

دراسة فسلجية للأتزان الدموي في مرضى نزف الدم الوراثي
*مثنى عبد القادر المهداوي **حميد محمود مجيد **هند طاهر النجار
دراسة فسلجية للأتزان الدموي في مرضى نزف الدم الوراثي
*مثنى عبد القادر المهداوي **حميد محمود مجيد **هند طاهر النجار

* كلية العلوم - قسم علوم الحياة \ جامعة ديالى

** كلية التربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة \ جامعة ديالى

* تستقبل المراسلات البريدية على العنوان :

د. مثنى عبد القادر المهداوي. قسم علوم الحياة- كلية العلوم /جامعة ديالى. المرادية- مدينة بعقوبة/محافظة ديالى- العراق

Dr. Muthanna, A.S. Al-Mahdawi/ Department of Biology / College of Science / University of Diyala Al-Muradiya - Baquba city, Diyala province, Iraq.

البريد الإلكتروني(dr.muthanna@Sciences.uodiyala.ed.iq)

الخلاصة

تضمنت الدراسة تحليل 44 عينة دم وريدي لذكور مرضى مصابين بمرض نزف الدم من مستشفى البتول التعليمي/ بعقوبة، ومستشفى حماية الطفل بمدينة الطب/ بغداد للمدة من كانون الثاني ولغاية نيسان عام 2012. لمعرفة تأثير الإصابة بمرض نزف الدم على وقت البروثرومبين (PT) و وقت الثرومبوبلاستين الجزئي المنشط (aPTT) و فعالية عامل تخثر الدم الثامن FVIII في الدم وتحديد نوع المرض.

بين التحليل الإحصائي عدم وجود فروقات معنوية في وقت البروثرومبين (PT) لدى المرضى عند موازنتها بالقيم الطبيعية للقياس (Normal value)، هذا الاختبار يعكس التركيز والفعالية السوية لعوامل التخثر ذات المسلك الخارجي التي تصنع في الكبد، يستدل منه إن سبب الإصابة قد يعود الى نقص او خلل في وظيفة أحد عوامل المسلك الداخلي لتخثر الدم. الذي تأكد بتسجيل بأنخفاض ذو قيمة إحصائية في وقت الثرومبوبلاستين الجزئي المنشط (aPTT) لدى المرضى عند موازنتها مع القيم الطبيعية للقياس (Normal value) والتي تعكس انخفاض فعالية عوامل التخثر في المسلك الداخلي لوقف النزف الدموي (العوامل الثامن والتاسع والعاشر والحادي عشر والثاني عشر FXII,FXI,FX, FIX, FVIII).

وبين اختبار فعالية عامل تخثر الدم الثامن ان معظم المرضى المشمولن بالدراسة يعانون إنخفاض معنوياً في فعالية عامل تخثر الدم الثامن وبمستوى فعالية تراوحت بين 0.46% - 30% موازنة بالقيم الطبيعية للفعالية مبينا ان جميع المرضى المشمولين بالدراسة مصابين بمرض نزف الدم الوراثي الهيموفيليا النوع A ودرجات متفاوتة، حيث كان 77.78% (34 حالة) من النوع الحاد،(الفعالية اقل من 1%) و 17.78% (8 حالة) كانت من النوع المعتدل (الفعالية 5-1%). في حين كان 4.44% من المرضى (2 حالة) من النوع الخفيف (الفعالية 5-35%).

الكلمات المفتاحية: هيموفيليا A، هيموفيليا الحاد، وقت البروثرومبين، وقت الثرومبوبلاستين الجزئي المنشط، فعالية العامل الثامن للتخثر FVIII:C.

Physiological study of Haemostatic Disorder of Haemophilia Patients

*Al-Mahdawi, Muthanna A.S.;**Majeed, hameed M.; **Al-Najaar, Hind T.

* College of Science - Department of Biology / University of Diyala

** College of education for pure science- Department of Biology / University of Diyala

Received 27 October 2013 ; Accepted 11 January 2015

دراسة فسلجية للأنتزان الدموي في مرضى نزف الدم الوراثي
 *مثنى عبد القادر المهداوي **حميد محمود مجيد **هند طاهر النجار

Abstract

The study included a total of 44 venous blood sample of male patients with Haemophilia collected at Albatol educational hospital / Baquba and child protection hospital / Baghdad for the period from January to April of 2012 to investigate the effect of Haemophilia on blood clotting time parameter: Prothrombine time (PT), activated Partial Thromboplastin time (aPTT) and FVIII activity, and to detect the type of Haemophilia.

Statistical analysis showed no significant differences in (PT) of the patients when compared with normal value of the assay, this test reflects the efficiency and normal concentration of the extrinsic pathway clotting factors which made in liver, an indication that the cause of the disease may be due to a deficiency or dysfunction of the intrinsic pathway of the blood coagulation cascade. These results were confirmed by decreased values of the partial Thromboplastin time (aPTT) in patients when balanced with normal values of the measurement, which reflects decline in the effectiveness of the coagulation factors of the internal pathway of blood coagulation cascade which include the factors FVIII, FIX, FX, FXI and FXII.

Factor VIII activity test revealed that most Haemophilial patients in the study have a significant decline in FVIII blood-clotting activity which was ranged between 0.46% - 30% of normal values of activity. Which indicate that all the patients in this study suffering of Haemophilia type A with different degree of severity, The disorder was sub typed to acute type in 77.78% (34 cases, FVIII level less than 1% of normal), 17.78% moderate (8 cases, FVIII level 1-5% of normal) and 4.44% of mild (2 cases, FVIII level more than 5% but less than 40% of normal).

Keywords: Haemophilia A, prothrombine Time, prothromboplastin Time, Factor VIII activity.

المقدمة

الإعتلالات النزفية (bleeding disorder) ميل للكدمات أو النزف بسهولة مفرطة ولمدة طويلة. قد تكون ناشئة عن توارث جين معين (متوارثة inherited) أو بسبب حالة أو عامل يتطور خلال حياة الفرد (مكتسبة acquired). وتحدث بسبب خلل في عملية تكون الخثرة الدموية نتيجة فقدان أو نقص أو شذوذ في عمل مكوناتها. وهذه الإعتلالات قد تتضمن مشاكل في الأوعية الدموية blood vessels أو إنتاج و وظيفة الصفائح الدموية platelets، أو مشاكل في إنتاج أو وظيفة واحد أو أكثر من عوامل التخثر coagulation factors، أو مشاكل في تكامل و ثباتية الخثرة الدموية (Shetty S, 2011). الإعتلالات النزفية المتوارثة تتضمن أنواع الهيموفيليا Hemophilia A (الهيموفيليا A [Haemophilia A] نقص العامل الثامن و الهيموفيليا B [Haemophilia B] نقص العامل التاسع المرتبطين بالجنس و الهيموفيليا C [Haemophilia C] غير المرتبطه بالجنس نقص العامل الحادي عشر) ومرض فونويلبراند von Willebrand disease وحالات نادر لنقص عوامل تخثر أخرى (Di Michele DM, et al.2014). يعد الهيموفيليا A أكثر الإعتلالات النزفية المرتبطة بعوامل التخثر شيوعاً بقدر حدوثه بمعدل حالة واحدة في كل ٥.٠٠٠ ولادة من الذكور و الهيموفيليا B بمعدل حالة واحدة في كل ٢٠.٠٠٠ ولادة من الذكور (Kasper and Lin, 2007). أما حالات مرض فون ويلبراند VWD المهمة سريريا فتقدر بحالة واحدة لكل ١٠.٠٠٠ فرد (Laffan et al., 2004)، التقديرات لحدوث بقية الإعتلالات النادرة تتراوح من حالة لكل مليون في نقص العامل الثالث عشر الى حالة لكل ١٠٠.٠٠٠ في نقص العامل الحادي عشر. ولحد علم الباحثين لا توجد تقديرات لمعدلات حدوث هذه الإعتلالات في المجتمع العراقي لذا هدفت الدراسة تقصى حالة تخثر الدم عند المرضى العراقيين المصابين بأمراض نزف الدم المراجعين لبعض المركز المتخصصة بالأمراض النزفية لتحديد نوع المرض وتكوين مؤشر على أنواع الإعتلالات النزفية في المرضى العراقيين.

دراسة فسلجية للأنتزان الدموي في مرضى نزف الدم الوراثي
*مثنى عبد القادر المهداوي **حميد محمود مجيد **هند ظاهر النجار

المواد وطرائق العمل

أجريت الدراسة على 44 مريض مصاب بنزف الدم الوراثي بواقع 15 مصاب من مركز أمراض الدم في مستشفى البتول التعليمي بمدينة بعقوبة، و 29 مريض من ردهة الأمراض النزفية الوراثية في مستشفى حماية الطفل بدار التمريض الخاص بمدينة الطب بمحافظة بغداد، تراوحت أعمارهم بين (1-55) سنة للمدة من كانون الثاني 2012 ولغاية نيسان 2012، تمت مقابلة المرضى أو ذويهم المرافقين، ودونت أستمارة خاصة (Rodeghiero F. *et al.* 2010) شملت المعلومات الديموغرافية والتاريخ المرضي للعائلة Family history، وتم إجراء تحليل شجرة العائلة Family Pedigree للتحقق من وجود اصابات الشكل الوراثي للمرض وتميزها عن الحالات التلقائية Sporadic نتيجة طفرة وراثية بالمريض نفسه او الحالات المكتسبة.

جمع العينات: سحب 2.5 مليلتر من الدم الوريدي من المرضى و وضع في إنبوبة إختبار حاوية على 0.25 مليلتر من سترات الصوديوم Trisodium citrate المانعة للتخثر تركيز 2.3%. وعرضت للتردد المركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة ولمدة 10 دقائق لفصل البلازما عن باقي مكونات الدم الأخرى، ثم نقلت البلازما الى أنابيب نظيفة لغرض تقدير زمن البروثرومبين (PT) وزمن الثرومبولاستين الجزئي المنشط (aPTT) وفعالية عامل تخثر الدم الثامن (FVIII:C)، التي أجريت خلال 2-3 ساعة من سحب النموذج في مختبر الأمراض النزفية الوراثية في مستشفى حماية الطفل بمدينة الطب وفق المخطط الموضح في الشكل-1.

الفحوصات المختبرية:

تقدير زمن البروثرومبين (PT): أتبعنا الطريقة السريعة (Quick Method) لحساب زمن البروثرومبين الموصوفة من قبل الباحث Talib (1996) و كالاتي: وضع 0.1 مليلتر من البلازما في أنبوبة إختبار معقمة وجافة مثبتة في حمام مائي بدرجة 37°C بواسطة حامل الأنابيب Tube rake ولمدة 10 دقائق، بعدها إضيف 0.2 مليلتر من كاشف الثرومبولاستين المدفء مسبقاً بدرجة حرارة 37°C ، المزج بالرج الخفيف وسجل الوقت اللازم لظهور الخثرة بالثانية. وقت ظهور الخثرة للمكرر يجب أن لا يختلف بما يزيد عن 10%.

تقدير زمن الثرومبولاستين الجزئي المنشط aPTT: إتبعنا الطريقة المثبتة في دليل مركز المعايير السريرية والمختبرية (CLSI) لحساب زمن الثرومبولاستين الجزئي المنشط aPTT (Adcock *et al.*, 2008). أجري الإختبار بمكررين كالاتي:

1- وضع 0.1 مليلتر من كاشف السيفاليت (APTT reagent) في إنبوتي إختبار زجاجيتين خاصة بإختبار التخثر (75×10 mm) مسخنة الى 37°C ، أضيف للإنبوبة الأولى 0.1 مليلتر من البلازما القياسية Control Plasma، مع تشغيل ساعة التوقيت الرئيسية. يعقبها إضافة البلازما القياسية الى الإنبوبة الثانية ونمزج. تترك الإنبوتان في الحمام المائي على درجة 37°C لمدة 3 دقائق عندها يضاف 0.1 مليلتر من محلول كلوريد الكالسيوم المسخن بدرجة 37°C الى كل إنبوبة بالتعاقب وتمزج مع تشغيل ساعة قياس جديدة لكل إنبوبة ويسجل وقت تكون الخثرة بالثانية.

2- تعاد الخطوات في الفقرة 1 أعلاه باستخدام البلازما قيد الإختبار بدلاً من البلازما القياسية و يسجل وقت تكون الخثرة بالثانية. زيادة زمن aPTT للبلازما قيد الإختبار (مقارنة بالبلازما القياسية) مع قيمة طبيعية لزمن البروثرومبين (PT) يوشر إحتمال نقص العوامل VIII, IX, XI, XII و الكاينينوجين ذو الوزن الجزئي العالي (High molecular weight kininogen) والبريكالين Prekallikrein أو إحتمال وجود مثبط لأحد العوامل.

3- عند تسجيل زيادة زمن aPTT للبلازما قيد الإختبار (مقارنة بالبلازما القياسية) يتم إجراء إختبار قياس مقدار التصحيح وذلك بعمل خليط متساوي (1:1)، جزء واحد من البلازما القياسية مع جزء واحد من البلازما قيد الإختبار وإعادة الإختبار أعلاه فإذا كان مقدار التصحيح في زمن تكون الخثرة أكثر من نصف قيمة الفرق بين زمن التخثر للبلازما القياسية والمختبرة يدل على وجود نقص في أحدعوامل التخثر. فإذا كان التصحيح قليل فيدل على وجود مثبط لأحد عوامل التخثر (Chang, *et al.* 2002).

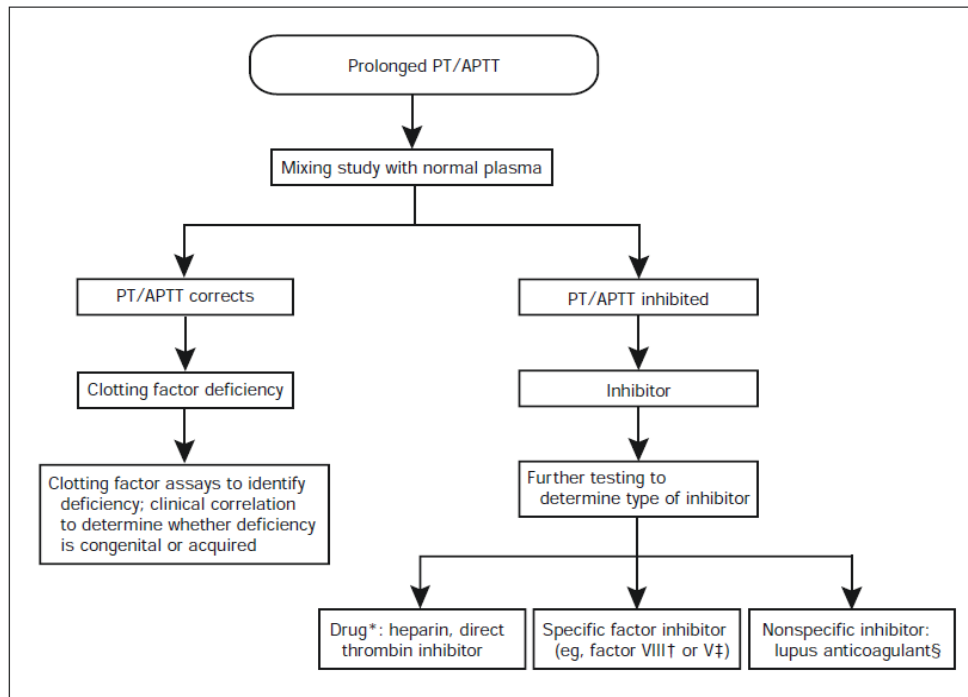
تقدير فعالية العامل الثامن FVIII :

قدرت فعالية العامل الثامن حسب الطريقة المثبتة في دليل مركز المعايير السريرية والمختبرية (CLSI) ذات المرحلة الواحدة المستندة على حساب زمن ال aPTT (Adcock *et al.*, 2008). في هذه الطريقة يتم تقدير فعالية العامل الثامن من خلال المقارنة بين قابلية تخافيف محلول البلازما القياسي وتخافيف البلازما قيد الإختبار على تصحيح قيمة زمن aPTT للبلازما الخالية تماماً من العامل الثامن. إستخدمت الكواشف والمحاليل المجهزة مع عدة تقدير فعالية العامل الثامن (STAGO France) وتم التقدير كالاتي:

دراسة فسلجية للأتزان الدموي في مرضى نزف الدم الوراثي

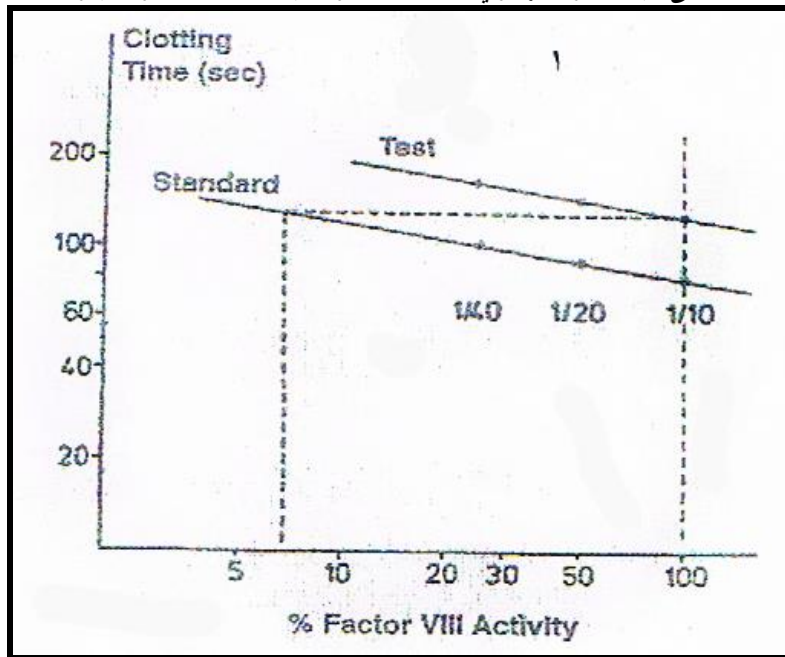
*مثنى عبد القادر المهداوي **حميد محمود مجيد **هند طاهر النجار

١. حضر التخفيف 1/10 من البلازما القياسية والبلازما قيد الإختبار بأستخدام المحلول المتعادل (Owrens buffer) (OBS) (Saline) في أنابيب بلاستيكية (في حالة توقع مستوى منخفض جداً للعامل الثامن في البلازما قيد الإختبار يتم البدء بالتخفيف 1/5).
٢. بالحجم 0.2 مليلتر من البلازما القياسية والبلازما قيد الإختبار تحضر تخافيف الضعف بأستخدام المحلول المتعادل (OBS) من 1/10 الى 1/20 و 1/40 في أنابيب بلاستيكية. وتمزج جيداً وتحفظ في الحمام الثلجي (هذه الخطوة ضرورية في حالة عدم التقدير مباشرة بعد التحضير او إذا كانت درجة حرارة المختبر اعلى من 25C⁰ وذلك لتلف العامل الثامن).
٣. يضاف من كل تخفيف من البلازما قيد الإختبار والقياسية 0.1 مليلتر في إنبوبة زجاجية (75x10mm) ويضاف لكل إنبوب 0.1 مليلتر من البلازما الخالية من العامل الثامن (Factor VIII deficient) وينقل الى الحمام المائي على درجة 37C⁰.
٤. يضاف لكل إنبوبة 0.1 مليلتر من كاشف aPTT وتترك في الحمام المائي لمدة 5 دقائق، عند الدقيقة الخامسة يضاف 0.1 مليلتر من محلول كلوريد الكالسيوم ويسجل الوقت اللازم للتخثر لكل تخفيف.
٥. يحضر مع التخافيف إنبوبة بلانك (Blank) وتتضمن 0.1 مليلتر من محلول (OBS) و 0.1 مليلتر من بلازما خالية من العامل الثامن و 0.1 مليلتر من كاشف aPTT و 0.1 مليلتر من محلول كلوريد الكالسيوم. زمن تخثر محلول البلازما يجب أن يكون أطول من زمن التخثر عند وجود 1 % فعالية من العامل الثامن FVIII المسجلة في المنحني القياسي.
٦. يرسم للمنحني القياسي (لوغارتم التركيز مقابل زمن التخثر) ويعتمد التخفيف 1/10 بإعتباره الفعالية 100 % والتخفيف 1/20 بإعتباره الفعالية 50 % والتخفيف 1/40 بإعتباره الفعالية 25 % . ويتم الحصول على خطين متوازيين للبلازما قيد الإختبار والقياس كما موضح بالشكل-٢.



شكل-١: مخطط الإختبارات عند زيادة زمن البروثرومبين (PT) او زمن الثرومبوبلاستين الجزئي المنشط (APTT) لتمييز حالة نقص عوامل التخثر (clotting factor deficiency) عن وجود مثبطات عوامل التخثر (Kamal *et.al.*, 2007).

دراسة فسلجية للأتزان الدموي في مرضى نزف الدم الوراثي
*مثنى عبد القادر المهداوي **حميد محمود مجيد **هند طاهر النجار



شكل-٢: المنحني القياسي لحساب نسبة فعالية العامل الثامن للتخثر (البلازما المختبرة اعلاه تمتلك 7% من فعالية العينة القياسية، إذا كانت فعالية العامل في البلازما القياسية ٨٥ وحدة \ dl تحتوي البلازما المختبرة 0.07xdl/485 =dl/46 وحدة).

النتائج والمناقشة:

فحوصات الأتزان الدموي Haemostatic test على مرضى نزف الدم وشملت زمن البروثرومبين Prothrombine time (PT) و زمن الثرومبوبلاستين الجزئي المنشط (aPTT) وفعالية العامل الثامن للتخثر FVIII:C وتم إستخراج المتوسط الحسابي لهذه الفحوصات.

بين إختبار زمن تخثر البروثرومبين (PT) أن معدل زمن التخثر للمرض كان 13.34 ثانية، وكانت القيمة الطبيعية Normal value 12-13 ثانية. تشير النتائج في الجدول (1) الى عدم وجود فروقات معنوية

الجدول (1) زمن البروثرومبين PT وزمن الثرومبوبلاستين الجزئي المنشط aPTT لدى المرضى بالموازنة مع القيم الطبيعية.

زمن البروثرومبين / ثانية		زمن الثرومبوبلاستين الجزئي المنشط/ ثانية	
القيم الطبيعية	المتوسط الحسابي للمرضى	القيم الطبيعية	المتوسط الحسابي للمرضى
13-12	13.34	41-25	83.13

دراسة فسلجية للأتزان الدموي في مرضى نزف الدم الوراثي

*مثنى عبد القادر المهداوي **حميد محمود مجيد **هند طاهر النجار

في قياس زمن البروثرومبين PT إن الإرتفاع الطفيف لمجموعة المرضى بالموازنة مع القيم الطبيعية لم يكن معنوياً. ويعكس إختبار زمن البروثرومبين الكفاءة الإجمالية لمسلك التخثر الخارجي (Extrinsic system) الذي يكون حساساً للتغيرات في عوامل التخثر الخامس V و السابع VII و العاشر X و بدرجة أقل العامل الثاني (Prothrombine) II لكنه غير مناسب للكشف عن التغيرات الحاصلة في مستويات الفايبرينوجين (Fibrinogen) في حالة تدني مستويات الفايبرينوجين أو في حالة وجود مثبطات. من خلال النتائج تبين إن جميع المرضى المشمولين في هذه الدراسة لا يعانون من أي خلل في مكونات مسلك التخثر الخارجي.

بينت نتائج إختبار زمن الثرومبلاستين الجزئي المنشط (aPTT) أن معدل زمن التخثر للمرضى كان 83.13 ثانية، وتراوحت القيمة الطبيعية Normal value لطريقة القياس المتبعة بين 41-25 ثانية (الجدوا-1)، وكان الإرتفاع لمجموعة المرضى بالموازنة مع القيم الطبيعية معنوياً.

إن قياس زمن الثرومبلاستين الجزئي aPTT إختبار غير متخصص (non-specific test) للمسار الداخلي للتخثر، وبالإشتراك مع إختبار زمن البروثرومبين (PT) يكونان إختبار الغريبة الأكثر فائدة للكشف عن النقص في عوامل التخثر الثامن VIII و التاسع IX و الحادي عشر XI والثاني عشر XII. كما أن زمن التخثر في إختبار aPTT أطول في حالة أي نقص عوامل التخثر في المسار المشترك Common Pathway (النقص في العوامل الخامس V و العاشر X و II و بدرجة أقل للفايبرينوجين) وفي حالة توافر المثبطات. حيث تزداد قيمة زمن التخثر في إختبار aPTT أما نتيجة حالة خلقية مثل مرض الهيموفيليا A,B أو نتيجة حالة مكتسبة مثل أمراض الكبد (Laffan et al.,2006). وهذه النتائج إتفقت مع ماجاءت بها كثير من الدراسات التي إجتمعت على عدم تغير زمن تخثر (PT) للمرضى المصابين بنزف الدم الوراثي أن نتائج إختبار aPTT أكد وجود خلل في فعالية وقف النزف الدموي لعوامل التخثر التي لها علاقة في المسار الداخلي (Intrinsic pathway) لتخثر الدم والتي تشمل (FXI,FX, FIX, FVIII) (Chambrlain,1995) وأن سبب الإصابة بالمرض يعود الى نقص في أحدها (Bolton and Pasi, 2003).

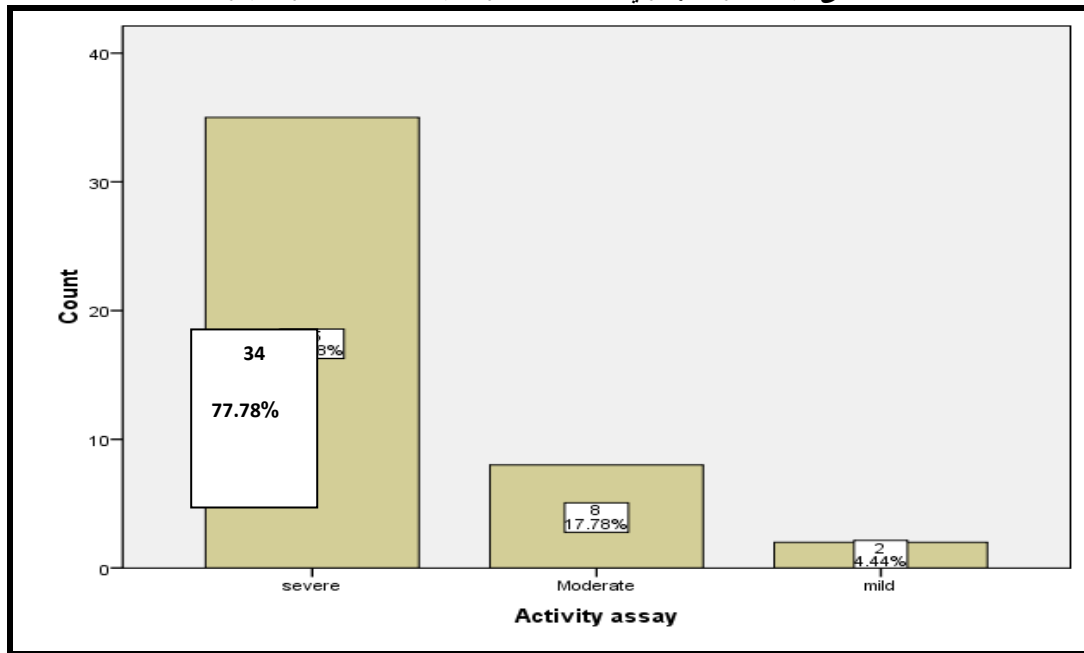
ولتحديد العامل المسبب للنزيف يتم إختبار فعالية كل عامل على حدة، جرت العادة البدء بقياس تركيز العامل الثامن للتخثر للإحتمالية العالية المسببة للمرض (Giangrande,2003;Turgeon,2004).

وقد بينت نتائج إختبار فعالية العامل الثامن لدى المرضى إنخفاضاً معنوياً في فعالية العامل الثامن لجميع المرضى (الجدول-2) حيث تراوحت الفعالية بين 0.46% - 30% موازنة بالقيم الطبيعية. مبينا أن جميع المرضى الذين شملتهم عينة الدراسة يعانون من مرض نزف الدم الوراثي (الهيموفيليا) نوع A و بدرجات متفاوتة حيث كان 77.78% (34 حالة) من النوع الحاد، (الفعالية أقل من 1%) و 17.78% (8 حالة) كانت من النوع المعتدل (الفعالية 1-5). في حين كان 4.44% من المرضى (2 حالة) من النوع الخفيف (الفعالية 5-35) كما مبين بالشكل (2).

الجدول (2) النسبة المئوية % لفعالية العامل الثامن لدى المرضى موازنة بالقيم الطبيعية.

الانماط	القيم الطبيعية (%)	المتوسط الحسابي للمرضى
النمط الحاد Severe	less than 1	0.46
النمط المعتدل Moderate	1-5	2.04
النمط الخفيف Mild	5-35	30

دراسة فسلجية للأتزان الدموي في مرضى نزف الدم الوراثي
*مثنى عبد القادر المهداوي **حميد محمود مجيد **هند طاهر النجار



شكل (2) فعالية العامل الثامن للتخثر لدى مرضى الهيموفيليا A.

هذه النتائج تتفق مع الدراسات السابقة التي صنفت المرض تبعاً لمستوى فعالية العامل الثامن بالبلازما الى ثلاثة أنواع حاد Severe عندما يكون مستوى فعالية العامل أقل من 1% ومعتدل Moderate عندما يكون مستوى فعالية العامل بالبلازما بين 1-5% وخفيف Mild عندما يكون مستوى فعالية العامل بالبلازما من 5-35% (Preston, et al; 2004). حيث ان الثامن FVIII هو أحد بروتينات تخثر الدم ومن نوع البروتينات المرتبطة بالسكر Glycoprotein. له وظيفة أساسية وجوهرية في عملية التخثر الداخلية المنشأ (Kane and Davie, 1988; Lenting et al., 1988). سجلت هذه الدراسة نسبة مرتفعة للشكل الحاد من مرض الهيموفيليا A الذي بلغ نسبة 77.78% (34 حالة) في العينة المشمولة. قد يكون ذلك انعكاساً لطبيعة الطفرات الوراثية المسببة للمرض الذي يكون في الغالب مرتبط مع انقلاب الأنترون ٢٢ في جين العامل الثامن و التي يكون ترددها اعلى من بقية الطفرات (Rossetti et al., 2011). ولحد معرفتنا فإنه لا توجد في العراق دراسات لتحديد نوع الطفرات المسببة للمرض.

المصادر:

1. Adcock D.M., Hoefner D.M., Kottke-Marchant K., Marlar R.A., Szamosi D.I., Warunek D.J. (2008). Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays: Approved Guideline— **Fifth Edition**. Wayne, Pa: CLSI; 2008. CLSI document H21-A5. Vol. 28, No. 5.
2. Bolton-Maggs, P.H. and Pasi, K. J. (2003): Haemophilia A and B. **Lancet**; 361:180-91.
3. Chamberlain G. (1995): Obstetrics. 6th ed. Edward Arnold. London. NW. 3BH.
4. Chang S.H., et al. (2002) A "percent correction" formula for evaluation of mixing studies. **Am J Clin Pathol**, 117, 62-73.
5. Dacie J.V. and Lewis S.M. (2002): Practical Haematology Churchill. 6th ed Edinburgh.
6. Di Michele DM, Gibb C, Lefkowitz JM, Ni Q, Gerber LM, Ganguly A. (2014) Severe and moderate haemophilia A and B in US females. **Haemophilia**. 20(2): 136-43.

دراسة فلسجية للأتزان الدموي في مرضى نزف الدم الوراثي
*مثنى عبد القادر المهداوي **حميد محمود مجيد **هند طاهر النجار

7. Giangrande P L.(2003):Six Characters in search of an author: the history of the nomenclature of Coagulation factors .**Br J Haematol**;**121:703-12.**
8. GillChrist G S.; Piepgras D G.; Roskos R R.(1998): Neurologica Complication in haemophilia. In PochedlycC,ed.Haemophilia and the Child and adult .**New York, Raven press:45-68.**
9. Hollestelle M.J.; Thinnes T. and Crain K.(2001):Tissuse distribution of factor VIII gene expression in Vivo: acloser look. **J. Thromb Haemost.**; **86:855-861.**
10. Kamal A.H.; Tefferi A., and Pruthi R. K. , (2007): How to Interpret and Pursue an Abnormal Prothrombin Time, Activated Partial Thromboplastin Time, and Bleeding Time in Adults. **Mayo Clin Proc.**; **82(7):864-873.**
11. Kane W.H. and Davie E.W.(1988): Blood Coagulation factors V and VIII:Structural and Functional similarities and their relationship to hemorrhagic and thrombotic disorders. **Blood:71:539-555.**
12. Kasper CK, Lin J.C.(2007): Prevalence of sporadic and familial haemophilia. **Haemophilia**; **13: 90-92.**
13. Laffan M., Brown SA, Collins PW, *et al.*(2004). The diagnosis of von Willebrand disease: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organization. **Haemophilia 10 (3): 199–217.**
14. Laffan M.; Mine R.; Dacie J.V. and Lewis S.M. (2006): Practical haematology.**10th ed:380-401.**
15. Lenting P.J.; VanMourik J.A. and Mertens K. (1988):The life cycle of Coagulation factor VIII in View of its structure and function. **Blood: 92.11; 3983-3996.**
16. Preston FE, Kitchen S, Jennings I, et al; (2004) SSC/ISTH classification of hemophilia A: can hemophilia center laboratories achieve the new criteria? **J Thromb Haemost.**; **2(2):271-4.**
17. Rodeghiero F, Tosetto A, Abshire T, Aronald D. M., Coller B., James P., NeunertT C. and Lillicarp D. ISTH/SSC joint VWF and Perinatal/Pediatric Hemostasis Subcommittees Working Group.(2010) ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. **J Thromb Haemost**; **8 (9):2063-2065.**
18. Rossetti L C., Radic C P., Abelleyro M M., Larripa I B. and De Brasi C. D., (2011): Eighteen Years of Molecular Genotyping the Hemophilia Inversion Hotspot: From Southern Blot to Inverse Shifting-PCR. **Int. J. Mol. Sci.**, **12, 7271-7285.**
19. Talib V.H., (1996): A handbook of medical laboratory technology, **W.H.O. CBS. Publishers and Distributors.**
20. Turgeon M. L., (2004): Clinical Hematology Theory and procedures.**4th edition: 381.**