



## الگوی مهار کننده فاکتور VIII در افراد هموفیل A خراسان

حسن منصوری طرهبه<sup>۱</sup>، دکتر علی اکبر پورفتح...<sup>۱</sup>، دکتر محمود محمودیان شوشتری<sup>۲</sup>، دکتر زهرا رضایی یزدی<sup>۳</sup>، دکتر حبیب...<sup>۴</sup> اسماعیلی

**Title:** Pattern of factor VIII in hibitor inpatients with hemophilia A in Khorasan.

**Authors:** Mansouritorghabeh H, (Msc); Pourfatholah AA, (PhD); Mahmoodianshoostari M,(PhD); Rezaieyazdi Z,(MD); Esmaili HA,(PhD).

**Introduction:** Nowadays with improvement of screening tests for blood donors, recombinant methods, intervention of molecular methods and virvcidal techniques, the risk of infection transmission by coagulation factor concentrates has been diminished. Whereas formation of factor VIII inhibitor is a new concern for the patients with hemophilia A. Patients with hemophilia who have inhibitor are capable for severe hemorrhage; their treatments are more difficult and expensive with long- time hospitalization and sometimes cause death. The aim of this study was to show existence of inhibitor in Northeastern Iran and to determine necessity of screening of patients with hemophilia A for factor VIII inhibitor all over the country.

**Method:** About 140 registered patients with hemophilia A exist in Khorasan that with the help of Khorasan Hemophilia Center they were invited to Ghaem Hospital to answer a questionnaire. Among them, 102 patients with hemophilia refered to the hospital so that information and sampling were done. Their venous blood were mixed with 3.2 g/dl citrated sodium (0.109 M) and after preparation plasma, APTT Mix was done for all samples and then Bethesda test and dilution for determination titer of inhibitor were done.

**Results:** Out of 102 patients with hemophilia A under survey, 20 (19.6%) had inhibitor and 82 patients (80.4%) were without inhibitor. Minimum and maximum titers of inhibitors were 0.8 and 6 B.U., respectively. None of patients with hemophilia A were assayed for inhibitor already. There was no significant relation between factor VIII inhibitor and age of patients ( $P=0.712$ ).

**Conclusion:** As patients with hemophilia A in other countries, a number of patients with hemophilia A in Khorasan have inhibitor too (19.6%). Hence, screening of all patients and doing test every 6 months to follow up patients with inhibitor and detection new inhibitor in patients without ancient history of inhibitor are recommended.

**Key words:** Hemophilia A, Factor VIII inhibitor, Bethesda test.

۱- گروه هماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- سازمان انتقال خون ایران

۳- گروه داخلی، بیمارستان قائم، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۴- گروه بهداشت و پزشکی اجتماعی، بیمارستان قائم مشهد

## چکیده:

مقدمه: امروزه با بهبود تست‌های غربالگری اهدا کنندگان خون، بهبود روش‌های نو ترکیبی و ابداع روش‌های مولکولی و ویروس زدایی، خطر انتقال عفونت از طریق کنسانتره فاکتورهای انعقادی کاهش یافته است. ولی نگرانی تازه‌ای که برای افراد هموفیل به تازگی به وجود آمده است پیدایش مهار کننده فاکتور VIII انعقادی است. بیماران هموفیل A دارای مهار کننده، دچار خونریزی‌های شدیدتری می‌شوند و درمان آنها بسیار مشکل‌تر و هزینه‌بردارتر است و باعث بستری شدن طولانی مدت بیماران در بیمارستان و بعضاً سبب مرگ آنها می‌گردد. هدف از انجام این تحقیق نشان دادن الگوی وجود مهار کننده در شمال شرق ایران و اثبات ضرورت غربالگری بیماران هموفیل A از نظر مهار کننده فاکتور VIII در سطح کشور می‌باشد.

روش کار: حدود ۱۴۰ بیمار هموفیل ثبت شده در خراسان وجود دارد که با کمک کانون هموفیلی خراسان جهت پر کردن پرسشنامه و اخذ نمونه خون به بیمارستان قائم مشهد دعوت شدند. از بین آنها ۱۰۲ بیمار هموفیل A به بیمارستان مراجعه نمودند که اطلاعات و نمونه خون از آنها اخذ شد. نمونه خون وریدی آنها با نسبت ۹ به ۱ با سیترات سدیم (۳/۲ g/dl) (۰/۱۰۹ M) بخوبی مخلوط گردید و پس از تهیه پلاسما برای همه نمونه‌ها تست APTT<sub>Mix</sub> انجام شد و سپس تست بتسدا و تعیین تیتراژ مهار کننده انجام شد.

یافته‌ها: در بین ۱۰۲ بیمار هموفیل A تحت بررسی ۲۰ نفر (۱۹/۶٪) دارای مهار کننده بودند و ۸۲ نفر (۸۰/۴٪) فاقد آن بودند. حداقل تیتراژ مهار کننده ۰/۸ B.U. و حداکثر آن ۶ B.U. بود. هیچکدام از ۱۰۲ بیمار هموفیل از نظر وجود مهار کننده قبلاً بررسی نشده بودند. بین سن و وجود مهار کننده در افراد هموفیل A از نظر آماری ارتباطی پیدا نشد ( $P=0/712$ ).

نتیجه گیری: همانند بیماران هموفیل A در سایر کشورها، برخی از بیماران هموفیل A در خراسان نیز دارای مهار کننده هستند (۱۹/۶٪). لذا غربالگری تمام بیماران و انجام تست بتسدا هر ۶ ماه یکبار برای پیگیری وضعیت بیماران دارای مهار کننده و آگاهی از بروز جدید مهار کننده در بیماران فاقد سابقه داشتن مهار کننده توصیه می‌گردد.

## گل واژگان: هموفیلی A، مهار کننده فاکتور VIII، تست بتسدا.

## مقدمه:

بیماران دارای مهار کننده ضرورتاً بطور دائم حوادث خونریزی دهنده ندارند ولی کنترل حوادث خونریزی دهنده در آنها سخت‌تر است و شدت خونریزی در آنها شدیدتر می‌باشد (۴).

Rothschild و همکارانش وجود مهار کننده را در افراد هموفیل A یکی از بزرگترین مشکلات درمانی در این افراد ذکر میکنند و شیوع مهار کننده را در افراد هموفیل A حدود ۳۰٪-۲۰٪ عنوان کرده‌اند (۵).

ارزیابی الگوی مهار کننده‌های فاکتور VIII نقش مهمی در انتخاب روش‌های درمانی و مدیریت بیماران دارد. این تحقیق به منظور شناسایی افراد هموفیل A دارای مهار کننده و بدست آوردن الگوی مهار کننده در جمعیت بیماران هموفیل A خراسان انجام شد.

## روش کار:

حدود ۱۴۰ بیمار هموفیل A ثبت شده در خراسان وجود دارد

مهار کننده‌های انعقاد خون که به عنوان ضد انعقاد جریان خون نیز شناخته می‌شوند، مواد پاتولوژیکی هستند که مستقیماً فاکتورهای انعقادی یا واکنش آنها را خنثی می‌کنند (۱). امروزه با بهبود تست‌های غربالگری اهدا کنندگان، بهبود روش‌های نو ترکیبی و ابداع روش‌های مولکولی و ویروس زدایی خطر انتقال عفونت از طریق کنسانتره‌های فاکتورهای انعقادی کاهش یافته است ولی نگرانی تازه و عمده‌ای که بوجود آمده، القاء و پیدایش مهار کننده در این افراد است. در واقع تحقیقات، شیوع متفاوتی از بروز مهار کننده را در بیمارانی که قبلاً فاکتور VIII دریافت می‌کرده‌اند نشان میدهد (۲). امروزه تعداد بیماران دارای مهار کننده در حال افزایش است (۳). وجود مهار کننده بدین معنی است که فاکتور انعقادی پس از تزریق سرعت توسط بدن مصرف می‌گردد لذا برای کنترل خونریزی به دوزهای بیشتر و متوالی‌تری نیاز می‌باشد. هر چند

هموفیل A متولد شده پس از سال ۱۹۶۰ در فلاند را بررسی نموده که ۵ مورد از ۵۶ مورد یا ۱۴/۳٪ دارای مهار کننده بود و میزان شیوع ۱۷/۳٪ محاسبه گردید (۶).

جدول ۱- فراوانی نسبی وجود مهارکننده در افراد هموفیل آ در خراسان بر حسب گروه‌های سنی مختلف در سال ۱۳۸۲

گروه سنی (سال)	مهار کننده - تعداد(درصد)	مهار کننده + تعداد(درصد)	مجموع تعداد(درصد)
۱۰- سال	۸(۸۰)	۲(۲۰)	۱۰(۱۰۰)
۱۱-۲۵ سال	۴۴(۷۷/۲)	۱۳(۲۲/۸)	۵۷(۱۰۰)
۲۶-۳۵ سال	۱۳(۸۱/۳)	۳(۱۸/۸)	۱۶(۱۰۰)
۳۶-۸۰ سال	۱۷(۸۹/۵)	۲(۱۰/۵)	۱۹(۱۰۰)
جمع	۸۲(۸۰/۴)	۲۰(۱۹/۶)	۱۰۲(۱۰۰)

Teame و همکارانش گزارش نمودند که ۵۲٪-۳۰٪ از بچه‌های مبتلا به هموفیلی A شدید دارای مهار کننده می‌باشند (۷). Henry & Davidson عنوان نموده‌اند که در ۲۵٪-۱۰٪ از بیماران مبتلا به هموفیلی A شدید که از درمان جایگزین با FVIII استفاده می‌کنند آلو آنتی بادی انسانی ضد FVIII پدید می‌آید (۸).

Ehrenforth و همکارانش عنوان نموده‌اند که مهارکننده در ۲۴٪ تمامی افراد هموفیل A و ۵۲٪ مبتلایان به شکل شدید هموفیلی پدید می‌آید (۹).

در مقالات و کتب مختلف در صد و میزان شیوع مهارکننده فاکتور VIII در طیف وسیعی از ۵٪ تا ۵۰٪ گزارش شده است. نتایج تحقیق ما نشان داد که ۱۹/۶٪ بیماران هموفیل A دارای مهار کننده‌اند. این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیق‌های دیگر (۱۳-۱۰) همخوانی و تشابه دارد و به نتایج سایر منابع نزدیک است.

تفاوت در میزان شیوع مهار کننده FVIII علاوه بر تفاوت‌های تکنیکی می‌تواند ناشی یا متأثر از عواملی چون نوع فرآورده دارویی مورد مصرف، عوامل ژنتیکی (نوع جهش یا اختلال مسبب هموفیلی)، ژنتیک سیستم ایمنی و آنتی ژن‌های نفوسیت‌های انسانی (HLA) باشد (۱۴ و ۱۵)، که این عوامل در بین بیماران هموفیل خراسان با بیماران هموفیل سایر کشورها ممکن است یکسان نباشد.

Ehrenforth و همکارانش گزارش نموده‌اند که اولین مهار کننده‌ها زمانی ردیابی شدند که بیماران در محدوده سنی ۳/۵-۰/۸ سال بودند. مجموع خطر بروز مهارکننده در سن ۶

که با کمک کانون هموفیلی خراسان جهت پر کردن پرسشنامه و اخذ نمونه خون به بیمارستان قائم مشهد دعوت شدند. از بین آنها ۱۰۲ بیمار هموفیل A به بیمارستان مراجعه نمودند که اطلاعات و نمونه خون از آنها اخذ شد. نمونه خون وریدی آنها با نسبت ۹ به ۱ با سیترات سدیم ۳/۲ g/dl (۰/۱۰۹ M) بخوبی مخلوط گردید. سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور<sup>۱</sup> ۳۰۰۰ RPM سانتریفوژ گردید تا پلاسما فاقد پلاکت (PPP) بدست آید. سپس تست مقدماتی زمان پروترومبین فعال شده (مخلوط) APTT<sub>Mix</sub> بر روی مخلوطی از حجم مساوی (۱:۱) پلاسما بیمار و پلاسما ذخیره (Pool) که متشکل از نمونه پلاسما ۱۵ فرد سالم است انجام گردید. این تست تا حد زیادی به شناسایی نمونه‌های دارای مهار کننده به ما کمک می‌کند. در این مرحله نمونه‌های دارای مهار کننده زمان انعقادشان ۱۰-۸ ثانیه بیشتر از نمونه کنترل می‌شود. سپس برای تمامی نمونه‌های بیماران هموفیل A یک محلول رقیق نشده انکوباسیون NET که متشکل از مخلوط ۰/۲ ml پلاسما ذخیره و ۰/۲ ml پلاسما بیمار است تهیه کرده پس از ۲ ساعت انکوباسیون در ۳۷°C بر روی آنها آزمایش بتسدا انجام گردید. (۹-۶ و ۱۳-۱۱). محدوده مرجع برای مهارکننده<sup>۲</sup> B.U. ۰ می‌باشد.

### یافته‌ها:

در بین ۱۰۲ بیمار هموفیل A تحت بررسی ۲۰ نفر (۱۹/۶٪) دارای مهار کننده بودند و ۸۲ نفر (۸۰/۴٪) فاقد مهارکننده بودند. حداقل تیترا مهارکننده ۰/۸ B.U. و حداکثر آن ۶ B.U. بود. هیچکدام از ۱۰۲ بیمار هموفیل از نظر وجود مهارکننده قبلاً بررسی نشده بودند و هیچکدام سابقه انجام آزمایش را در گذشته نداشتند، لذا سابقه عدم انجام تست در گذشته ۱۰۰٪ بود. نتایج حاصل از جدول ۱ نشان می‌دهد که در بین ۱۰۲ فرد هموفیل ۱۰ نفر در گروه سنی (۱۰- سال) قرار داشتند که ۸ نفر از آنها (۸۰٪) از نظر مهار کننده منفی و ۲ نفر از آنها (۲۰٪) دارای مهار کننده بودند. آزمون آماری کای-دو نشان می‌دهد که بین سن و وجود مهارکننده در افراد هموفیل A ارتباطی موجود نیست (P=۰/۷۱۲).

### بحث:

Rasi و همکارانش میزان بروز مهار کننده در بیماران

<sup>۱</sup> دور در دقیقه

<sup>۲</sup> واحد بتسدا

سالگی ۳۳٪ بود (۱۶).

سازمان مرکزی هموفیلی انگلستان گزارشات حاصله از موارد وجود مهارکننده در افراد هموفیل A را در بین سال‌های ۹۳-۱۹۹۰ جمع‌آوری نموده است و گزارش نموده است که مهارکننده عمدتاً در بیماران هموفیل که کمتر از ۱۰ سال سن دارند روی می‌دهد و در ۳۸٪ موارد بیماران هموفیل A بیش از ۱۰ سال سن داشتند (۱۷).

Puetz و همکارانش بروز مهارکننده را در ۲ بیمار هموفیل که کمتر از ۱۰ سال سن داشتند گزارش کرده‌اند (۱۸ و ۱۹).

نتایج حاصل از جدول ۱ که به روش تست آماری Chi-Square تحلیل شده نشان می‌دهد که ارتباط معنی‌داری بین سن و وجود مهارکننده وجود ندارد ( $P=0/712$ ). ممکن است این امر ناشی از ناکافی بودن تعداد بیماران هموفیل A مورد بررسی باشد و برای تعیین ارتباط بین این دو به بررسی تعداد بیمار بیشتری نیاز می‌باشد.

### نتیجه‌گیری:

این تحقیق نشان داد که مهارکننده فاکتور VIII انعقادی در بیماران هموفیل A خراسان همانند بیماران هموفیل سایر کشورها پدید آمده است. هر چند وجود مهارکننده خطر بروز خونریزی را افزایش نمی‌دهد اما کنترل خونریزی در بدن بیمار

هموفیل دارای مهارکننده سخت‌تر و مشکل‌تر است. مطالعه‌ای که در هلند انجام شد نشان داده است که میزان مرگ و میر در افراد هموفیل دارای مهارکننده ۵/۳ برابر بیشتر از افراد هموفیل فاقد مهارکننده است. لذا بسیاری از منابع بر انجام این تست برای بیماران هموفیل حداقل هر ۶ ماه یکبار اصرار دارند. از آنجاییکه هیچکدام از افراد هموفیل A تحت بررسی، این تست برایشان انجام نشده بود و با توجه به وجود مهارکننده در ۱۹/۶٪ از ۱۰۲ فرد بررسی شده، انجام تست برای سایر بیماران هر ۶ ماه یکبار توصیه می‌گردد. از آنجاییکه شناسایی مهارکننده در مراحل اولیه پیدایش منجر به کنترل و درمان راحت‌تر مهارکننده می‌شود، شناسایی به موقع مهارکننده بسیار سودمند است. درمان بیماران هموفیل دارای مهارکننده در تیتراهای بالا مشکل‌تر و بسیار پرهزینه است.

### تشکر و قدردانی:

محققین بر خود لازم می‌دانند که از تمامی افراد هموفیل و کانون هموفیلی خراسان بخاطر مشارکت در این تحقیق و سازمان انتقال خون ایران جهت پذیرش این طرح و همچنین آقای سید علی طباطبایی و خانم شعشعانی در آزمایشگاه انعقاد سازمان انتقال خون ایران تشکر و قدردانی نمایند.

### References:

- 1- Speat TH. Progress in Hemostasis and Thrombosis. USA: Grune & Stratton; 1972: 75-92.
- 2- Sohoppmann A, Waytes AT. Factor VIII inhibitor and severity of hemophilia. Thrombosis & Hemostasis 1996; 76(2): 275-81.
- 3- Mollison PL, Engelfreit CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. 10th edit. USA: Blackwell Science; 1998: 476-80.
- 4- Giangrandee PLF. Hemophilia: some basic facts. Available at: [www.medicine.ox.ac.uk/ohe/index.htm](http://www.medicine.ox.ac.uk/ohe/index.htm).
- 5- Rothchild C, Laurian Y, Store E, et al. French previously untreated patients with severe hemophilia A after exposure to recombinant factor VIII: incidence of inhibitor and evaluation of immune tolerance. Thrombosis & Hemostasis 1998; 80: 779-84.
- 6- Kasper CK, Aledort LM, Counts RB, et al. A more uniform measurement of factor VIII inhibitors. Thromb Diath Hemorr 1975; 34: 869-72.
- 7- Klinge J, Auerswald G, Budde U, et al. Detection all anti-factor VIII antibodies in hemophilia A patients by Bethesda assay and a more uniform sensitive immunoprecipitation assay. Haemophilia 2002; 8: 26-32.
- 8- Lossing ST, Kasper CK, Feinstein DI. Detection of factor VIII inhibitor with partial prothrombin time. Blood 1997; 49(7): 793-7.
- 9- Chanarin I, Cawley JC, Contreras M, et al. Laboratory hematology, an account of laboratory techniques. 3th ed. USA: Churchill Livingstone; 1989: 98-100.
- 10- Rasi V, Ikkata E. Hemophilia with factor VIII inhibitors in Finland: Prevelence, incidence and outcome. BJH 1990; 76: 369-71.
- 11- Jeame M. Inhibitor in young boys with haemophilia. Research in clinical hematology 2000; 13(3): 457-68.
- 12- Bernard HJ, Davidson J. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 9th ed. USA: WB Saunders; 1996: 1402.
- 13- Ehrenforth S, Kreuz W, Scharre I, et al. Incidence of development of factor VIII and factor IX inhibitor in hemophiliacs. Lancet 1992; 339(7): 594-8.
- 14- Oldenberg J, Brackmann HH, Schwaab R. Risk factors for inhibitor developing in hemophilia A. Hematologica 2000; 85(100): 7-13.
- 15- Tadashi K, Takahashi I, Hidehiko S. Retrospective study of inhibitor formation in Japanese hemophiliacs. Inter J Hemato 1995; 62: 175-81.

- 16- Ehrenforth S, Kreuz W, Scharrer I, et al. Incidence of development of factor VIII and factor IX inhibitors in hemophiliacs. *Lancet* 1992; 339(7): 594-7.
- 17- Colvin BT, Hay CRM, Preston FE. Incidence of factor VIII inhibitors in the United Kingdom. *Brit J Hematol* 1995; 43: 908-10.
- 18- Paetz JJ, Bouhasin YD. High titer factor VIII inhibitor in two children with mild hemophilia A. *Haemophilia* 2001; 7(2): 215-9.
- 19- Volt AJ, Wittebol S. The development of inhibitor in a patient with moderate hemophilia A. *Netherlands J Med* 1997; 50: A1-A14.