Archive of SID

پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
سال ۲۶، شماره ۴، صفحات ۳۰۵ تا ۳۰۸ (زمستان ۱۳۸۱)

آزمایش زمان پروترومبین (PT) و روش‌های گزارش آن

دکتر فرخ حبیب زاده[۱]، دکتر محبوبه یداللهی[۱]، مینا روشنی پور[۱]، دکتر منصور حق شناس[۲]

۱- واحد بهداشت و درمان صنعت نفت، شیراز
۲- مرکز تحقیقات خون‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

خلاصه

در وضعیت‌های مختلف مثل ترومبوز سیاهرگهای عمقی، آمبولی مغزی و بیماریهای دریچه‌ای قلب استفاده از داروهای ضد انعقاد خوراکی لازم است. فاکتورهای انعقادی که در مسیر خارجی قرار دارند با داروهای ضد انعقاد خوراکی سرکوب می‌شوند. PT یک آزمایش انتخابی در کنترل درمان با داروهای ضد انعقاد خوراکی است. نتایج PT بدست آمده در آزمایشگاههای مختلف با هم متفاوت هستند. برای یکسان سازی گزارش PT در سراسر دنیا، INR پیشنهاد شده است. این روش اختلاف موجود بین آزمایشگاهها را که نشأت گرفته از اختلاف در حساسیت ترومبوپلاستین‌ها و روش آزمایشگاهی بکار گرفته شده توسط آنها بود، از بین می‌برد. بر اساس این روش پیشنهاد می‌شود که دوز داروی ضد انعقاد خوراکی آنقدر باشد که INR برای بیمارانی که دارای دریچه مصنوعی مکانیکی قلب هستند، ۳/۵-۲/۵ و برای بقیه بیماران بین ۳-۲ باشد. همچنین پیشنهاد شده است برای بیمارانی که دچار سکته قلبی شده و احتیاج به درمان با داروهای ضد انعقاد خوراکی دارند، مقدار INR بین ۲/۵تا۳/۵ باشد.

واژگان کلیدی: *INR ، داروهای ضد انعقادی، PT .*

مقدمه

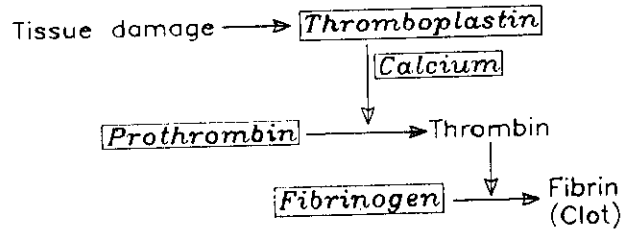
در سال ۱۹۰۴ میلادی، نظریه چهار فاکتوری انعقاد خون توسط موراویتز (Morawitz) پیشنهاد شد (شکل ۱). این نظریه بعدها مبنای یکی از متداولترین آزمایشات خون‌شناسی امروز قرار گرفت. در سال ۱۹۳۵، Armand J Quick بر مبنای این تئوری چنین اظهار داشت که اگر کلسیم، فیبرینوژن و ترومبوپلاستین، سه فاکتور از چهار فاکتور انعقادی را به اندازه کافی داشته باشیم، زمان انعقاد پلاسما تابعی از غلظت پروترومبین خواهد بود و به این ترتیب آزمایشی را طراحی کرد که بعدها به افتخار او بنام « آزمایش Quick » یا «آزمایش زمان پروترومبین» (PT) نامیده شد(۱). این آزمایش خیلی زود ارزش بالینی پیدا کرد و از آن در بررسی حالات خونریزی دهنده در مبتلایان به یرقان انسدادی و همچنین کنترل میزان داروهای ضد انعقاد خوراکی (مثل وارفارین)، که بعد از جنگ جهانی دوم مورد استفاده قرار گرفت، استفاده شد(۲). تحقیقات بعدی نشان داد که علاوه بر چهار فاکتور انعقادی یاد شده، فاکتورهای دیگری نیز در انعقاد خون نقش دارند و مسیری که قبلاً تصور می‌شد که فقط از چهار فاکتور انعقادی تشکیل شده است، از پیچیدگی بیشتری برخوردار است(شکل ۲). این سلسله واکنشهای انعقادی اکنون بنام مسیر صدمه (injury pathway) یا مسیر خارجی (extrinsic pathway) انعقاد خوانده می‌شود(۲).

آزمایش PT یک مرحله‌ای (Quick test)

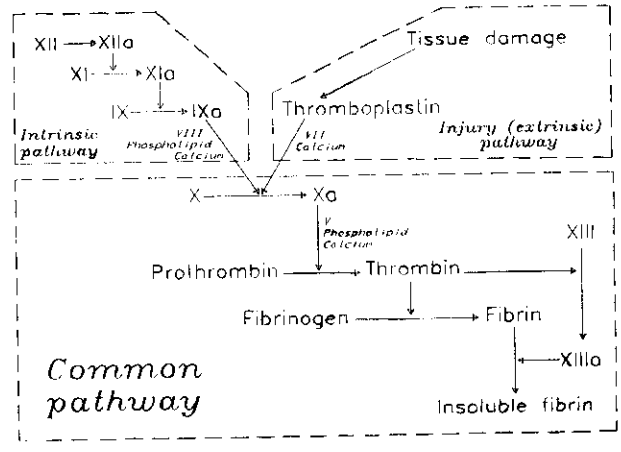
هنگامی که از شخصی خون می‌گیریم، نمونه خون گرفته شده در لوله سریعاً منعقد می‌شود. کلسیم پلاسما نقش مهمی در انعقاد خون گرفته شده از بیمار دارد. برای توقف این انعقاد طبیعی خون، کلسیم پلاسما را با افزودن سیترات یا اگزالات از محیط واکنش خارج می‌کنیم. اگر به این پلاسما مخلوط کلسیم و ترومبوپلاستین اضافه کنیم، این پلاسما لخته خواهد شد. فاصله زمانی بین افزودن مخلوط کلسیم و ترومبوپلاستین به پلاسما تا انعقاد آن را PT می‌نامند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: مسیر انعقاد خون بر اساس نظریه موراویتز



شکل ۲: سیستم انعقاد خون

سیستمهای گزارش‌دهی PT

PT معمولاً به چند روش گزارش می‌شود. ساده‌ترین روش گزارش PT ، زمان انعقاد بر حسب ثانیه است. متداولترین روش گزارش PT ، نسبت *PT* (PTR) و *اندیس PT* (PTI) است که مطابق فرمول زیر محاسبه می‌شود

$$PTR = \frac{\text{Patient's PT}}{\text{MNPT}} \qquad PTI = \frac{100}{PTR}$$

میانگین *PT نرمال* (MNPT) در فرمول بالا، میانگین PT طبیعی جمعیتی است که بیماران متعلق به آن هستند که باید برای محاسبه آن از همان سیستمی (ترومبوپلاستین و روش اندازه‌گیری) استفاده شود که PT بیماران با آن اندازه‌گیری می‌شود(۳). متأسفانه بعضی آزمایشگاهها به غلط بجای MNPT از PT کنترل استفاده می‌کنند که این دو با هم متفاوتند. استفاده از PT کنترل بعنوان معیاری برای ارزیابی میزان ضدانعقادی داروها کاری نادرست است که ایده آن در طول چندین سال توسط پزشکان و متخصصان بالینی ایجاد شده است. در واقع، مواد کنترل معیارهایی هستند که آزمایشگاهها با استفاده از آنها به مشکلات تکنیکی آزمایشگاهی پی می‌برند. این مواد کنترل به هیچ عنوان طوری ساخته نمی‌شوند که بتوان آنها را ۱۰۰٪ استاندارد فرض کرد(۳).

برای بدست آوردن MNPT روشهای مختلفی پیشنهاد شده است. قابل قبول‌ترین روش که توسط WHO پیشنهاد شده است، محاسبه این مقدار بر اساس PT اندازه‌گیری شده در حداقل ۲۰ نفر فرد سالم بزرگسال است(٤). MNPT میانگین هندسی PT های اندازه‌گیری شده است. برای محاسبه آن می‌توان این ۲۰ عدد را در هم ضرب کرده سپس ریشه بیستم عدد حاصل را محاسبه کرد. همچنین می‌توان از تک‌تک این بیست عدد لگاریتم گرفته، میانگین حسابی حاصل این لگاریتمها را بدست آورد و سپس از این میانگین آنتی‌لگاریتم گرفت. MNPT باید برای هر بسته ترومبوپلاستین محاسبه شود(٤). روش متداول دیگری که قبلاً به کرات از آن استفاده می‌شد، *درصد فعالیت PT* (PR%) است. در این روش بر مبنای جداولی، PT بیمار با PT پلاسمای طبیعی در رقتهای مختلف محاسبه می‌شود. به عنوان مثال، اگر PT بیمار ۱٦ ثانیه باشد و PT پلاسمای طبیعی که به نسبت ٤۰٪ رقیق شده (۰/٤ میلی‌لیتر پلاسما+۰/٦ میلی‌لیتر نرمال سالین) نیز ۱٦ ثانیه باشد، آنگاه می‌گوییم PT% این بیمار ٤۰٪ است. معمولاً برای گزارش PT% ، پلاسمای بیمار را با رقتهای مختلف پلاسمای طبیعی مقایسه نمی‌کنیم و PT% را از روی جدول یا منحنی از پیش آماده شده می‌خوانیم. این روش گزارش دهی به دلایل زیادی خیلی زود منسوخ شد. در این روش با توجه به اینکه خود ما بطور مصنوعی پلاسمای طبیعی را رقیق می‌کنیم، نمی‌توان نتایج بدست آمده را با وضعیت حقیقی، که مثلاً بیمار از وارفارین استفاده می‌کند، مقایسه کرد. در حالت اخیر وارفارین بر روی تمام فاکتورهای انعقادی به یک نسبت تأثیر نمی‌گذارد. وارفارین بیشتر بر روی فاکتورهای وابسته به ویتامین K (فاکتورهای IX,VII,II و X) تأثیر می‌گذارد.

نسبت تصحیح شده بین‌المللی(INR)

طی سالیان متمادی پزشکان اروپایی بر این عقیده بودند که پزشکان آمریکایی به بیماران خود بیش از حد وارفارین می‌دهند(٦،۵). این اختلاف در چند بررسی بین‌المللی نیز که تحت نظارت کمیته بین‌المللی استانداردسازی در هماتولوژی (ICSH) انجام پذیرفته بود به اثبات رسید. نتایج تحقیقات گسترده بعدی حاکی از آن بود که نتایج آزمایش PT به سیستمی که برای اندازه‌گیری آن بکار برده می‌شود، بستگی دارد. همچنین مشخص شد که بعلت روش تهیه متفاوت ترومبوپلاستینهای مختلف، این مواد با سرعتهای مختلفی در

www.SID.ir

Archive of SID

واکنش شرکت کرده و باعث بدست آمدن زمانهای PT متفاوتی می‌شوند. بعدها مشخص شد که این تفاوت حساسیت ترومبوپلاستینها فقط وابسته به جنس آنها نبوده و تا حدی نیز بستگی به روش و وسیله‌ای دارد که برای آزمایش از آن استفاده می‌شود(۷). اگر یک نمونه پلاسما را برای چند آزمایشگاه بفرستیم، ممکن است آنها PTI,PTR,PT و حتی PT% متفاوتی را گزارش کنند. از طرف دیگر، اگر چند آزمایشگاه در مورد دو نمونه مختلف گزارشات یکسانی از PT بدهند، ممکن است درجات مختلفی از وضعیت ضد انعقادی داشته باشیم. این مساله باعث شد تا ACCP (American College of Chest Physicians) در سومین نشست خود به این نتیجه برسد که PTR دیگر یک شاخص مطمئن و قابل قبول برای کنترل تجویز داروهای ضدانعقاد خوراکی نیست (۸).

برای بوجود آوردن یک روش گزارش دهی استاندارد، سازمان جهانی بهداشت (WHO) با همکاری کمیته بین المللی انعقاد خون و ترومبوز (ICTH) و کمیته بین المللی استاندارد سازی در هماتولوژی (ICSH) روشی را برای گزارش PT پیشنهاد کردند(۹،۱۰). در این روش ابتدا حساسیت ترومبوپلاستین و سیستم اندازه گیری مورد نظر با ترومبوپلاستین و روش استانداردی که توسط WHO مشخص شده است مقایسه می‌شود (۱۱) و برحسب حساسیت آن عددی تحت عنوان اندیس حساسیت بین المللی (ISI) به ترومبوپلاستین و روش اندازه‌گیری نسبت داده می‌شود. برای محاسبه معیار جدید، INR، مطابق معادله زیر کافیست PTR را به توان ISI برسانیم:

$$INR = (PTR)^{ISI}$$

INR طوری طراحی شده است که صرفنظر از ترومبوپلاستین و روشی که برای انجام آزمایش مورد استفاده قرار می‌گیرد، برای هرنمونه جواب یکسانی را بدست بدهد. در واقع اگر نمونه پلاسما را برای آزمایش بهWHO بفرستیم ، PTR گزارش شده همان INR است. بعنوان مثال، فرض کنید یک نمونه خون از بیماری که بدلیل سابقه لخته خون در عروق عمقی پا وارفارین مصرف می‌کند را برای سه آزمایشگاه مختلف بفرستیم. نتایج PT گزارش شده توسط این سه آزمایشگاه می‌تواند جدول زیر باشد.

همانطور که دیده می‌شود ، PT و PTR های گزارش شده توسط این سه آزمایشگاه تفاوت زیادی با هم دارند. فراموش نکنید که این اختلافات ناشی از خطای آزمایشگاه نیست و صرفا به دلیل ترومبوپلاستین و روش اندازه‌گیری PT (روش اتوماتیک، روش دستی، ...) کار متفاوتی است که توسط این سه آزمایشگاه استفاده شده است.

جدول ۱: نتایج گزارشات آزمایش PT از سه آزمایشگاه مختلف

آزمایشگاه	PT (ثانیه)	MNPT(ثانیه)	PTR	ISI	INR
۱	۲٤	۱۱	۲/۱۸	۱/۱۸	۲/۵
۲	۲۰	۱۲	۱/٦۷	۱/۷۹	۲/۵
۳	۱٦	۱۳	۱/۲۳	٤/٤۳	۲/۵

همانطور که دیده می‌شود، این اختلاف در سیستم‌های بکار برده شده، به وضوح در مقادیر ISI منتسب شده، مشخص است. نکته مهم این است که با وجود تمام این اختلافات، هنگامی که آزمایشگاهها نتایج بدست آمده را به INR تبدیل می‌کنند، تفاوتها به یکباره از میان می‌رود و هرسه آزمایشگاه مقدار ۲/۵ را گزارش می‌کنند (۱۲).

مشکلات در پذیرش INR

در سال ۱۹۸۵، در بعضی از کشورها همچون انگلستان و هلند، سیستم INR بخوبی پذیرفته شد (۱۰)، اما همانطور که از قبل هم قابل پیش بینی بود مشکلاتی نیز وجود داشت. اول اینکه تعیین ISI برای یک سیستم PT کار بسیار پیچیده‌ای است و نیاز به ۲۰ نمونه پلاسمای طبیعی و ٦۰ نمونه پلاسما از بیمارانی که تحت کنترل با درمان ضد انعقادی هستند، بود (۱۳). خوشبختانه، تعیین و محاسبه ISI وظیفه شرکتهای سازنده یا آزمایشگاههای کنترل کیفی بین المللی است و لازم نیست که این کار در آزمایشگاههای معمولی انجام شود. مشکل دیگری که وجود دارد مقاومت کادر پزشکی در استفاده از سیستم جدید است (۱٤). این مقاومت به علت ایجاد مشکلات احتمالی است که در اثر تغییر سیستم گزارش دهی از PT، PTI و PT% به یک روش جدید مثل INR، ایجاد می‌شود. بعضی دیگر نیز به دلیل پیچیده بودن محاسبه INR که مستلزم به توان رساندن یک عدد اعشاری (PTR) به توان یک عدد اعشاری دیگر (ISI) است نسبت به استفاده از آن رغبت نشان نمی‌دهند. خوشبختانه برای انجام این محاسبه نوموگرام‌هایی طراحی شده است و با توجه به مکانیزه شدن بسیاری از آزمایشگاهها در حال حاضر در گزارش کامپیوتری بسیار از آنها مقدار INR محاسبه و درج می‌شود (۱۵). بر مبنای پیشنهاد سازمانهای معتبری همچون WHO، ICSH و انستیتو ملی قلب ، ریه و خون (NHLBI) برای کنترل میزان داروهای ضدانعقاد خوراکی مثل وارفارین، آزمایش PT فقط باید به صورت INR گزارش شود. مزیت این روش این است که مقدار گزارش شده دیگر ربطی به ترومبوپلاستین و روش آزمایشگاهی بکار گرفته شده نداشته و آزمایش می‌تواند درهر آزمایشگاهی انجام

www.SID.ir

Archive of SID

شود (۱۸-۱۶). براساس این روش پیشنهاد می‌شود که دوز داروی ضد انعقاد خوراکی آنقدر باشد که INR برای بیمارانی که دارای دریچه مصنوعی مکانیکی قلب هستند، ۳/۵-۲/۵ و برای بقیه بیماران ۳-۲ باشد. به دلیل احتمال بیشتر ایجاد لخته خون در بیماران دریچه‌ای میزان INR پیشنهاد شده مقداری بیشتر از حالات دیگر است. همچنین، اخیرا ACCP در ششمین نشست خود پیشنهاد کرده است که برای بیمارانی که دچار سکته قلبی شده‌اند و احتیاج به درمان با داروهای ضدانعقاد خوراکی دارند، مقدار INR بین ۲/۵ تا ۳/۵ باشد(۱۸،۱۷).

براساس این معیار، بیماری که جواب PT او در جدول ۱ آورده شده است با INR برابر ۲/۵، در وضعیت خوبی است و احتیاجی ندارد که دوز وارفارین او تغییر کند. اگر قرار بود براساس روش منسوخ قبلی، برمبنای PTR در مورد این بیمار قضاوت کنیم و PTR را بین ۱/۵ تا ۲ نگه داریم، برمبنای گزارش آزمایشگاه اول باید دوز وارفارین را کاهش می‌دادیم ، برمبنای گزارش آزمایشگاه دوم احتیاجی به تغییر دوز وارفارین نبود، و براساس گزارش آزمایشگاه سوم دوز دارو را باید افزایش می‌دادیم!

درخاتمه باید متذکر شد که INR تنها روش گزارش‌دهی مناسب برای تنظیم دوز داروهای ضدانعقاد خوراکی است و در موارد دیگر مثل بیماری‌های کبد که PT به دلایل دیگر طولانی می‌شود از INR بایستی با احتیاط استفاده کرد.

REFERENCES

1- Quick AJ,Brown MS, Bancroft FW. A study of the coagulation defect in hemophilia and in juandice. Am J Med Sci 1935;190: 501-11.

2- Maciver JE, Taberner DA. Haemostasis and thrombosis. In : Tindall VR, Dodson ME, Gowenlock AH (eds) Essential Sciences for Clinicians. St Louis, Blackwell, 1981:243-62.

3- Koepke JA. Reporting prothrombin time for patients taking anticoagulants. Am J Clin Pathol 1993; 99:762-2.

4- WHO Expert Committee on Biological Standardization. 31st Report. WHO Tech Rep Ser 1983; 658:185-205.

5- Loeliger EA, Van den Besselaar AMHP , Broekmans AW. Intensity of oral anticoagulant in patients monitored with various thromboplastins. N Engl J Med 1983; 308(20): 1228-9.

6- Poller L. Standardization of oral anticoagulant treatment. Br Med J Clin Res Ed 1983;287(6402):1379-9.

7- Koepke JA, Gilmer PR, Triplett D, et al . The prediction of prothrombin time system performance using secondary standards. Am J Clin Pathol 1997; 68:191-4.

8- Dalen JE, Hirsh J (eds). Third ACCP consensus conference on antithrombotic therapy. Chest 1992; 102(suppl 4): 303S-549S.

9- ICSH/ICTH. Recommendations for reporting prothrombin time in oral anticoagulant control. Scand J Haematol 1984; 33: 397-8.

10- Keopke JA, Triplett DA. Standardization of the prothrombin time-finally. Arch Pathol Lab Med 1985; 109: 800-1.

11-WHO Expert Committee on Biological Standardization. 33rd Report. WHO Tech Rep Ser 1984; 687: 81-105.

12- Poller L. Progress in standardization in anticoagulant control. Hematol Rev Commun 1987; 1: 225-41.

13- Eckman MH, Levine HJ, Pauker SG. Effect of laboratory variation in the prothrombin- time ratio on the results of oral anticoagulant therapy.N Engl J Med 1993; 329: 696-702.

14- INR and monitoring oral anticoagulation. Q-Probe 91-104. College of American Pathologists, Northfield, Illinois, 1992.

15- Habibzadeh F, Yadollahie M. A simple method for the derivation of the international normalized ratio for reporting of prothrombin time results. Am J Hematol 1995; 50: 283-7.

16- Loeliger EA, Lewis SM. Progress in laboratory control of anticoagulant. Lancet 1982; 2: 318-20.

17- ACCP/NHLBI National conference on Antithrombotic therapy. American College of Chest Physicians and the National Heart, Lurg and Blood Institute. Chest 1986;89(Suppl 2): 1s-106s.

18- Hirsh J, Poller L, Deykin D, et al. Optimal therapeutic range for oral anti coagulants, 2 nd ACCP conference on Anti thrombotic therapy. Chest 1989; 95 (Suppl2): 5S-11S.

www.SID.ir