا و افراد ماژور به ترتیب برابر بود با: ۰/۴۸ درصد، صفر و ۰/۵۳ درصد.

این بررسی در نهایت نشان داده است که ۴۸/۰۷ درصد از افراد نرمال، ۳۴/۶۹ درصد از بیماران تالاسمی ماژور و ۵۰/۸۴ درصد از بیماران تالاسمی اینترمدیا حداقل حامل یکی از ۳ جهش دخیل در ترومبوز می‌باشند. همچنین داشتن سابقه مثبت یا فراوانی ترومبوز در بیماران اینترمدیای مورد مطالعه در این بررسی ۶/۷۷ درصد بوده است. از بین بیماران اینترمدیا، ۲۵ نفر تحت عمل برداشتن طحال (اسپلینکتومی) قرار گرفته بودند. تنها یک بیمار اینترمدیا هم برای فاکتور V لیدن و هم برای ژن MTHFR هتروزیگوت بوده است ولی فاقد سابقه ترومبوز بوده است (جدول شماره۱).

جدول شماره ۱: تعداد افراد بررسی شده در ۳ گروه تالاسمی ماژور، تالاسمی اینترمدیا و گروه کنترل نرمال

ژنوتیپ	کنترل نرمال (تعداد)	تالاسمی اینترمدیا (تعداد)	تالاسمی ماژور (تعداد)
Factor V leiden(G1691A)	۱۰۴	۵۹	۹۸
هموزیگوت جهش یافته (AA)	۲	مشاهده نشد(۰)	مشاهده نشد(۰)
هتروزیگوت جهش یافته (GA)	۳	۵	۲
هموزیگوت سالم (GG)	۹۸	۵۴	۹۶
فراوانی آلل جهش یافته(A)(%)	۳/۳۷	۴/۲	۰/۵
Prothrombin (G20210A)	۱۰۴	۵۹	۹۸
هموزیگوت جهش یافته (AA)	مشاهده نشد(۰)	مشاهده نشد(۰)	مشاهده نشد(۰)
هتروزیگوت جهش یافته (GA)	۱	مشاهده نشد(۰)	مشاهده نشد(۰)
هموزیگوت سالم (GG)	۱۰۳	۵۹	۹۸
فراوانی آلل جهش یافته(A)(درصد)	۰/۴۸	مشاهده نشد(۰)	مشاهده نشد(۰)
MTHFR (C667T)	۱۰۴	۵۹	۹۸
هموزیگوت جهش یافته (TT)	۳	۵	۴
هتروزیگوت جهش یافته (CT)	۴۴	۲۱	۲۸
هموزیگوت سالم (CC)	۵۷	۳۳	۶۶
فراوانی آلل جهش یافته(T)(درصد)	۲۴	۲۶/۳	۱۸/۴

بحث

تحقیقات قبلی بیانگر افزایش شیوع حوادث ترومبوآمبولی در بیماران بتا تالاسمی اینترمدیا می‌باشد. بعنوان مثال در یک مطالعه در بیماران تالاسمی که به طور منظم خون دریافت نمی‌کردند شیوع ۲۹ درصد و در بیماران بتا تالاسمی ماژور که به طور منظم خون دریافت می کردند ۲ درصد گزارش شده است. این شیوع بالا بویژه در بیماران بتا تالاسمی اینترمدیا که اسپلینکتومی شده بودند بیشتر بود(۱۶). در این مطالعه هم چنین دیده شد که حوادث ترومبوآمبولی وریدی نظیر آمبولی ریوی، DVT و ترمبوز ورید پورت در بیماران تالاسمی بویژه بتا تالاسمی اینترمدیا وجود دارد.

در یک مطالعه که توسط دکتر زینلی و همکاران در سال ۱۳۷۹ در افراد سالم شهر تهران انجام شده بود، فراوانی موتاسیون های ترومبولیتیک شامل فاکتور V لیدن و تغییر G20210A در ژن پروترومبین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که شیوع افراد هتروزیگوت فاکتور V لیدن ۵/۵ درصد (شیوع آلل ۲/۷ درصد) و شیوع موتاسیون پروترومبین G20210A به صورت هتروزیگوت ۳/۱ درصد (شیوع آلل ۱/۵ درصد) می‌باشد(۱۸). در مطالعه اخیر شیوع فاکتور V لیدن در افراد نرمال به صورت هتروزیگوت کمتر از جمعیت تهران و ۲/۹ درصد و شیوع آللی آن ۳/۴ درصد بوده است. فراوانی جهش پروترومبین در این مطالعه در جمعیت مازندران در مقایسه با مطالعه تهران بسیار کمتر بوده و میزان آن ۰/۹۶ درصد و شیوع آللی آن ۰/۴۸درصد مشاهده شده است.

در مطالعه دیگری که توسط دکتر رحیمی و همکاران در سال ۱۳۸۸ در غرب ایران صورت گرفت، شیوع سه ریسک فاکتور، شامل فاکتور V لیدن، پروترومبین G20210A و متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز MTHFR(C667TA) در بیماران تالاسمی ماژور و اینترمدیا بررسی و با افراد سالم مقایسه گردید. شیوع موتاسیون پروترومبین G20210A در بیماران

Archive of SID

www.SID.ir

ماژور ۱/۳ درصد، در گروه کنترل ۳/۳ درصد و در بیماران اینترمدیا موردی مشاهده نگردید(۱۷) که مشابه با این بررسی می‌باشد. اما تغییر G20210A نسبت به جمعیت غرب کشور فراوانی به مراتب کمتری را نشان می دهد. همچنین شیوع فاکتور V لیدن در بررسی رحیمی و همکاران در بیماران تالاسمی ماژور ۵/۳ درصد و در گروه کنترل ۲/۸ درصد بدست آمد ولی در بیماران اینترمدیا این تغییر مشاهده نگردید. در حالی که در مطالعه حاضر این جهش بیشترین فراوانی را در افراد مبتلا به تالاسمی اینترمدیا داشته است و فراوانی آن در جمعیت نرمال بیشتر از جمعیت غرب کشور بوده است. این یافته با مطالعه دیگری که قبلا توسط دکتر کرمی و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی ۶۰ بیمار تالاسمی اینترمدیا در ساری انجام گرفته است همخوانی دارد. در آن مطالعه میزان افراد واجد فاکتور V لیدن ۳ درصد گزارش شده است و ارتباطی بین بروز ترومبوز با وجود نقص فاکتورهای دخیل در انعقاد در این بیماران دیده نشده است(۱۹).

در جمعیت غرب کشور شیوع پلی‌مرفیسم (C667T) در ژن MTHFR در بیماران تالاسمی ماژور ۵۰/۳ درصد، در بیماران تالاسمی اینترمدیا ۴۲/۹ درصد و در گروه کنترل ۴۸/۳ درصد گزارش شده است. این یافته‌ها در جمعیت مازندران نیز فراوانی بالا و مقادیر مشابه‌ای را نشان داده است که در مجموع نشان می‌دهد که شیوع این جهش در جمعیت ایران از فراوانی بالایی برخوردار است(۱۷). مطالعه ما نشان داد که علی‌رغم شیوع بالاتر ترومبوز در بیماران مبتلا به تالاسمی در مقایسه با افراد نرمال، از نظر فاکتورهای مورد بررسی در این مطالعه، بین افراد مبتلا و افراد سالم تفاوت معنی‌دار وجود نداشته است (p=۰/۷۲).

در یک مطالعه در سال ۱۹۹۸ در ایتالیا ریسک وقوع ترومبوز در افراد تالاسمی ماژور ۳/۹۵ درصد و در بیماران تالاسمی اینترمدیا ۹/۶۱ درصد گزارش گردید(۲۰). در این مطالعه، سوابق افراد تالاسمی اینترمدیای مورد بررسی، ریسک وقوع ترومبوز ۶/۷۷ درصدی را نشان داده است که از این جهت با مطالعه اشاره شده مشابهت دارد. در مطالعه دیگری در لبنان ۱۴ درصد از بیماران مبتلا به تالاسمی اینترمدیا برای جهش فاکتور V لیدن، هتروزیگوت گزارش شدند در حالی که در آن جمعیت ۱۲/۴ درصد از افراد نرمال برای این تغییر هتروزیگوت بوده‌اند(۲۱). در حالی که در این مطالعه، ۸/۹ درصد از بیماران اینترمدیا برای فاکتورV لیدن هتروزیگوت بودند و ۳/۸ درصد از افراد کنترل نرمال برای این تغییر هترو یا هموزیگوت بوده‌اند. در بررسی دیگری در ترکیه، میزان فراوانی فاکتور V لیدن در افراد نرمال ۶ درصد گزارش شده است که با یافته‌های این مطالعه مشابهت دارد (۲۲).

علی رغم عدم تفاوت فاکتورهای ژنتیکی موثر در ترومبوز در بیماران تالاسمی و افراد نرمال در این مطالعه، بالاتر بودن ریسک ابتلا به ترومبوز در بین بیماران تالاسمی می‌تواند ناشی از عوامل دیگری مانند اسپلینکتومی، کم خونی شدید و اختلال در عملکرد فاکتورهای انعقادی از عواملی باشند که سبب بروز بالاتر ترومبوز در بیماران تالاسمی باشند(۲۳). اگرچه یافته‌های فوق نشان می‌دهد که شیوع بالاتر ترومبوز در بیماران تالاسمی ارتباط چندانی با جهش‌های بررسی شده در این مطالعه و دخیل در ترومبوز ندارد ولی پیشنهاد می‌گردد تا افراد مبتلا به تالاسمی که واجد جهش‌های فوق می‌باشند و دارای خطر بیشتری نسبت به ترومبوز هستند از این نظر تحت مراقبت‌های بیشتری قرار گیرند.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران برای تصویب طرح و اختصاص بودجه، همچنین از بیماران تالاسمی و افراد نرمال شرکت کننده در طرح و پرسنل زحمت کش درمانگاه تالاسمی بیمارستان بوعلی سینای ساری بدلیل همکاری در طرح کمال تقدیر و تشکر خود را ابراز می‌داریم.

Archive of SID

www.SID.ir

References

1. Lane DA, Grant PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. Blood 2000; 95(5): 1517-1532.
2. Bauduer F, Lacombe D. Factor V Leiden, prothrombin 20210A, methylenetetrahydrofolate reductase 667T, and population genetics. Mol Genet Metab 2005; 86(1-2): 91-99.
3. Kraaijenhagen RA, Haverkamp D, Koopman MM, Prandoni P, Piovella F, Buller HR. Travel and risk of venous thrombosis. Lancet 2000; 356(9240): 1492-1493.
4. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. Blood 1996; 88(10): 3698-3703.
5. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. Proc Natl Acad Sci U S A 1993; 90(3): 1004-1008.
6. Juul K, Tybjaerg-Hansen A, Schnohr P, Nordestgaard BG. Factor V Leiden and the risk for venous thromboembolism in the adult Danish population. Ann Intern Med 2004; 140(5): 330-337.
7. Rosendaal FR, Koster T, Vandenbroucke JP, Reitsma PH. High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance). Blood 1995; 85(6): 1504-1508.
8. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. Nature 1994; 369(6475): 64-67.
9. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet 1995; 10(1): 111-113.
10. Sadewa AH, Sutomo SR, Hayashi C, Lee MJ, Ayaki H, et al. The C667T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene among the Indonesian Javanese population. Kobe J Med Sci 2002; 48(5-6): 137-144.
11. Taher A, Isma'eel H, Mehio G, Bignamini D, Kattamis A, Rachmilewitz EA, et al. Prevalence of thromboembolic events among 8,860 patients with thalassaemia major and intermedia in the Mediterranean area and Iran. Thromb Haemost 2006; 96(4): 488-491.
12. Belcaro G, Veller M, Nicolaides AN, Cesarone MR, Christopoulos D, DeSanctis MT, et al. Noninvasive investigations in vascular disease. St Mary's Fellows. ISVI (Italian Society for Vascular Investigations). Angiology 1998. 49(9): 673-706.
13. Isma'eel H, Arnaout MS, Shamseddeen W, Mahfouz R, Zeineh N, Jradi O, et al. Screening for inherited thrombophilia might be warranted among Eastern Mediterranean sickle-beta-0 thalassemia patients. J Thromb Thrombolysis 2006; 22(2): 121-123.
14. O'Driscoll A, Mackie IJ, Porter JB, Machin SJ. Low plasma heparin cofactor II levels in thalassaemia syndromes are corrected by chronic blood transfusion. Br J Haematol 1995; 90(1): 65-70.
15. Cappellini MD, Robbiolo L, Bottasso BM, Coppola R, Fiorelli G, Mannucci A.P. Venous thromboembolism and hypercoagulability in splenectomized patients with thalassaemia

Archive of SID

www.SID.ir

intermedia. Br J Haematol 2000; 111(2): 467-473.

16. Cappellini MD, Grespi E, Cassinerio E, Bignamini D, Fiorelli G. Coagulation and splenectomy: an overview. Ann N Y Acad Sci 2005; 1054: 317-324.
17. Rahimi Z, Ghaderi M, Nagel RL, Muniz A. Prevalence of thrombotic risk factors among beta-thalassemia patients from Western Iran. J Thromb Thrombolysis 2008; 26(3): 229-233.
18. Zeinali S, Duca F, Zarbakhsh B, Tagliabue L, Mannucci PM. Thrombophilic mutations in Iran. Thombosis and Haemostasis 2000; 83(2): 351-352.
19. Karami H, Vahidshahi K, Kowsarian M, Karami H, Shahmohamadi S, Dabirian M, et al. Assessment of Coagulation State and its Related Factors in Thalassemia Intermedia Patients Referred to Thalassemia Research Center at Booali Sina Hospital Sari/IR Iran in 2007. Pak J Biol Sci 2010; 13: 448-451.
20. Borgna Pignatti C, Carnelli V, Caruso V, Dore F, De Mattia D, Di Palma A, et al. Thromboembolic events in beta thalassemia major: an Italian multicenter study. Acta Haematol 1998; 99(2): 76-79.
21. Eroglu A, Akar N. Factor V Leiden, prothrombin G20210A and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphisms and the risk of tamoxifen-associated thromboembolism in breast cancer patients. Thrombosis Research 2011; 127(4): 384-385.
22. Zalloua PA, Shbaklo H, Mourad YA, Koussa S, Taher A. Incidence of thromboembolic events in Lebanese thalassemia intermedia patients. Thromb Haemost 2003; 89(4): 767-768.
23. Eldor A, Durst R, Hy-Am E, Goldfarb A, Gillis S, Rachmilewitz EA, et al. A chronic hypercoagulable state in patients with beta-thalassaemia major is already present in childhood. Br J Haematol 1999; 107(4): 739-746.

Archive of SID

www.SID.ir