خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۸ شماره ۳ پاییز ۹۰ (۲۳۳-۲۲۹)

مقاله کوتاه

فعالیت فاکتور VIII درکرایو به دو روش تشکیل لخته و رنگ‌زایی

آزاده امیدخدا[۱]، محمدرضا طباطبایی[۲]، کامران عطاردی[۲]، کامران کریمی[۳]

چکیده

سابقه و هدف

از آن جایی که خطر خون‌ریزی در مبتلایان به فقر فاکتور VIII ، وابسته به فعالیت فاکتور VIII تزریق شده است، انتخاب روش مناسب برای اندازه‌گیری فعالیت این فاکتور در کرایو، امری ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه فعالیت فاکتور VIII در کرایو به دو روش تشکیل لخته و رنگ‌زایی مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه تحلیلی، میانگین فعالیت فاکتور VIII در ۴۸ نمونه کرایواز گروه‌های مختلف خونی به دو روش تشکیل لخته و رنگ‌زایی بررسی شد. سپس دو روش با یکدیگر به کمک آزمون‌هایpaired t test و Reliability و نرم‌افزار SPSS ۱۶ مقایسه گردیدند.

یافته‌ها

میانگین فعالیت فاکتور VIII به روش تشکیل لخته، ۱۲/۷۴ ± ۷۶/۱۹ و به روش رنگ‌زایی ۱۲/۱۸ ± ۹۱/۷۱ بود. هم چنین اختلاف معناداری بین نتایج به دست آمده از دو روش دیده شد و دو روش از همبستگی بالایی برخوردار بودند(r= ۰/۹۲ و p= ۰/۰۰۰۱).

نتیجه گیری

اگر چه روش تشکیل لخته روشی مناسب برای اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII در پلاسماهای تولیدی می‌باشد، اما روش رنگ‌زایی نیز از همبستگی بالایی با آن برخوردار است. ضمن این که اختلاف معناداری بین فعالیت فاکتور VIII اندازه‌گیری شده با دو روش وجود دارد.

کلمات کلیدی: کرایو پرسیپیتیت کواگولوم، فاکتور VIII، ایران، روش‌ها، هموفیلی A

تاریخ دریافت : ۸۹/۱۲/۱۵
تاریخ پذیرش : ۹۰/۴/۱۵

۱ـ مؤلف مسؤول: کارشناس ارشد خون‌شناسی ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و پایگاه منطقه‌ای آموزشی انتقال خون تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۵۶۵- ۱۴۱۵۵
۲ـ کارشناس ارشد خون‌شناسی ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۳ـ کاردان انتقال خون ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و پایگاه منطقه‌ای آموزشی انتقال خون تهران ـ ایران

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

اگر چه در کشورهای در حال توسعه، فاکتور VIII نوترکیب و کنسانتره‌های ویروس‌زدایی شده فاکتور VIII اولین انتخاب در جهت درمان بیماران هموفیلی A می‌باشد، اما در کشور ما کرایو یکی از منابع اصلی تولید فاکتور VIII کنسانتره است. فاکتور VIII یکی از مهم‌ترین فاکتورهای ناپایدار موجود در کرایو می‌باشد که فعالیت آن به عنوان شاخص کیفی کرایو مطرح می‌شود(۲-۱). از آن جایی که خطر خون‌ریزی در مبتلایان به فقر فاکتور VIII به فعالیت فاکتور VIII تزریق شده بستگی دارد، انتخاب روش مناسب برای اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII در کرایو، از اهمیت زیادی برخوردار است. روش‌های متعددی برای اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII وجود دارد که از آن جمله می‌توان به one-stage clotting ، two-stage clotting و رنگ زایی (chromogenic) اشاره کرد. روش تشکیل لخته (clotting) بر اساس مدت زمان ایجاد لخته توسط نمونه مورد نظر در پلاسمای فاقد فاکتورVIII و روش رنگ‌زایی بر پایه رنگ ایجاد شده در اثر فعال شدن فاکتور X طراحی شده است(۵-۳). مطالعه‌های مختلفی مبنی بر مقایسه این دو روش با یکدیگر برای اندازه‌گیری فاکتور VIII وجود دارد. چندلر نشان داد که در پلاسمای مبتلایان به هموفیلی، روش رنگ‌زایی دارای دقت بالاتری نسبت به روش تشکیل لخته برای اندازه‌گیری فاکتور VIII است(۶).

هم چنین نتایج روزن حکایت از آن دارد که رنگ‌زایی، روش مناسبی برای اندازه‌گیری فاکتور VIII در پلاسما می‌باشد(۷). از آنجایی که هنوز در کشور ما مطالعه‌ای مبنی بر تاثیر روش اندازه‌گیری بر فعالیت فاکتور VIII انجام نشده است، در این مطالعه میانگین فعالیت فاکتور VIII در کرایو به دو روش تشکیل لخته و رنگ‌زایی مورد بررسی قرار گرفت و با مقایسه فعالیت فاکتور VIII به دو روش، روشی دیگر برای اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII در کرایو معرفی گردید.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه تحلیلی، ۴۸ کیسه خون کامل، از گروه‌های مختلف خونی به صورت تصادفی از اهداکنندگان پایگاه انتقال خون تهران گرفته شد. سپس کیسه‌ها با دور بالا سانتریفیوژ شده و پلاسما با استفاده از دستگاه اکستراکتور(LMB technologist, GmbH) جدا گردید. سپس پلاسماهای تولیدی در بلاست فریزر(سینا ابتکار)، فریز شده و در منهای ۳۰ درجه سانتی‌گراد یا پایین‌تر نگهداری شدند. در مرحله بعد پلاسماهای تولیدی در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. در طی این مدت رسوب سفید رنگ (کرایو) تشکیل شد. سپس پلاسمای رویی جدا شده و رسوب کرایو در ۱۰ تا ۱۵ میلی‌لیتر پلاسما معلق گشته و دوباره فریز گردید.

اندازه‌گیری فعالیت فاکتورVIII به روش تشکیل لخته با کیت دیاگنوستیکا استاگو(فرانسه) و رنگ‌زایی با استفاده از کیت تکنوکلون(اتریش) انجام شد. هم چنین در هر دو روش از دستگاه دیاگنوستیکا استاگو استفاده گردید. اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII، یک ماه پس از تولید کرایو صورت گرفت. برای مقایسه میانگین فعالیت فاکتور VIII و بررسی ارتباط بین دو گروه، از آزمون‌های paired t-test و Reliability و نرم‌افزار SPSS ۱۶ استفاده شد. p value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار محسوب شد.

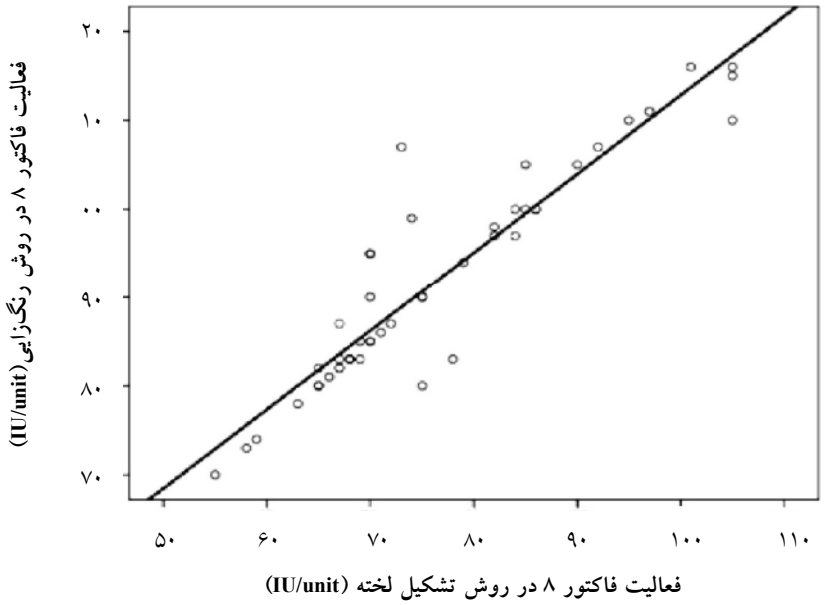
یافته‌ها

میانگین فعالیت فاکتور VIII به روش تشکیل لخته، ۱۲/۷۴ ± ۷۶/۱۹ و به روش رنگ‌زایی ۱۲/۱۸ ± ۹۱/۷۱ بود. به علاوه اختلاف معنی‌داری بین نتایج به دست آمده از دو روش دیده شد(p= ۰/۰۰۰۱). به طوری که میانگین فعالیت فاکتور VIII اندازه‌گیری شده با روش رنگ‌زایی به صورت معنی‌داری بالاتر از فعالیت فاکتور VIII اندازه‌گیری شده با روش تشکیل لخته بود. با وجود این، دو روش از همبستگی بالایی برخوردار بودند(r =۰/۹۲). هم چنین بررسی ارتباط بین دو گروه نشان داد که فاصله اطمینان همبستگی بین این دو گروه ۰/۹۵ – ۰/۸۷ می‌باشد(شکل ۱).

بحث

نتایج تحقیق حکایت از آن دارد با وجود آن که اختلاف معنی‌داری بین نتایج به دست آمده از دو روش وجود دارد،

Archive of SID
www.SID.ir



شکل۱: همبستگی دو روش تشکیل لخته و رنگ‌زایی در اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII در کرایو. این همبستگی ۰/۹۲ می‌باشد.

اما دو روش از همبستگی بالایی با یکدیگر برخوردار می‌باشند. این نتایج با نتایج به دست آمده در مطالعه‌های دیگر منطبق است. در مطالعه‌ای که توسط روزن بر روی نمونه‌های پلاسمای افراد سالم، ناقلین هموفیلی و مبتلایان به نوع خفیف و شدید هموفیلی انجام شد، مشخص گردید که در سطوح مختلف فاکتور VIII ، همبستگی بالایی بین دو روش وجود دارد. وی پیشنهاد کرد که این روش، روشی مناسب برای اندازه‌گیری فاکتور VIII در پلاسما می‌باشد(۷).

سانتورو و همکارانش نشان دادند که روش تشکیل لخته نسبت به روش رنگ‌زایی از حساسیت بالایی برخوردار می‌باشد(۸). چندلر با مقایسه این دو روش در پلاسمای مبتلایان به هموفیلی نشان داد که اختلاف معناداری بین دو روش وجود داشته و روش رنگ‌زایی دارای دقت بالاتری نسبت به روش لخته برای اندازه‌گیری فاکتور VIII است(۶).

ضمن این که در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که هپارین، لیپرودین، مهارکننده‌های لوپوسی و سایر عوامل موجود در پلاسما از جمله VWF ، تاثیری بر میزان فعالیت فاکتور VIII اندازه‌گیری شده به روش رنگ‌زایی ندارند(۹). در حالی که این عوامل به عنوان عوامل مداخله‌گر در روش تشکیل لخته محسوب می‌شوند.

در حال حاضر روش مرجع برای اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII در کنسانتره‌های تولیدی، روش رنگ‌زایی است(۱۰).

هم چنین اگر چه در آزمایشگاه‌های کلینیکی، روش تشکیل لخته برای اندازه‌گیری فعالیت این فاکتور به دلیل سادگی روش و در دسترس بودن مواد مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما طبق پیشنهاد انجمن بین‌المللی ترومبوز و هموستاز، روش مرجع برای اندازه‌گیری مناسب‌تر این فاکتور، روش رنگ‌زایی می‌باشد. علی‌رغم این واقعیت‌ها، از آن جایی که اختلاف معنی‌داری بین دو روش برای اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII در کرایو وجود داشته و روش رنگ‌زایی مقادیر بالاتری را نسبت به روش تشکیل لخته نشان می‌دهد و هم چنین فعالیت فاکتور VIII به عنوان شاخص کیفی کرایو محسوب می‌شود، روش تشکیل لخته نسبت به روش رنگ‌زایی برای اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII در پلاسما و کرایو مناسب‌تر به نظر می‌رسد. به هر حال مطالعه‌های بیشتری به منظور تایید استفاده از روش رنگ‌زایی برای اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII در

Archive of
www.SID.ir

کرایو و پلاسما نیاز است.

نتیجه‌گیری

اگر چه روش تشکیل لخته روشی مناسب برای اندازه‌گیری فعالیت فاکتور VIII در پلاسماهای تولیدی می‌باشد، اما روش رنگ‌زایی نیز از همبستگی بالایی با آن برخوردار است. ضمن این که اختلاف معناداری بین فعالیت فاکتور VIII اندازه‌گیری شده با دو روش وجود دارد.

References :

1- Farrugia A. Plasma for fractionation: safety and quality issues. Haemophilia 2004; 10(4): 334-40.
2- Myllyla G. Factors determining quality of plasma. Vox Sang 1998; 74 Suppl 2: 507-11.
3- Over J. Methodology of the one-stage assay of factor VIII (VIII:C). Scand J Haematol Suppl 1984; 41: 13–24.
4- Barrowcliffe TW. Methodology of the two-stage assay of Factor VIII (VIII: C). Scand J Haematol Suppl 1984; 41: 25-38.
5- Kleinveld HA, Andersson NE, van Voorthuizen H, den Hartog J, de Groot PG. Determination of coagulation factor VIII activity by a chromogenic substrate method on STA, an automated coagulation analyzer. Scand J Clin Lab Invest 1999; 59(5): 335-41.
6- Chandler WL, Ferrell CH, Lee J, Tun T, Kha H. Comparison of three methods for measuring factor VIII levels in plasma. Am J Clin Pathol 2003; 120(1): 34-9.
7- Rosen S, Andersson M, Blomback M, Hägglund U, Larrieu MJ, Wolf M, *et al*. Clinical application of a chromogenic substrate method for determination of factor VIII activity .Thromb Haemost 1985; 54(4): 818-23.
8- Santoro C, Iorio A, Ferrante F, Pallotta A, Pignoloni P, Biondo F, *et al*. Performance of recalibrated ReFacto laboratory standard in the measurement of FVIII plasma concentration via the chromogenic and one-stage assays after infusion of recalibrated ReFacto (B-domain deleted recombinant factor VIII). Haemophilia 2009; 15(3):779-87.
9- Butenas S, Parhami-Seren B, Undas A, Fass DN, Mann KG. The normal factor VIII concentration in plasma. Thromb Res 2010; 126(2): 119-23.
10- Barrowcliffe TW, Raut S, Sands D, Hubbard AR. Coagulation and chromogenic assays of factor VIII activity: general aspects, standardization, and recommendations. Semin Thromb Hemost 2002; 28(3): 247-56.

Archive of SID

www.SID.ir

Short Communication

Evaluation of the two FVIII assay types (clotting and chromogenic) for measuring FVIII activity in cryoprecipitate

Omidkhoda A.[1,2], Tabatabaei M.R.[2], Atarodi K.[2], Karimi K.[1,2]

[1]*Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine,Tehran,Iran*
[2]*Tehran Regional Educational Blood Transfusion Center, Tehran, Iran*

Archive of SID

Abstract

Background and Objectives

In Iran, cryoprecipitate is an important plasma product for coagulation factors such as factor VIII (FVIII) to be ensured. As risk of bleeding is associated with FVIII activity, it is important to choose a suitable method for its measurement. In the present study we compared clotting and chromogenic assays on FVIII activity in cryoprecipitate.

Materials and Methods

FVIII activity of cryoprecipitate from 48 donors with different blood groups was measured by clotting and chromogenic assays. Then the two assay types were compared with each other.

Results

Although the absolute values showed a significant difference, a good correlation was seen between one-stage clot-based and chromogenic assays for measuring FVIII activity in cryo.

Conclusions

Although the one-stage clotting assay is a suitable method for measuring FVIII activity, the chromogenic assay has a good correlation with clotting based assay. Also a significant difference was seen between the two methods.

Key words: Cryoprecipitate Coagulum, Factor VIII, Iran, Methods, Hemophilia A
Sci J Iran Blood Transfus Organ 2011; 8(3): 229-233

Received: 6 Mar 2011
Accepted: 6 Jul 2011

Correspondence: Omidkhoda A., MS of Hematology. Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine and Tehran Regional Educational Blood Transfusion Center, Iran
P.O.Box: 14155-1565, Tehran, Iran. Tel: (+9821)88959093-5; Fax : (+9821)88959096
E-mail: *azadeh_omidkhoda@yahoo.com*

www.SID.ir