

# خون

فصلنامه علمی تحقیقاتی

دوره ۸ شماره ۱ بهار (۹۰-۱)

مقاله پژوهشی

## سطح پروتئین‌های ضد انعقادی طبیعی و مقاومت به پروتئین C فعال در بیماران مبتلا به ترومبوآمبولی سیاهرگی مراجعه کننده به سازمان انتقال خون ایران، تهران

مینو احمدی نژاد<sup>۱</sup>، علی رجبی<sup>۲</sup>، داوود بشاش<sup>۳</sup>، سیما ذوالقدری انارکی<sup>۴</sup>، کامران عطاردی<sup>۵</sup>، سید محمد رضا طباطبائی<sup>۶</sup>، سیده لادن سید مرتابض<sup>۷</sup>، سمية رن بلوج<sup>۸</sup>، صدیقه امینی کافی آباد<sup>۹</sup>، حسن ابوالقاسمی<sup>۱۰</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

کمبود آنتی ترومبوین (AT)، پروتئین C (PC) و پروتئین S (PS) و نیز مقاومت به پروتئین C (APC-R) از مهم‌ترین علل ارثی ترومبوآمبولی سیاهرگی (VTE) هستند. با توجه به کمبود مطالعه‌ها درخصوص شیوع نقایص پروتئین‌های ضد انعقادی طبیعی در بیماران مبتلا به ترومبوز در ایران، هدف از این پژوهش بررسی فراوانی اختلالات عوامل یاد شده در گروهی از بیماران ایرانی مبتلا به VTE بود.

#### مواد و روش‌ها

پژوهش از نوع توصیفی و گذشته‌نگر بود. نمونه‌گیری به روش آسان از ۷۴۳ بیمار با نشانه‌های VTE مراجعه کننده به آزمایشگاه مرجع انعقاد سازمان انتقال خون ایران طی سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ انجام شد. پس از حذف بیماران با تاریخچه ترومبوفیلی اکتسابی، فعالیت AT، PC، PS و APC-R در ۴۰۴ بیمار بررسی شد. مقایسه نتایج این پژوهش با پژوهش‌های دیگر جوامع با آزمون Z انجام شد.

#### یافته‌ها

۳۶۹ بیمار (۹۱/۳٪) مبتلا به DVT، ۶۳ بیمار (۱۵/۶٪) آمبولی ریوی و ۹ بیمار (۲/۲٪) به ترومبوز در دیگر نواحی بدن بودند. در ۳۹ بیمار (۹/۶٪) دو نوع ترومبوز به طور هم زمان وجود داشت. کمبود PS در ۹۲ بیمار (۲۲/۸٪)، APC-R در ۴۴ بیمار (۱۰/۹٪)، کمبود PC در ۲۷ بیمار (۶/۷٪)، کمبود AT در ۲۱ بیمار (۵/۲٪) و کمبودهای مرکب در ۳۶ بیمار (۸/۹٪) یافت گردید.

#### نتیجه‌گیری

کمبود PS و پس از آن APC-R شایع‌ترین نقایص ارثی در بیماران مورد مطالعه بودند. یافته‌های این پژوهش هم خوانی بیشتری با پژوهش‌های انجام شده در کشورهای آسیایی نسبت به مطالعه‌های اروپایی - آمریکایی داشت. مطالعه‌های جامع‌تری جهت اثبات فراوانی بالای کمبود پروتئین S در جامعه بیماران ایرانی لازم است.

**کلمات کلیدی:** ترومبوآمبولی سیاهرگی، ترومبوز سیاهرگ عمقی، آمبولی ریوی، آنتی ترومبوین، پروتئین C، پروتئین S، مقاومت به پروتئین C فعال

تاریخ دریافت: ۱۹/۶/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۹/۱۰/۱

- ۱- مؤلف مسؤول: متخصص آسیب‌شناسی بالینی و تشریحی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران - تهران - صندوق پستی: ۱۴۶۶۵-۱۱۵۷
- ۲- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون - دانشگاه تربیت مدرس
- ۳- هماتولوژی و بانک خون - دانشگاه علوم پزشکی تهران PhD
- ۴- متخصص آسیب‌شناسی بالینی و تشریحی - استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
- ۵- دانشجوی PhD هماتولوژی و بانک خون - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و دانشگاه تربیت مدرس
- ۶- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
- ۷- کارشناس بیولوژی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
- ۸- کاردان علوم آزمایشگاهی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
- ۹- متخصص آسیب‌شناسی بالینی و تشریحی - استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
- ۱۰- فوق تخصص خون و انکولوژی کودکان - استاد مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ما... اعظم

وجود یک جهش Arg506Gln در فاکتور ۵ انعقادی که محل اثر APC می‌باشد، سبب ایجاد مقاومت به پروتئین C فعال می‌شود<sup>(۴)</sup>. APC-R معمول‌ترین نقص ارثی انعقادی در دنیا می‌باشد که تاکنون شناسایی شده است، با این حال، APC-R نسبت به کمبود پروتئین‌های C، S و AT با خطر پایین‌تر ترومبوز همراه است و نشانه‌های ترومبوزی مربوط به آن هم به طور معمول کم خطرتر است<sup>(۱۰، ۱۱)</sup><sup>(۵)</sup>.

هدف از این پژوهش، بررسی میزان شیوع نفایص ارثی پروتئین‌های ضد انعقادی طبیعی C، S، AT و همچنین مقاومت به پروتئین C فعال در بیماران مبتلا به ترومبوآمبولی سیاه‌رگی مراجعه کننده به بخش انعقاد سازمان انتقال خون ایران و ارزیابی اهمیت سنجش این نفایص به عنوان آزمون‌های غربالگری ترومبوز در این بیماران بوده است.

### مواد و روش‌ها

مطالعه از نوع توصیفی- گذشته‌نگر (*-descriptive retrospective*) بود. نمونه‌گیری به روش آسان (convenience sampling) بر روی ۲۲۰۰ بیمار که در مدت ۲ سال طی سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ به آزمایشگاه مرکز انعقاد سازمان انتقال خون ایران به منظور غربالگری آزمون‌های ترومبوفیلی مراجعه کرده بودند، انجام شد. هم زمان با جمع‌آوری نمونه، اطلاعات بالینی بیماران به صورت شرح حال‌گیری به دست آمد. بنابراین علت مراجعه و تشخیص بیماران و همچنین انتخاب بیماران مبتلا به ترومبوزهای سیاه‌رگی، از روی فرم‌های شرح حال مد نظر قرار گرفت. لازم به ذکر است که بر این اساس، ممکن است اطلاعات بالینی، تشخیص و همچنین وضعیت داروهای ضد انعقاد مصرفی بیمار به علت عدم اطلاع کافی بیمار و همراه وی (در مورد بیماران بستری در بیمارستان)، متفاوت از وضعیت بالینی واقعی بیماران بوده باشد، برای نمونه احتمال دارد که تعداد موارد ترومبوفیلی اکتسابی واقعی بیشتر از موارد به دست آمده در این پرسشنامه‌ها باشد.

در بیماران مراجعه کننده، میزان فعالیت پروتئین‌های C و AT و همچنین APC-R بر اساس درخواست پزشک معالج اندازه‌گیری شد. از میان جامعه اولیه، ۷۴۳ بیمار مبتلا

ترومبوآمبولی سیاه‌رگی (Venous Thromboembolism, VTE) سومین ناهنجاری شایع عروقی در دنیا پس از نارسایی ایسکمیک قلبی و سکته‌های مغزی (Stroke/CVA) محسوب می‌شود<sup>(۲، ۱)</sup>. VTE به طور معمول با ترومبوز سیاه‌رگ عمقی (Deep Vein Thrombosis, DVT) و در (Pulmonary Embolism, PE) درجه بعدی با آمبولی ریوی (Pulmonary Embolism, PE) دریافت می‌شود<sup>(۳)</sup>. در ۹۰٪ ترومبوز سیاه‌رگی در دیگر نواحی بدن مانند احشا (عروق شکمی، کبد، کلیه)، مغز و چشم (Thrombosis at Unusual Sites, TUS) بسیار کمیاب است<sup>(۴)</sup>. عوامل خطر برای بروز VTE به دو دسته ارثی و اکتسابی تقسیم می‌شوند که کمبود آنتی‌ترومیلن (Anti-thrombin, AT), کمبود پروتئین‌های C (Protein C, PC), S (Protein S, PS) و مقاومت به پروتئین C (Activated Protein C, APC-R) جزو مهم‌ترین عوامل ارثی محسوب می‌شوند<sup>(۵)</sup>.

AT یک بازدارنده سرین‌پروتئازی (سرپین) است که ترومیلن و فاکتور ۱۰ فعال انعقادی و به میزان کمتری، دیگر فاکتورهای انعقادی مانند فاکتور ۹، ۱۱ و ۱۲ فعال را غیرفعال می‌کند و مانع از انعقاد خون می‌شود. بیماران مبتلا به کمبود AT استعداد بالایی برای ابتلا به ترومبوز به ویژه ترومبوز سیاه‌رگی دارند که بیشتر به صورت DVT در پاهای و PE ظاهر می‌شود، اما گاهی ترومبوز در نواحی غیرمعمول (TUS) مانند سیاه‌رگ‌های سینوس مغزی، مزانتر، پورتال کبدی، کلیوی و شبکیه هم رخ می‌دهد<sup>(۶)</sup>.

پروتئین‌های C و S از پروتئین‌های ضد انعقادی وابسته به ویتامین K هستند. PC در شکل فعال خود (Activated Protein C, APC) سبب غیر فعال کردن عوامل فعال انعقادی ۵ و ۸ با شکافت پروتئین کافت (پروتولیتیک) آن‌ها می‌شود و PS نقش عامل همراه را برای APC در غیر فعال سازی عوامل فعال ۵ و ۸ انعقادی ایفا می‌کند<sup>(۷)</sup>. بیماران مبتلا به کمبودهای شدید PC و PS به طور معمول دچار پورپورای برق‌آسا در دوره نوزادی می‌شوند و افراد مبتلا به کمبود خفیف این دو پروتئین دارای افزایش استعداد به ترومبوزهای وریدی، به ویژه DVT و PE و به طور نادرتری TUS هستند<sup>(۸)</sup>.

پس از این بررسی‌ها، برای مقایسه فراوانی کمبود پروتئین‌های C، S و AT و نیز APC-R در جمعیت ایرانی این پژوهش با دیگر جمعیت‌ها، از آزمون آماری مقایسه نسبت‌ها(Z-test) استفاده شد. با سطح اطمینان ۹۵ درصد، عدد Z در خارج از دامنه  $-1/96$  تا  $+1/96$  به عنوان تفاوت معنی‌دار دو نسبت درنظر گرفته شد.

### یافته‌ها

از میان ۲۲۰۰ بیمار مراجعه‌کننده به منظور بررسی و غربال آزمون‌های ترومبوفیلی، در مجموع ۴۰۴ بیمار مبتلا به ترومبوزهای سیاه‌رگی DVT، PE و TUS که واجد شرایط مناسب بودند، انتخاب و بررسی‌ها بر روی این بیماران ادامه داده شد. بیماران TUS شامل بیماران مبتلا به ترومبوز سیاه‌رگ پورتال(PVT)، ترومبوز سیاه‌رگ کلیه (RVT) و ترومبوز سینوس مغزی (BST) بودند. دامنه سنی بیماران مبتلا به VTE بسیار گسترده و از یک ماه تا ۹۰ سال و متوسط سن بیماران مونث  $37 \pm 14$  سال(دامنه یک ماه تا ۷۴ سال) و بیماران مذکور  $14 \pm 39$  سال(دامنه ۱-۹۰ سال) بود. در کل از ۴۰۴ بیمار مبتلا، تعداد ۲۰۸ بیمار (۵۱/۵٪) مذکور و ۱۹۶ بیمار (۴۸/۵٪) مونث بودند.

هم‌چنین در مجموع، ۳۶۹ بیمار(۹۱/۳٪) DVT، ۶۳ بیمار(۱۵/۶٪) PE و ۹ بیمار(۲/۲٪) مبتلا به TUS بودند که در بین این بیماران، ۳۹ بیمار(۹/۶٪) دارای دو نوع ترومبوز(DVT) بودند(جدول ۱). لازم به ذکر است که در ۲ بیمار (TUS) بودند(جدول ۱). سنجش فعالیت پروتئین‌های C و PE به همراه TUS یا Clot و یا PE ترومبوز مشخص نبود(در جدول با نام ناشناخته مشخص شده است) و در پرسشنامه‌های این بیماران صرفاً نام ترومبوز بدون ذکر مکان آن درج شده بود.

از ۴۰۴ بیمار مبتلا به ترومبوزهای سیاه‌رگی، کمبودهای PC، PS، AT و نقش APC-R در ۱۸۴ بیمار(۴۵/۵٪) به صورت نقش منفرد و یا ترکیبی یافت گردید. فراوانی کمبود پروتئین‌های ضد انعقادی طبیعی و APC-R در بیماران مبتلا به ترومبوزهای مختلف سیاه‌رگی و درصد آن‌ها در کل بیماران VTE در جدول ۲ خلاصه شده است. لازم به ذکر است که سطح پایه PS در آقایان بیشتر از خانم‌ها تعریف شده است.

به ترومبوزهای سیاه‌رگی(DVT، PE و TUS) انتخاب گردیدند. سپس بیمارانی که در زمان مراجعته باردار بودند و یا حداقل ۶ هفته از زایمان و یا ابتلای آن‌ها به ترومبوز حاد گذشته بود و نیز بیماران مبتلا به بدخيیمی و یا تحت درمان با داروهای ضد انعقادی از مطالعه حذف شدند تا احتمال وجود موارد اکتسابی و کاذب در کاهش پروتئین‌های ضد انعقاد طبیعی به حداقل برسد. پس از حذف این موارد، بررسی‌ها بر روی ۴۰۴ بیمار ادامه داده شد.

نمونه‌های بیماران در لوله‌های Vacutainer از شرکت انگلستان(BD Vacutainer System) که محتوى ضد انعقاد تری سیترات سدیم  $10.9 \text{ مولار} / (2/3)$  به صورت محلول بودند، به نسبت ۹ حجم خون به یک حجم ضد انعقاد جمع‌آوری و حداقل تا ۳ ساعت به بخش انعقاد منتقل و پلاسمای بیماران با دور  $2500 \text{ g}$  به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. نمونه‌های بیماران در سانتریفوژهای بدون یخچال ۲ بار سانتریفوژ شدند تا پلاسمای بدون پلاکت به دست آید. سپس نمونه‌های پلاسمای در دمای  $-70^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد ذخیره و بین ۳ روز و حداقل یک هفته مورد آزمون‌های پانل ترومبوفیلی قرار گرفتند.

آزمون‌های اندازه‌گیری فعالیت پروتئین‌های C، S و AT و هم‌چنین فعالیت APC-R با استفاده از کیت‌های شرکت استناگو فرانسه انجام شد. سنجش فعالیت پروتئین‌های C و S و نیز APC-R بر پایه بررسی لختگی پلاسما(Clot based)، و سنجش فعالیت AT بر پایه بررسی رنگ‌زاوی (chromogenic) بود که در روش اخیر، شدت رنگ ایجاد شده با میزان فعالیت AT پلاسما نسبت عکس داشت.

میزان طبیعی فعالیت PC بر پایه کیت استناگو، بین  $130\text{-}70\%$ ، فعالیت PS برای خانم‌ها بین  $123\text{-}55\%$  و برای آقایان بین  $143\text{-}77\%$ ، فعالیت AT بین  $120\text{-}80\%$  و APC-R بیشتر یا مساوی ۱۲۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شد. بنابراین مقداری کمتر از این اعداد غیر طبیعی و یا کمبود به حساب می‌آمد، به جز در مورد AT که سطح فعالیت زیر  $75\%$  غیر طبیعی در نظر گرفته می‌شد و علت آن اختلاف بین منابع مختلف در مورد cut off آنتی ترومبوین بود.

جدول ۱: درصد فراوانی بیماران مبتلا به ترومبوزهای مختلف سیاهرگی بر حسب جنس

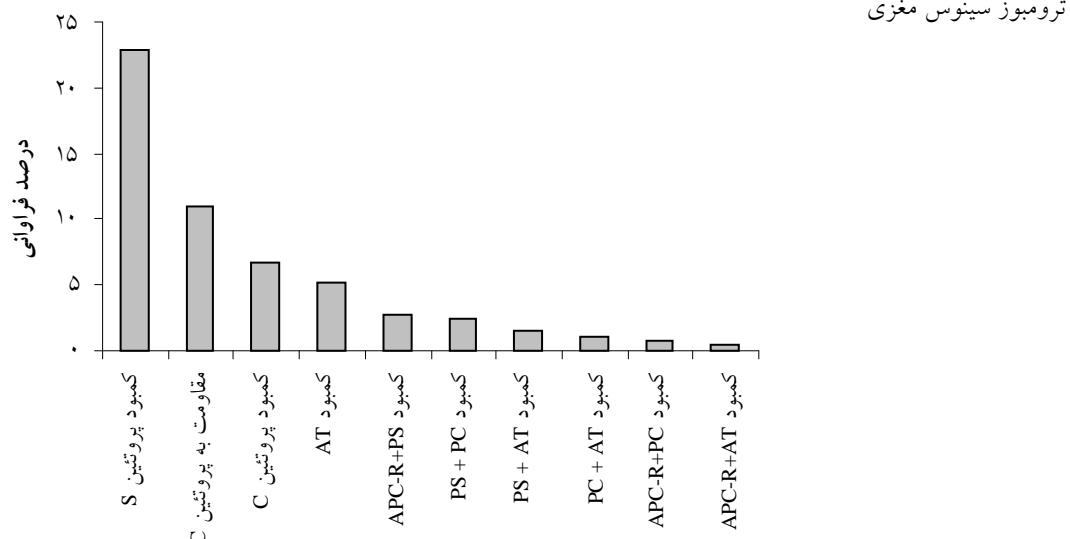
نashناخته	BST	PE + RVT	DVT + PVT	PVT	DVT + PE	PE	DVT	محل ترومبوز <sup>(۱)</sup> جنس
۱ (۰/۲)	۱ (۰/۲)	.	۱ (۰/۲)	۳ (۰/۷)	۱۹ (۴/۷)	۱۱ (۲/۷)	۱۷۲ (۴۲/۶)	مذکور
۱ (۰/۲)	.	۱ (۰/۲)	.	۳ (۰/۷)	۱۸ (۴/۴)	۱۴ (۳/۵)	۱۵۹ (۳۹/۴)	مؤنث
۲ (۰/۵)	۱ (۰/۲)	۱ (۰/۲)	۱ (۰/۲)	۶ (۱/۵)	۳۷ (۹/۲)	۲۵ (۶/۲)	۳۳۱ (۸۱/۹)	مجموع

(۱) DVT: ترومبوز سیاهرگ عمقی، PE: آمبولی ریوی، PVT: ترومبوز سیاهرگ پورتال، RVT: ترومبوز سیاهرگ کلیوی و BST: ترومبوز سینوس مغزی

جدول ۲: درصد فراوانی شیوع نقایص ضدانعقادی و APC-R در ۴۰۴ بیمار مبتلا به ترومبوز سیاهرگی

APC-R	کمبود AT	کمبود PS در خانم‌ها	کمبود PS در آقایان	کمبود PC	ترومبوز <sup>(۱)</sup>
(۸/۷) ۳۵	(۳) ۱۲	(۴/۴) ۱۸	(۱۴/۸) ۶۰	(۴/۴) ۱۸	DVT
(۰/۷) ۳	(۱) ۴	(۰/۲) ۱	(۰/۷) ۳	(۰/۷) ۳	PE
(۱/۲) ۵	(۰/۷) ۳	(۰/۲) ۱	(۱/۲) ۵	(۰/۷) ۳	DVT + PE
(۰/۲) ۱	(۰/۵) ۲	(۰/۲) ۱	(۰/۵) ۲	(۰/۵) ۲	PVT
.	.	.	.	.	DVT + PVT
.	.	.	.	.	PE + RVT
.	.	.	(۰/۲) ۱	.	BST
.	.	.	.	(۰/۲) ۱	ناشناخته
(۱۰/۹) ۴۴	(۵/۲) ۲۱	(۵/۲) ۲۱	(۱۷/۶) ۷۱	(۶/۷) ۲۷	مجموع

(۱) DVT: ترومبوز سیاهرگ عمقی، PE: آمبولی ریوی، PVT: ترومبوز سیاهرگ پورتال، RVT: ترومبوز سیاهرگ کلیوی و BST: ترومبوز سینوس مغزی



نمودار ۱: توزیع فراوانی نقایص ارثی پروتئین‌های ضد انعقادی طبیعی، APC-R و نقایص ترکیبی آنها در بیماران VTE

مطالعه حاضر، بیشترین کمبود پروتئین ضدانعقادی مربوط به کمبود پروتئین S با شیوع ۲۲/۸٪ و سپس در جایگاه دوم APC-R با شیوع ۱۰/۹٪ بوده است. کمبود PC با شیوع ۷/۶٪ و AT با شیوع ۵/۵٪ کمترین فراوانی را در بیماران داشتند.

کمبود PS در هر سه گروه از بیماران ترومبوز سیاهرگی (TUS، PE و DVT) نیز بالاترین شیوع را دارا بود اما در این میان، بیماران TUS به طور تعجب برانگیزی دارای الگوی شیوع متفاوتی از کمبودهای ضد انعقادی در مقایسه با بیماران DVT و PE بودند، به طوری که کمبود PS با شیوع ۴۴/۴٪ بالاترین شیوع را داشت و کمبودهای PC و AT هر کدام با ۲۲/۲٪ و APC-R با ۱۱/۱٪ در جایگاه‌های بعدی قرار می‌گرفتند. گزارش‌های اندک ولی متفاوتی که در دنیا بر روی شیوع نقایص ارشی پروتئین‌های ضد انعقادی در بیماران مبتلا به TUS در دسترس می‌باشد، گویای این است که شیوع کمبود این ضد انعقادها در بیماران TUS بستگی به نوع، محل ترومبوز و نیز سن فرد مبتلا دارد(۱۳، ۱۵). با این حال در یک مطالعه در سال ۲۰۰۰ توسط اگسل و همکاران او در ترکیه بر روی بیمار مبتلا به ترومبوز سیاهرگ پورتال(PVT)، یافته‌های مشابه یافته‌های این پژوهش گزارش شده است، به طوری که کمبود PS در ۴۳/۵٪، APC-R در ۳۰/۵٪، PC در ۲۶٪ و AT در ۲۲٪ بیماران دیده شده است(۱۶). با این حال به نظر می‌رسد که به دلیل تعداد بسیار کم بیماران در TUS در پژوهش حاضر(۹) بیمار، این الگو چندان قابل اعتماد نمی‌باشد و احتمال افزایش کاذب در فراوانی کمبودهای ضد انعقادی و ترومبوفیلی ارشی در این بیماران وجود دارد. بنابراین برای تایید یا رد این الگو در بیماران دارای ترومبوزهای غیرمعمول (TUS)، لازم است که مطالعات گسترده‌تری با حجم بیشتر نمونه‌ها به همراه شرح حال دقیق‌تر بیماران انجام شود.

در مطالعه‌های مختلف درباره شیوع کمبودهای ضد انعقادهای طبیعی در بیماران VTE در کشورهای آسیایی، در بیشتر موارد کمبود PS شایع‌ترین نقش ارشی بوده است: چین ۱۱/۵٪، تایوان ۳۲/۹٪، ژاپن ۲۸/۳٪، کویت ۱۶/۸٪، سعودی ۱۴/۵٪ و ترکیه ۱۳/۵٪ (۲۲-۱۷). این موضوع با

هم‌چنین از مجموع بیماران ۳۶ بیماران (۸/۹٪) دارای کمبودهای هم زمان دو عامل بودند: ۱۱ بیمار (۲/۷٪) کمبود هم زمان PS+APC-R، ۱۰ بیمار (۲/۵٪) کمبود PC+PS، ۶ بیمار (۱/۵٪) کمبود PS+AT، ۴ بیمار (۱/۱٪) کمبود PC+AT و ۳ بیمار (۰/۷٪) کمبود PC+APC-R داشتند(نمودار ۱).

## بحث

تاکنون مطالعه جامعی در مورد شیوع نقایص پروتئین‌های ضد انعقادی ارشی در بیماران مبتلا به ترومبوز سیاهرگی در ایران انجام نشده است. هدف از این پژوهش بررسی میزان شیوع کمبود یا نقص پروتئین‌های ضد انعقادی طبیعی (AT، PS، PC) و مقاومت به PC فعال(APC-R) در بیماران VTE بود.

VTE به طور معمول با نشانه‌های بالینی DVT در اندام تحتانی و یا آمبولی ریوی ظاهر می‌کند. ترومبوز سیاهرگی در نواحی غیر معمول مانند سیاهرگ‌های مغزی، احشایی، شبکیه، پورتال و کبدی، مزانتر و کلیه بسیار کمیاب است(۱۲، ۱۳). یافته‌های این پژوهش نیز با مطالعه‌های پیشین هم خوانی دارد. در این تحقیق، بیماران مبتلا به DVT به تنهایی، ۳۳۱ مورد(۸۱/۹٪)، بیماران PE به تنهایی ۲۵ مورد(۶/۲٪)، بیماران مبتلا به DVT و PE با یکدیگر ۳۷ مورد(۹/۲٪) و بیماران مبتلا به TUS ۹ مورد(۲/۲٪) بودند که در این میان ترومبوز سیاهرگ پورتال با ۷ مورد(۱/۷٪) بیشترین فراوانی را در این گروه دارا بود و ترومبوز سیاهرگ کلیه و سینوس مغزی هر کدام یک مورد(۰/۲٪) را شامل می‌شدند.

آمبولی ریوی خطرناک‌ترین شکل VTE است که گستره آن از نوع بدون علامت تا نوع حاد و کشنده متفاوت می‌باشد(۱۴). این یافته با گزارش‌های پیشین دیگر که بیانگر موارد زیاد آمبولی ریوی در پی اندام تحتانی می‌باشد، هم خوانی دارد. با این حال، در این مطالعه‌ها شواهد وجود DVT در پیشینه بیماران PE، به طور متوسط حدود ۷۹٪ ذکر شده بود(۵).

در این پژوهش، چهار عامل مهم دخیل در ترومبوز ارشی مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی در بیماران VTE در

۱۸٪ گزارش کرده‌اند؛ آمریکا ۱۸/۸٪، هلند ۱۸٪ و ایتالیا ۴۸٪، که شیوع بسیار بالای APC-R در بیماران ایتالیایی یافته‌ای جالب توجه است (۲۶-۲۴).

در مطالعه حاضر، شیوع APC-R در بیماران VTE به طور متوسط ۱۰/۹٪ به دست آمد که در مقایسه با مطالعه‌های اروپایی - آمریکایی، اختلاف معناداری را نشان می‌دهد ( $Z=0.9/5$ ). هم چنین مطالعه‌های اروپایی - آمریکایی، شیوع کمبود هر سه پروتئین ضد انعقادی طبیعی (PS، PC و AT) را در بیماران VTE بسیار پایین (۵٪-۱٪) گزارش کرده‌اند.

مطالعه‌های یاد شده نشان می‌دهند که الگوی شیوع ترومبوفیلی‌های ارشی در بیماران ترومبوز سیاه‌گی آسیایی تبار با بیماران نژاد اروپایی یا آمریکایی متفاوت است، به طوری که در بیماران آسیایی از جمله ایران، چین، ژاپن، عربستان و کویت، به استثنای یک مطالعه ایرانی (کاظمی و همکاران)، کمبود PS شایع‌ترین کمبود ضد انعقادی محسوب می‌شود ولی در جمعیت اروپایی - آمریکایی، APC-R شایع‌تر است و کمبود پروتئین‌های ضد انعقادی طبیعی C، S و AT شیوع ناچیزی دارد.

با توجه به مطالعه‌های گوناگون انجام‌شده در جمعیت‌های مختلف بر روی فراوانی پروتئین‌های ضد انعقادی طبیعی و APC-R و نتایج بسیار مختلف به دست آمده، احتمال دارد که افزون بر دلایل جغرافیایی و نژادی، معیارهای متفاوت در انتخاب بیماران، محدودیت‌های مطالعه‌ها، سن، جنس و نیز تعداد متفاوت بیماران، و هم چنین تفاوت‌های ژنتیکی علت ایجاد این اختلاف بسیار زیاد باشند.

در این پژوهش، تشخیص بیماران VTE بر پایه پرسش نامه‌هایی بوده که هم‌زمان با نمونه‌گیری از بیماران اخذ می‌شد. بنابراین احتمال این که این پرسش‌نامه‌ها به طور دقیق تکمیل نشده و یا به دلیل عدم اطلاع کافی بیمار، مواردی مانند نوع ترومبوز و بیماری همراه و یا داروهای مصرفی وی و به طور کلی وضعیت بالینی بیمار در پرسش‌نامه‌ها به درستی ذکر نشده باشد، وجود دارد. هم چنین با توجه به گذشته‌نگر بودن مطالعه، نتایج جمع‌آوری شده بر اساس اطلاعات موجود در بخش انعقاد بوده است و لذا سایر

پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد اما با وجودی که در همه این جوامع کمبود PS شایع‌ترین کمبود ارشی ضد انعقادی گزارش شده است، بررسی نسبت فراوانی در این جوامع با پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تفاوت کمبود PS در این مطالعه با مطالعه‌های چین ( $Z=2/35$ ، تایوان ( $Z=1/965$ ) و عربستان سعودی ( $Z=2/3$ ) اختلاف معنی‌داری دارد. با این حال اختلاف میان این پژوهش با پژوهش‌های انجام شده در ژاپن ( $Z=1/16$ ، کویت ( $Z=1/68$ ) و ترکیه ( $Z=1/3$ ) در مورد شیوع کمبود PS معنی‌دار نمی‌باشد (۲۲-۲۶).

در مطالعه کاظمی و همکاران در سال ۱۳۸۱ (۲۰۰۲) بر روی ۳۰۰ بیمار تهرانی مبتلا به ترومبوزهای رگی گوناگون، کمبود PC در ۲۵/۷٪ بیماران گزارش گردید که شایع‌ترین کمبود ضد انعقادی بود. این گزارش با پژوهش حاضر که شیوع کلی PC را ۶/۷٪ به دست آورده است، اختلاف بسیار زیادی دارد ( $Z=7/22$ ). با این که میزان شیوع در صدی کمبود PC در بیماران TUS در مطالعه حاضر، با گزارش کاظمی و همکاران هم‌خوانی زیادی دارد ( $Z=0/2$ ، اما به دلیل تعداد بسیار کم بیماران TUS در مطالعه حاضر و نیز مشخص نبودن مکان و نوع ترومبوز (سیاه‌گی یا سرخ‌رگی) در مطالعه کاظمی و همکاران، این مقایسه قابل اعتماد نمی‌باشد. هم چنین در مطالعه یاد شده، کمبود PS در ۱۳٪ موارد گزارش شده بود که با نتایج پژوهش حاضر ( $Z=22/8$ ) اختلاف قابل توجهی دارد ( $Z=3/3$ ). کمبود AT نیز در ۳/۲٪ موارد دیده شد که با شیوع ۵/۲ در صدی در پژوهش حاضر اختلاف معنی‌داری ندارد ( $Z=1/9$ ). (۲۳).

به نظر می‌رسد که الگوی شایع‌ترین نقص ضد انعقادی طبیعی (PS) در بیماران آسیایی مبتلا به ترومبوز سیاه‌گی تا حدودی مشابه باشد. با این حال گزارش کاظمی و همکاران بر روی بیماران تهرانی این الگو را نشان نمی‌دهد. هم چنین به نظر می‌رسد که APC-R (دومین نقص ارشی شایع در این پژوهش) در بیماران VTE ایرانی شایع‌تر از دیگر جمعیت‌های آسیایی باشد (۱۰/۹٪ در برابر ۵/۴٪-۲/۲٪). (۲۳).

پژوهش‌های اروپایی و آمریکایی، APC-R و یا عامل ۵ لیدن را شایع‌ترین ترومبوفیلی ارشی با شیوع حدود ۲۱٪-

مورد - شاهدی(case - control) و اخذ شرح حال دقیق تر بیماران مبتلا به ترموبوزهای گوناگون همراه گردد تا واقعی بودن الگوی به دست آمده در این پژوهش تایید و یا رد شود و همچنین ارزیابی دقیق تر این ناهنجاری‌ها در جهت کترول و بهبود روند تشخیص و درمان این بیماران فراهم گردد.

### تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان مقاله بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از دکتر مهتاب مقصودلو به خاطر مشاوره آماری این نوشتار اعلام می‌دارند.

علل ارثی ترموبوفیلی چون سطح فاکتور هشت انقادی و یا پروترومبین G20210A به دلیل این که در درخواست پژوهش نبوده و یا در این مرکز انجام نمی‌شده لحاظ نگردیده است.

### نتیجه گیری

کمبود PS و سپس APC-R، شایع‌ترین نقايسن ضد انقادی در بیماران مبتلا به VTE در پژوهش حاضر بودند. یافته‌های این پژوهش اهمیت ارزیابی آزمون‌های ترموبوفیلی ارثی را به منظور غربال بیماران مشکوک و یا مبتلا به ترموبوزهای سیاهرگی نشان می‌دهند. توصیه می‌شود که مطالعه‌های آتی، با حجم نمونه بیشتر و از نوع آینده‌نگر و

### References :

- Anderson FA Jr, Wheeler HB, Goldberg RJ, Hosmer DW, Patwardhan NA, Jovanovic B, et al. A population-based perspective of the hospital incidence and case-fatality rates of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Arch Intern Med* 1991; 151(5): 933-8.
- Kniffin WD Jr, Baron JA, Barrett J, Birkmeyer JD, Anderson FA Jr. The epidemiology of diagnosed pulmonary embolism and deep venous thrombosis in the elderly. *Arch Intern Med* 1994; 154(8): 861-6.
- Storti S, Crucitti P, Cina G. Risk factors and prevention of venous thromboembolism. *Rays* 1996; 21(3): 439-60.
- Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet* 1999; 353(9159): 1167-73.
- Tapson VF. Acute pulmonary embolism. *N Engl J Med* 2008; 358(10): 1037-52.
- Patniak MM, Moll S. Inherited antithrombin deficiency: a review. *Haemophilia* 2008; 14(6): 1229-39.
- Goldenberg NA, Manco-Johnson MJ. Protein C deficiency. *Haemophilia* 2008; 14(6): 1214-21.
- Ten Kate MK, van der Meer J. Protein S deficiency: a clinical perspective. *Haemophilia* 2008; 14(6): 1222-8.
- 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): 64-7.
- Martinelli I, Mannucci PM, De Stefano V, Taioli E, Rossi V, Crosti F, et al. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families. *Blood* 1998; 92 (7): 2353-8.
- Branson HE, Katz J, Marble R, Griffin JH. Inherited protein C deficiency and coumarin-responsive chronic relapsing purpura fulminans in a newborn infant. *Lancet* 1983; 2(8360): 1165-8.
- Lussana F, Dentali F, Ageno W, Kamphuisen PW. Venous thrombosis at unusual sites and the role of thrombophilia. *Semin Thromb Hemost* 2007; 33(6): 582-7.
- Martinelli I. Unusual forms of venous thrombosis and Thrombophilia. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002; 32(5-6): 343-5.
- Rubinstein I, Murray D, Hoffsein V. Fatal pulmonary emboli in hospitalized patients. An autopsy study. *Arch Intern Med* 1998; 148(6): 1425-6.
- Pinto RB, Silveira TR, Bandinelli E, Rohsig L. Portal vein thrombosis in children and adolescents: the low prevalence of hereditary thrombophilic disorders. *J Pediatr Surg* 2004; 39(9): 1356-61.
- Egesel T, Büyükkasik Y, Dündar SV, Gürgey A, Kirazlı S, Bayraktar Y. The role of natural anticoagulant deficiencies and factor V Leiden in the development of idiopathic portal vein thrombosis. *J Clin Gastroenterol* 2000; 30 (1): 66-71.
- Bai C, Pan J, Fan L. A study on the deficiency of anticoagulant proteins in Chinese patients with deep venous thrombosis. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2000; 39(11): 746-8. [Article in Chinese]
- Shen MC, Lin JS, Tsay W. High prevalence of antithrombin III, protein C and protein S deficiency, but no factor V Leiden mutation in venous thrombophilic Chinese patients in Taiwan. *Thromb Res*

- 1997; 15; 87(4): 377-85.
- 19- Suehisa E, Nomura T, Kawasaki T, Kanakura Y. Frequency of natural coagulation inhibitor (antithrombin III, protein C and protein S) deficiencies in Japanese patients with spontaneous deep vein thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001; 12 (2): 95-9.
- 20- Marouf R, Mojiminiyi O, Qurtom M, Abdella N, Al Wazzan H, Al Humood S, Al Mazeedy M. Plasma homocysteine and hematological factors in patients with venous thromboembolic diseases in Kuwait. *Acta Haematol* 2007; 117(2): 98-105.
- 21- Al-Jaouni SK. Primary thrombophilia in Saudi Arabia. *Saudi Med J* 2003; 24(6): 614-6.
- 22- Demir M, Vural Ö, Sunar H, Altun A, Yorulmaz F, Özbay G. The prevalence of hereditary thrombophilia in the Trakya region of Turkey. *Yonsei Med J* 2000; 41(4): 436-40.
- 23- Kazemi A, Hajmoosa H, Razavi SM, Shashaani T, Jazebi SM. A study of naturally occurring anticoagulant and antiphospholipid antibodies in patients with history of thrombosis in Tehran. *IUMS Journal* 2002; 9(29):266-74. [Article in Farsi]
- 24- Perry SL, Ortel TL. Clinical and laboratory evaluation of thrombophilia. *Clin Chest Med* 2003; 24(1): 153-70.
- 25- Rosendaal FR, Koster T, Vandebroucke JP, Reitsma PH. High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance). *Blood* 1995; 85(6): 1504-8.
- 26- Gessoni G, Valverde S, Canistro R, Trabuio E, Antico F, Manoni F. Laboratory assessment of hypercoagulable state. A study in a group of patients with venous thromboembolism born in Chioggia. *Minerva Med* 2007; 98(2): 89-93.

Original Article

## Analysis of levels of natural anticoagulant proteins and activated protein C resistance in venous thromboembolism patients referred to Iranian Blood Transfusion Organization, Tehran

Ahmadinejad M.<sup>1</sup>, Rajabi A.<sup>2</sup>, Bashash D.<sup>3</sup>, Zolfaghari Anaraki S.<sup>1</sup>, Atarodi K.<sup>1,2</sup>, Tabatabaei MR.<sup>1</sup>, Seyed Mortaz SL<sup>1</sup>, Ran Balouch S.<sup>1</sup>, Amini Kafī-abad S.<sup>1</sup>, Abolghasemi H.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Research Center of Iranian Blood Transfusion Organization, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>4</sup> Baghiatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### Abstract

#### Background and Objectives

Antithrombin (AT), protein C (PC) and protein S (PS) deficiencies plus activated protein C-resistance (APC-R) are among the most common hereditary causes of VTE. No comprehensive study on the prevalence of natural anticoagulant protein deficiencies in thrombophilic patients had been done before in Iran so we aimed to analyze these deficiencies in Iranian VTE patients.

#### Materials and Methods

This descriptive-retrospective analysis was done on 734 patients presented with the symptoms of VTE who were referred to Iranian Blood Transfusion Organization for thrombophilia screening tests in 2004-2005. After exclusion of patients with a history of an acquired thrombophilic condition, sampling of AT, PC, PS and APC-R activities were performed consecutively on 404 patients. Z-test was used to compare the present results with those of other population studies.

#### Results

Out of the total number of 404 patients, 369 (91.3%) were presented with DVT, 63 (15.6%) with PE, and 9 (2.2%) with TUS; there were also 39 patients (9.6%) with coexistence of two kinds of thrombosis. The deficiency of PS in 92 patients (22.8%), APC-R in 44 (10.9%), PC deficiency in 27 (6.7%), AT deficiency in 21 (5.2%) and compound deficiencies in 36 (8.9%) were observed.

#### Conclusions

PS deficiency and APC-R were the most and the next most prevalent hereditary defects in our patients, respectively. The findings of this report are more compatible with the results of Asian countries than those of European-American.

**Key words:** Venous thromboembolism, Deep venous Thrombosis, Pulmonary embolism, Antithrombin, Protein C, Protein S, Activated Protein C Resistance

Sci J Iran Blood Transfus Org 2011; 8(1): 1-9

Received: 22 Sep 2010

Accepted: 22 Dec 2010

Correspondence: Ahmadinejad M., MD. Pathologist, Research Center of Iranian Blood Transfusion Organization P.O.Box: 1449613111, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88601501-30 ; Fax : (+9821)88601555 E-mail: minooam26@yahoo.com