



وزارة التعليم العالي
جامعة تشرين
كلية الصيدلة
قسم الكيمياء الحيوية و الأحياء الدقيقة

**أهمية قياس إريتروبوليتين المصل قبل البدء بمعالجة فقر
الدم بالإريتروبوليتين البشري المؤشب عند مرضى الأورام في مدينة اللاذقية**

دراسة أعدت لنيل درجة الماجستير في الأحياء الدقيقة والدمويات والمناعيات

إعداد الطالبة

عبير عدنان رجب

الإشراف العلمي

د.رمال أسعد

مدرسة في كلية الصيدلة - جامعة تشرين

د.فراس حسين

مدرس في كلية الطب - جامعة تشرين

2016-2015

قدمت هذه الرسالة استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الماجستير في الأحياء الدقيقة والدمويات والمناعيات
في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة - كلية الصيدلة - جامعة تشرين

This thesis has been submitted as a partial fulfillment of the requirements for
the degree of master in Microbiology, Hematology and Immunology at
Biochemistry and Microbiology Department-Faculty of pharmacy-Tishreen
University

المرشحة

عبير رجب



Declaration تصريح

أصرح بأن هذا البحث " أهمية قياس إريثروبويتين المصل قبل البدء بمعالجة فقر الدم بالإريثروبويتين البشري المؤشب عند مرضى الأورام في مدينة اللاذقية " لم يسبق أن قبل للحصول على أية شهادة، وهو غير مقدم حالياً للحصول على أية شهادة أخرى .

المرشحة

عبر رجب



This is to declare that this work " The importance of serum erythropoietin measurement before the treatment of anemia with recombinant human erythropoietin in cancer Patients in latakia city " has not been being submitted concurrently for any other degree.

Candidate

Abeer Rajab



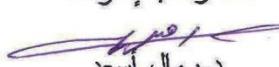
شهادة

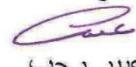
نشهد بأن البحث في هذه الأطروحة بعنوان: " أهمية قياس إريتروبوليتين المصل قبل البدء بمعالجة فقر الدم بالإريتروبوليتين البشري المؤشب عند مرضى الأورام في مدينة اللاذقية " هو نتيجة لدراسة أجرتها طالبة الدراسات العليا عبير رجب لصالح قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة - كلية الصيدلة - جامعة تشرين ، لنيل درجة الماجستير في الأحياء الدقيقة والدمويات والمناعيات بإشراف :
الدكتور فراس حسين - اختصاص / أمراض دم وأورام / - مدرس في كلية الطب - جامعة تشرين.
الدكتورة رمال أسعد - اختصاص / كيمياء حيوية سريرية / - مدرسة في كلية الصيدلة - جامعة تشرين.

وأن البحث لم يقدم سابقاً وهو غير مقدم حالياً للحصول على أية شهادة علمية أخرى، كما أن أي رجوع إلى أي بحث آخر في هذا الموضوع موثق في النص.

المشرف الرئيسي

د. فراس حسين

المشارك بالإشراف

د. رمال أسعد

المرشحة

عبير رجب

نوقشت هذه الرسالة وأجيزت بتاريخ 16 آذار 2016

لجنة الحكم:

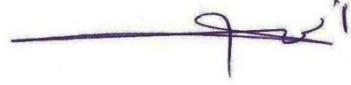
د. ميخائيل جرجس: استاذ في كلية الطب في جامعة تشرين باختصاص / أمراض دم وأورام /.



د. فراس حسين: مدرس في كلية الطب في جامعة تشرين باختصاص / أمراض دم وأورام /.



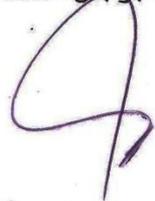
د. محمد أيمن عوامة: مدرس في كلية الصيدلة في جامعة تشرين باختصاص / كيمياء حيوية /.



بعد الاطلاع وقيام الطالب بالتصويبات المطلوبة .

لجنة الحكم :

د. ميخائيل جرجيس: أستاذ في كلية الطب في جامعة تشرين باختصاص / أمراض دم وأورام / .



د. فراس حسين: مدرس في كلية الطب في جامعة تشرين باختصاص / أمراض دم وأورام / .



د. محمد أيمن عوامة: مدرس في كلية الصيدلة في جامعة تشرين باختصاص / كيمياء حيوية / .



فهرس المحتويات

الصفحة	الموضوع
15	ملخص باللغة العربية
16	مقدمة عامة
17	أهمية وأهداف البحث
الدراسة النظرية	
19	❖ الفصل الأول : الإريتروبوليتين وتطور السلسلة الحمراء
19	1.1 الإريتروبوليتين، بنيته وإنتاجه
20	2.1 مراحل تطور السلسلة الحمراء
21	3.1 دور الإريتروبوليتين في تنظيم تشكّل الكريات الحمراء
22	4.1 الوظائف الفيزيولوجية الأخرى للإريتروبوليتين
22	5.1 آلية عمل الإريتروبوليتين
23	6.1 تنظيم إنتاج الإريتروبوليتين
24	❖ الفصل الثاني : فقر الدم عند مرضى الأورام
24	1.2 تعريف فقر الدم
24	1.1.2 التعريف السريري لفقر الدم
24	2.1.2 التعريف المخبري لفقر الدم
25	2.2 أعراض وعلامات فقر الدم
25	3.2 أسباب فقر الدم
25	1.3.2 إنتاج منخفض للكريات الحمراء

25	2.3.2 تخرب زائد للكريات الحمراء
26	3.3.2 خسارة زائدة للكريات الحمراء
26	4.2 آليات فقر الدم عند مرضى الأورام
26	1.4.2 فقر الدم الالتهابي
27	2.4.2 فقر الدم الممرض بالمعالجة المضادة للأورام
27	1.2.4.2 فقر الدم الممرض بالعلاج الكيميائي
28	2.2.4.2 فقر الدم الممرض بالعلاج الشعاعي والهرموني
28	3.4.2 فقر الدم الناجم عن سوء التغذية
29	4.4.2 فقر الدم الناجم عن زيادة ضياع الحديد
30	5.4.2 فقر الدم الانحلالي المناعي الذاتي
31	5.2 العوامل المؤثرة على شدة فقر الدم عند مرضى الأورام
31	1.5.2 نوع الورم
31	2.5.2 نوع العلاج الكيماوي
32	3.5.2 عمر المريض
32	6.2 مضاعفات فقر الدم عند مرضى الأورام
32	1.6.2 التعب
33	2.6.2 زيادة خطر الوفاة
33	3.6.2 السمية الناجمة عن العلاج الكيماوي والشعاعي
33	4.6.2 نقص الاستجابة للعلاج الكيماوي والشعاعي
34	❖ الفصل الثالث: دور الإريثروبويتين في تدبير فقر الدم عند مرضى الأورام
34	1.3 تطور مركبات الإريثروبويتين والصيغ المتوافرة

35	2.3 المرضى المستهدفون بالعلاج بمركبات الإريثروبويتين
35	3.3 الجرعة الموصى بها من الإريثروبويتين
35	4.3 فعالية العلاج بمركبات الإريثروبويتين
35	1.4.3 تحسين نوعية الحياة ومعدلات البقيا
36	2.4.3 تقليل الحاجة لنقل الدم
37	3.4.3 الوقاية من فقر الدم المحرض بالعلاج الكيماوي
37	5.3 الآثار الجانبية للعلاج بالإريثروبويتين
37	1.5.3 الحوادث الختارية
38	2.5.3 ارتفاع التوتر الشرياني
38	3.5.3 زيادة معدل نمو الورم والاستحداث الوعائي
40	❖ الفصل الرابع: دراسات عالمية حول أهمية قيمة إريثروبويتين المصل قبل العلاج في التنبؤ بالاستجابة العلاجية

الدراسة العملية	
45	❖ الفصل الخامس: المواد والطرائق
45	1.5 عينة الدراسة
46	2.5 المواد والأجهزة المستخدمة في البحث
47	3.5 التحري عن الإريثروبويتين
47	1.3.5 مبدأ المقايسة
48	2.3.5 خطوات المقايسة
48	4.5 التحليل الإحصائي
49	❖ الفصل السادس: النتائج والمناقشة

49	1.6 خصائص المرضى المشاركين في الدراسة
51	2.6 العوامل المتعلقة بقيمة الإريثروبويتين
53	3.6 دراسة الاستجابة على علاج فقر الدم بالإريثروبويتين
55	1.3.6 العلاقة بين تركيز الإريثروبويتين قبل بدء العلاج والاستجابة
56	2.3.6 العلاقة بين نوع الورم والاستجابة
57	3.3.6 العلاقة بين تعداد الشبكيات في الأسبوع الثاني والاستجابة
57	4.3.6 العلاقة بين تركيز الخضاب في الأسبوع الثاني والاستجابة
58	5.3.6 العلاقة بين تركيز الخضاب في الأسبوع الرابع والاستجابة
60	المناقشة
63	الاستنتاجات
64	المقترحات والتوصيات
65	المراجع
79	ملخص باللغة الإنكليزية

فهرس الأشكال

رقم الصفحة	المحتوى	رقم الشكل
19	بنية جزيئة الإريثروبويتين	1-1
21	مراحل تطور السلسلة الحمراء	2-1
22	مواقع تأثير الإريثروبويتين على السلسلة الحمراء	3-1
23	آلية عمل الإريثروبويتين	4-1
26	النسب المئوية للأسباب الرئيسية لحالات فقر الدم	1-2
50	توزع نوع الورم عند المرضى	1-6
51	توزع الأورام الصلبة وغير الصلبة عند المرضى	2-6
52	العلاقة بين الإريثروبويتين والجنس	3-6
52	العلاقة بين قيمة الإريثروبويتين وتركيز الخضاب البدئي	4-6
55	العلاقة بين مستوى إريثروبويتين المصل قبل العلاج والاستجابة على علاج فقر الدم بالإريثروبويتين	5-6
56	تطور متوسط مستوى الخضاب بحسب تركيز الإريثروبويتين قبل البدء بالعلاج	6-6
57	العلاقة بين نوع الورم والاستجابة على علاج فقر الدم بالإريثروبويتين	7-6
58	العلاقة بين تحسن الخضاب بعد أسبوعين والاستجابة على علاج فقر الدم بالإريثروبويتين	8-6
59	العلاقة بين تحسن الخضاب بعد أربعة أسابيع والاستجابة على علاج فقر الدم بالإريثروبويتين	9-6

فهرس الجداول

رقم الصفحة	المحتوى	رقم الجدول
24	درجات فقر الدم بحسب منظمة الصحة العالمية والمعهد الدولي للسرطان	1-2
45	استمارة الدراسة الخاصة بالعينة المدروسة	1-5
47	محتوى ال kit المستخدم في مقايسة الإريثروبويتين	2-5
49	خصائص المرضى المشاركين في الدراسة	1-6
53	العوامل المتعلقة بقيمة الإريثروبويتين	2-6
54	العوامل غير المتعلقة بالاستجابة على علاج فقر الدم بالإريثروبويتين	3-6
55	العلاقة بين تركيز الإريثروبويتين قبل بدء العلاج والاستجابة	4-6
56	العلاقة بين نوع الورم والاستجابة	5-6
57	العلاقة بين تعداد الشبكيات في الأسبوع الثاني والاستجابة	6-6
58	العلاقة بين تركيز الخضاب في الأسبوع الثاني والاستجابة	7-6
59	العلاقة بين تركيز الخضاب في الأسبوع الرابع والاستجابة	8-6

جدول بأهم الاختصارات الواردة في البحث:

المصطلح	المعنى باللغة الإنكليزية	المعنى باللغة العربية
ACD	Anemia of Chronic Disease	فقر الدم الناجم عن المرض المزمن
AIHA	Auto Immune Hemolytic Anemia	فقر الدم الانحلالي المناعي الذاتي
ASCO	The American Society of Clinical Oncology	الجمعية الأميركية لعلم الأورام السريري
CFU-E	Colony Forming Unit- Erythroid	الوحدات المكونة للذري الحمر
CLL	Chronic Lymphocytic Leukemia	الابيضاض اللمفاوي المزمن
EBFU-E	Early Burst Forming Unit – Erythroid	الوحدات البكرة المكونة للذري الحمر
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay	المقايسة المناعية المرتبطة بالأنزيم
FACT-An	Functional Assessment of Cancer Therapy-anemia	التقييم الوظيفي لفقر الدم المسبب بالمعالجة المضادة للأورام
FACT-F	Functional Assessment of Cancer Therapy-Fatigue	التقييم الوظيفي للتعب المسبب بالمعالجة المضادة للأورام
FDA	Food and Drug Administration	إدارة الغذاء والدواء
GVHD	Graft – Versus – Host Disease	داء الطعم ضد الثوي
G6PD	Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase	الأنزيم النازع لهيدروجين الجلوكوز - 6-فوسفات
HSC	Hematopoietic Stem Cells	الخلايا الجذعية المولدة للدم
IL	Interlukine	إنترلوكين
LBFU-E	Late Burst Forming Unit – Erythroid	الوحدات المتأخرة المكونة للذري الحمر
NCCN	National Comprehensive Cancer Network	الشبكة الدولية الشاملة للسرطان
NSCLC	Non- Small Cell Lung Cancer	سرطان الرئة غير صغير الخلايا

نوعية الحياة	Quality Of Life	QOL
الإريثروبويتين البشري المؤشب	Recombinant Human Erythropoietin	rHuEpo
سرطان الرئة صغير الخلايا	Small Cell Lung Cancer	SCLC
عامل نخر الورم- α	Tumor Necrosis Factor- α	TNF- α
أذية الرئتين الحادة المترافقة مع نقل الدم	Transfusion - Related Acute Lung Injury	TRALI

المخلص

مقدمة: تستخدم مركبات الإريثروبويتين البشري المؤشب لعلاج فقر الدم عند مرضى الأورام، لكن لا يستجيب جميع المرضى على العلاج بالإريثروبويتين، وبالتالي من المفيد تحديد المرضى المستجيبين وغير المستجيبين قبل بدء العلاج. طُورت العديد من النظم التنبؤية بالاستجابة العلاجية باستخدام القيمة المصلية للإريثروبويتين قبل العلاج إضافة إلى مجموعة من العوامل الأخرى.

الأفراد والطرائق: تم إعطاء الإيبوتين (Epoetin) بجرعة 8 000 IU إلى 30 مريض من مرضى الأورام المراجعين لمشفى تشرين الجامعي في مدينة اللاذقية خلال عامي 2013 و2014 بهدف علاج فقر الدم لديهم. استخدم الإريثروبويتين بشكل إبر تحت الجلد، وأعطيت الجرعة ثلاث مرات أسبوعياً لمدة شهرين. تم معايرة إريثروبويتين المصل قبل بدء العلاج بطريقة ELISA، كما تم مراقبة الخضاب والمشعرات الدموية الأخرى خلال فترة العلاج.

النتائج: تحققت الاستجابة عند حوالي 53% من المرضى خلال 8 أسابيع. كان معدل الاستجابة أعلى عند وجود انخفاض في مستوى الإريثروبويتين ($U/L < 100$) منه عند وجود ارتفاع في مستوى الإريثروبويتين ($U/L > 100$) (71% مقابل 27%) ($P \text{ value} = 0.025$). كما كان معدل الاستجابة أعلى عند المصابين بأورام غير صلبة (80%) منه عند المصابين بأورام صلبة (39%) ($P \text{ value} = 0.043$) كذلك كان متوسط ارتفاع تعداد الشبكيات بعد أسبوعين أعلى عند المرضى المستجيبين مقارنة مع المرضى غير المستجيبين ($P \text{ value} = 0.0054$). هناك أيضاً علاقة هامة بين كل من تركيز الخضاب في الأسبوع الثاني والأسبوع الرابع مع معدل الاستجابة، حيث كان معدل الاستجابة أعلى عند المرضى الذين تحسن مستوى الخضاب لديهم بعد أسبوعين بمقدار $0.5 \text{ g/dL} <$ نسبة للخضاب البدئي (83% مقابل 31%) ($P \text{ value} = 0.006$)، وعند المرضى الذين تحسن مستوى الخضاب لديهم بعد 4 أسابيع بمقدار $1 \text{ g/dL} <$ نسبة للخضاب البدئي (93% تقريباً مقابل 14%) ($P \text{ value} < 0.0001$).

الخلاصة: يمكن التنبؤ بالاستجابة على العلاج بمركبات الإريثروبويتين من خلال القيمة المصلية للإريثروبويتين قبل بدء العلاج بالمشاركة مع التغيرات الباكرة في المشعرات المخبرية الأخرى.

كلمات مفتاحية: إريثروبويتين، فقر الدم، السرطان، عوامل تنبؤية.

مقدمة عامة

تؤدي الأمراض الخبيثة إلى فقر دم خاصة عندما تترافق مع العلاج الكيميائي [1،2]، ويعد التعب من أهم الأعراض المرتبطة بفقر الدم حيث يؤثر على حوالي 75% من المرضى ويمنع 90% منهم من ممارسة نشاطهم اليومي بشكل طبيعي [3،4].

تؤثر المستويات المنخفضة من الخضاب بشكل سلبي على إنذار المرض ونتائج المعالجة المضادة للأورام [5-9]، وبالتالي فإن علاج فقر الدم أصبح جزءاً أساسياً في عملية تدبير الأمراض الخبيثة. اعتمد العلاج سابقاً بشكل أساسي على نقل الدم الذي يؤدي إلى تصحيح سريع لفقر الدم لكنه يترافق مع ازدياد خطر العدوى خاصة بالإنثانات الفيروسية إضافة إلى التأثيرات المناعية الضارة [10-12].

تشكل مركبات الإريثروبويتين البشري المؤشب (Recombinant Human Erythropoietin) (rHuEpo) علاجاً بديلاً وفعالاً لفقر الدم عند مرضى الأورام لكن معدلات الاستجابة متفاوتة [8،13]، إلا أنه بشكل عام حوالي 70% من المرضى المعالجين بالإريثروبويتين يزداد الخضاب لديهم بمقدار أكبر من 2 g/dL خلال فترة العلاج بالإريثروبويتين [8،14،15].

طُورت العديد من النظم التنبؤية بالاستجابة العلاجية باستخدام القيمة المصلية للإريثروبويتين قبل بدء العلاج إضافة إلى مجموعة من المشعرات الدموية الأخرى، حيث اقترحت الدراسات السابقة أن الاستجابة الضعيفة على العلاج بمركبات rHuEpo مرتبطة مع وجود مستويات مصلية مرتفعة من الإريثروبويتين قبل البدء بالعلاج [16-18]. وأشارت الدراسات أيضاً إلى أن التغيرات الباكرة في الخضاب والشبكيات تعد من المشعرات الهامة لحدوث الاستجابة العلاجية [13،15،19،20] كما ويعتبر تقييم مستوى الحديد في الجسم ذو فائدة تنبؤية محتملة بالاستجابة.

أهمية وأهداف البحث

أهمية البحث:

أثبتت مركبات rHuEpo فعاليتها في تصحيح فقر الدم عند مرضى الأورام، لكن بالمقابل لا تتحقق الاستجابة العلاجية عند جميع المرضى، وبالتالي من المفيد تحديد المرضى المستجيبين وغير المستجيبين قبل بدء العلاج أو على الأقل خلال الأسابيع الأولى من العلاج.

يتم إعطاء الإريثروبويتين عادةً عند مرضى الأورام دون إجراء معايرة مسبقة لإريثروبويتين المصل، وقد تناقضت الدراسات حول أهمية القيمة المصلية للإريثروبويتين قبل بدء العلاج في التنبؤ بالاستجابة العلاجية، حيث اعتبرت بعض الدراسات أن تركيز الإريثروبويتين البدئي لا يعد مشعراً على حدوث الاستجابة، بينما اقترحت دراسات أخرى وجود علاقة عكسية بين مستوى إريثروبويتين المصل قبل بدء العلاج وحدث الاستجابة، وبالتالي يمكن من خلال معايرة إريثروبويتين المصل قبل بدء العلاج توقع المرضى المستجيبين وغير المستجيبين، والتوجه بالعلاج إلى المرضى المرشحين للاستجابة أي المرضى ذوي المستويات المصلية المنخفضة من الإريثروبويتين.

إن تحديد المرضى المستجيبين وغير المستجيبين بشكل مسبق يحد من الإعطائ العشوائي للإريثروبويتين ويخفف التكلفة الاقتصادية على المريض أو الدولة التي توفر العلاج مجاناً لمرضى الأورام المراجعين لمشفى تشرين الجامعي في مدينة اللاذقية على الرغم من تكلفته الباهظة.

أهداف البحث:

1. تحديد العلاقة بين قيمة إريثروبويتين المصل قبل العلاج والاستجابة على العلاج بمركبات rHuEpo عند مرضى الأورام.
2. تقييم دور عدد من المشعرات الدموية في التنبؤ بالاستجابة العلاجية مثل:
 - ارتفاع الخضاب Hb بعد أسبوعين و 4 أسابيع.
 - ارتفاع الشبكيات بعد أسبوعين و 4 أسابيع.
 - القيمة المصلية للفيريتين في الأسبوع الثاني.

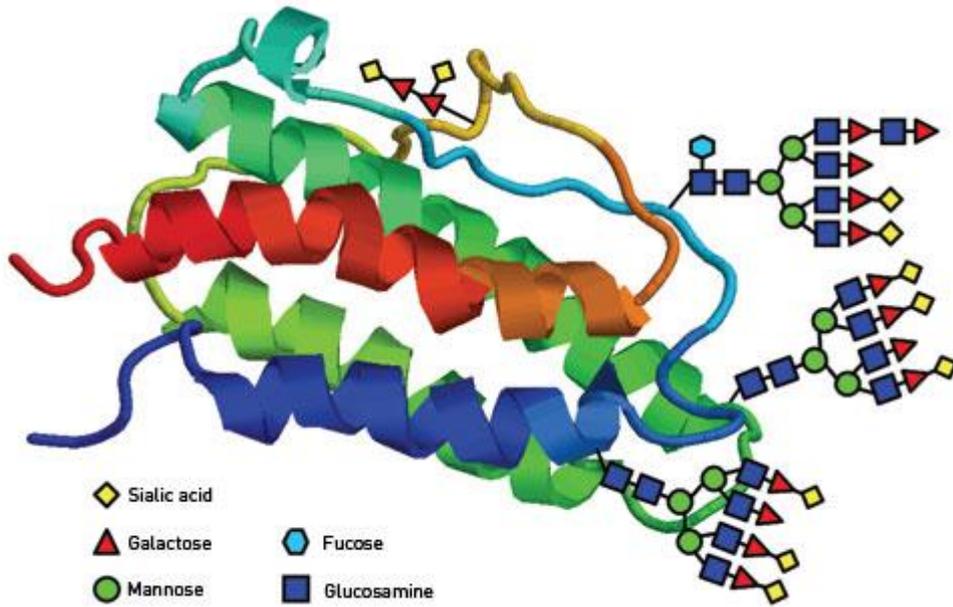
الدراسة النظرية

الفصل الأول: الإريتروبوليتين وتطور السلسلة الحمراء

1.1 الإريتروبوليتين، بنيته وإنتاجه:

الإريتروبوليتين عبارة عن هرمون بروتيني سكري يحفز إنتاج الكريات الحمراء ويحافظ على حيويتها [22،21]. يتكون الشكل الجائل في الدوران والفعال بيولوجياً من هذا البروتين من 165 حمض أميني مرتبطة بثلاث سلاسل سكرية عند ذرة الآزوت وسلسلة سكرية عند ذرة الأكسجين.

يظهر الشكل (1-1) السلاسل الحلزونية الأربعة من النمط α المكونة لجزيئة الإريتروبوليتين، كما يبين الشكل السكريات قليلة التعدد (oligosaccharides) المرتبطة مع هذه السلاسل والتي تحافظ على شكل الإريتروبوليتين الفعال بيولوجياً، كما أن ثمالات حمض السياليك الموجودة في الجزء الأخير من السلاسل السكرية تحمي الإريتروبوليتين من التخرب في الكبد وتضمن بقاءه في الدوران [25-23].



الشكل (1-1): بنية جزيئة الإريتروبوليتين.

يتم إنتاج الإريتروبوليتين بشكل رئيسي في الكلية وتحديداً في الخلايا حول الأنبوبية في منطقة الأنبوب القريب، كما ينتج بشكل أقل في الكبد [25-23].

تختلف المستويات البلازمية للإريتروبوليتين خلال فترات اليوم حيث تكون أعظمية في فترة الصباح، كذلك تتباين مستويات الإريتروبوليتين من شخص إلى آخر، لكن بشكل عام يكون المجال الطبيعي لتركيز الإريتروبوليتين (4-26 mu/ml) [24] ويمكن أن يزداد بمقدار 1000 ضعف في حالات فقر الدم الشديدة [26].

يتم التعبير عن مورثة الإريثروبويتين في مواقع عديدة خارج الكلية بما فيها النسيج المكون للدم في نقي العظم [27،28]، كما يتم إنتاجه من قبل بعض الأورام خاصة الورم الكلوي [29].

2.1 مراحل تطور السلسلة الحمراء:

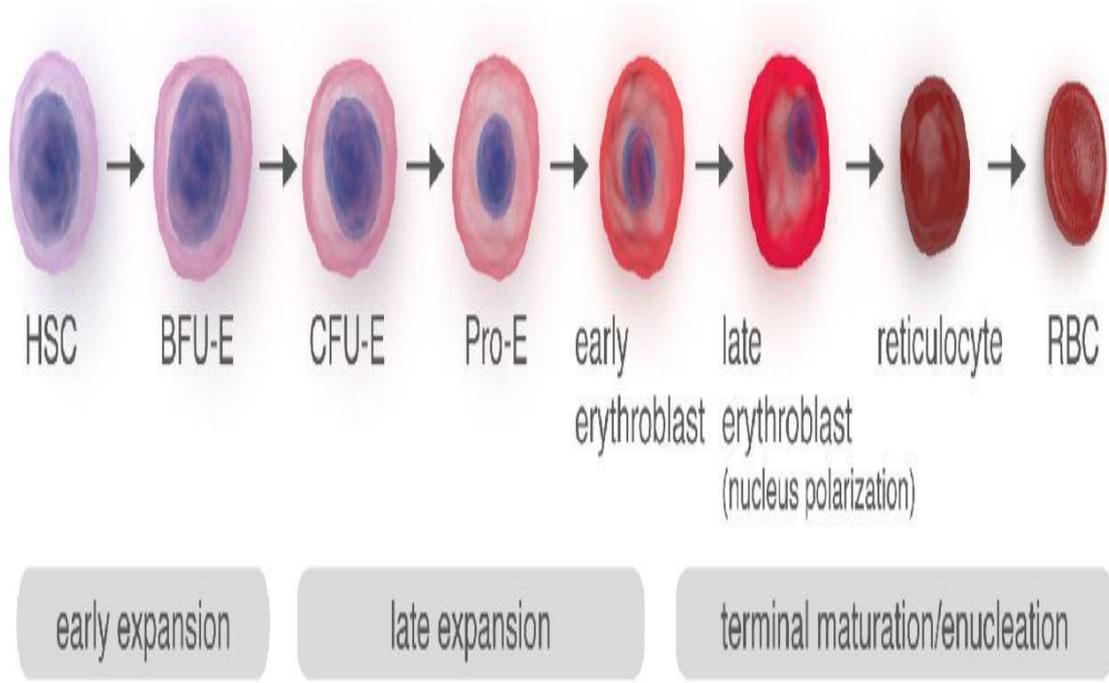
يبدأ تشكل الكريات الحمر من الخلايا الجذعية المولدة للدم (Hematopoietic Stem Cells ; HSC) من الأديم المتوسط أثناء التشكل الجنيني. تتمايز HSC لتعطي الوحدات الباكرا المكونة للذراري الحمر، المكونة للذراري الحمر (Early Burst Forming Unit–Erythroid ; EBFU-E) والتي تعطي بدورها الوحدات المتأخرة المكونة للذراري الحمر (Late Burst Forming Unit–Erythroid ; LBFU-E)، ثم تشكل الوحدات المكونة للذراري الحمر (Colony Forming Unit–Erythroid ; CFU-E). تتمايز CFU-E إلى سليفة الأرومة الحمراء (proerythroblast) وهي خلية كبيرة نسبياً تنقسم لتعطي خلايا أصغر تسمى الأرومات الحمراء الأسسة (basophilic erythroblast) وهي خلايا ذات سيتوبلازما بلون أزرق غامق تحتوي على نواة تشكل قسماً كبيراً من الخلية.

يؤدي الانقسام التالي إلى تشكل الأرومة الحمراء متعددة الألوان (polychromatic erythroblast)، حيث تصبح السيتوبلازما بلون زهري مع تكثف للنواة، يلي ذلك تشكل الأرومة الحمراء وحيدة اللون (orthochromatic erythroblast) وهي خلية غير منقسمة وذات نواة بلون قاتم.

تتابع الخلية تمايزها النهائي حيث تتكثف النواة بشكل أكبر حتى تقذف في النهاية ويتم ابتلاعها وتحطيمها من قبل البالعات في نقي العظم، ثم تتشكل الشبكيات (reticulocytes) التي تكون أكبر بحوالي 20% من الكريات الحمر الناضجة وهي تتصف بأنها عديمة النواة لكنها تمتلك بعض المنقدرات والريبوزومات، وذات سيتوبلازما بلون زهري مسيطر بسبب التركيز المرتفع للخضاب لكنها تحتفظ بلون رمادي خفيف بسبب وجود الريبوزومات.

تتابع الشبكيات اصطناع الخضاب لمدة 24-48 ساعة بعد تحررها من نقي العظم لتتحول في النهاية إلى الكريات الحمر الناضجة التي تكون بشكل أقراص مقعرة [30].

يظهر الشكل (1-2) مراحل تطور السلسلة الحمراء اعتباراً من الخلايا الجذعية المولدة للدم وصولاً إلى الكريات الحمراء الناضجة:



الشكل (1-2): مراحل تطور السلسلة الحمراء.

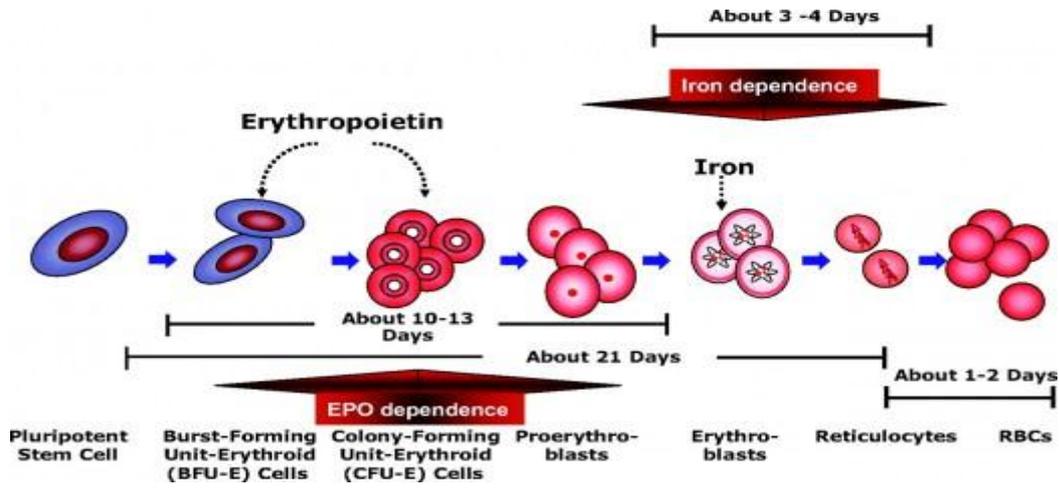
3.1 دور الإريثروبويتين في تنظيم تشكل الكريات الحمراء:

يرتبط عدد الكريات الحمراء الجائلة في الدوران بالتوازن بين فقدان الكريات الحمر الهرمة وإنتاج كريات حمر جديدة في نقي العظم.

يتم الحفاظ على هذا التوازن من قبل النظام الحساس للأكسجين الذي يتأثر بكتلة الكريات الحمر ويزيد إنتاجها عند ازدياد الحاجة في بعض الظروف الفيزيولوجية والمرضية، وذلك من خلال زيادة إنتاج الإريثروبويتين الذي يحفز بدوره تشكل الكريات الحمر [30].

يؤثر الإريثروبويتين بشكل أساسي على الخلايا الحمراء الناضجة نسبياً [31]، ويبين الشكل (1-3) مواقع تأثير الإريثروبويتين على السلسلة الحمراء، حيث لا يتواجد مستقبل الإريثروبويتين على HSC، ولا على EBFU-E، بينما يبدأ المستقبل بالظهور على LBFU-E، ويوجد بتركيز مرتفعة على CFU-E و proerythroblast، هذه الخلايا هي التي تستجيب للإريثروبويتين [32].

تتناقص حساسية الخلايا ما بعد الأرومة الحمراء للإريثروبويتين، حيث تصبح هذه الخلايا غير معتمدة على الإريثروبويتين وتعتبر عن مستقبلة بشكل أقل [33].



الشكل (3-1): مواقع تأثير الإريثروبويتين على السلسلة الحمراء.

4.1 الوظائف الفيزيولوجية الأخرى للإريثروبويتين:

على الرغم من أن الإريثروبويتين معروف بدوره في تحفيز إنتاج الكريات الحمراء، لكنه يمتلك العديد من الوظائف الفيزيولوجية الأخرى، حيث يمكن أن يتواجد مستقبل الإريثروبويتين على العديد من الأنسجة كالخلايا النخوية واللمفاوية، النوات، الخلايا البطانية، خلايا العضلة القلبية، البروستات، الخلايا العصبية والكلى، والخلايا العضلية الملساء [34].

يؤدي الإريثروبويتين إلى حدوث الانقسام الخيطي (mitogenic) لخلايا العضلة القلبية، الخلايا البطانية، خلايا الكلية والبروستات [35-38]، ولا يساعد الإريثروبويتين على منع حدوث الموت الخلوي المبرمج بالنسبة للخلايا الحمراء فقط، بل يساهم أيضاً في حماية الخلايا النجمية والعصبية من الموت المبرمج [39]، ويسبب خصائصه الواقية للأعصاب هناك إمكانية لاستخدامه في حماية نسيج الدماغ الطبيعي من التأثيرات الضارة للتشعيع الوقائي للقحف عند مرضى سرطان الرئة صغير الخلايا (Small Cell Lung Cancer) (SCLC) [40]، كما بينت إحدى الدراسات أن إعطاء الوريدي للإريثروبويتين إلى مرضى مصابين بحوادث وعائية دماغية إقفارية خلال 8 ساعات من بدء الأعراض يحسن بشكل واضح الوظائف العصبية [41].

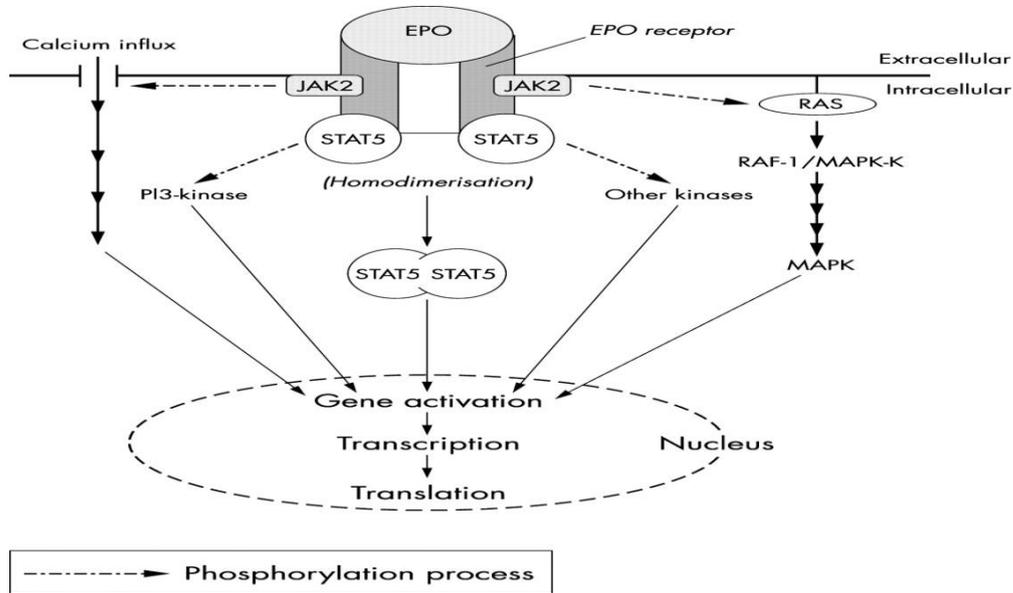
أشارت الدراسات أيضاً إلى أن إعطاء الإريثروبويتين إلى المرضى خلال الأذيات الإقفارية القلبية له تأثيرات واضحة حامية للقلب [42].

5.1 آلية عمل الإريثروبويتين:

يتكون مستقبل الإريثروبويتين من سلسلتين بولي ببتيديتين في الجزء خارج خلوي، حيث يرتبط الإريثروبويتين مع مستقبله ويتم تشكيل مثنويات من هذا المستقبل على سطح الخلايا الحمر السلف، مما يؤدي إلى تفعيل المستقبل وفسفرة Jak-2 المتواجد بالقرب من الجزء داخل خلوي للمستقبل وبالتالي انتقال

الإشارة عبر سبيل (Janus Kinase / Signal Transducers and Activators of) JaK/STAT Transcription)، حيث تمنع الإشارة المنقولة إلى النواة من حدوث الموت الخلوي المبرمج وتسمح للخلية أن تكمل نضجها النهائي إلى الشبكية ثم إلى الكرية الحمراء [43-46].

يبين الشكل (4-1) سبيل انتقال الإشارة بعد ارتباط الإريثروبويتين مع مستقبله:



الشكل (4-1): آلية عمل الإريثروبويتين.

6.1 تنظيم إنتاج الإريثروبويتين:

يتم تنظيم إنتاج الإريثروبويتين بشكل رئيسي من خلال النسبة بين الأكسجين الواصل إلى الخلايا الحساسة له في الكلية وحاجة الجسم إلى الأكسجين [47].

هناك علاقة عكسية بين مستوى إريثروبويتين المصل من جهة وبين مستوى الخضاب أو الهيماتوكريت، والإشباع الشرياني بالأكسجين من جهة أخرى [24]، حيث يزداد إنتاج الإريثروبويتين في الحالات التي تنخفض فيها الأكسجة النسيجية كالسكن في المرتفعات، الداء الرئوي وغيرها، بينما ينخفض إنتاج الإريثروبويتين في الظروف التي تزداد فيها الأكسجة النسيجية مثل كثرة الكريات الحمر [48].

يزداد مستوى إريثروبويتين المصل في معظم الحالات بشكل متناسب مع شدة فقر الدم [49-51]، لكن في حالات فقر الدم الناجم عن الأمراض الالتهابية أو الخبيثة يكون مستوى إريثروبويتين المصل أقل عادةً مقارنة مع حالات فقر الدم الأخرى [49]، أما في حالات فقر الدم الناجم عن قصور النقي يكون مستوى إريثروبويتين المصل أعلى مقارنة مع حالات فقر الدم الأخرى [50، 51].

الفصل الثاني: فقر الدم عند مرضى الأورام

1.2 تعريف فقر الدم:

1.1.2 التعريف السريري لفقر الدم:

فقر الدم هو اضطراب دموي ينخفض فيه تعداد الكريات الحمراء وتركيز الخضاب الجائل في الدوران. يقوم الخضاب بنقل الأكسجين إلى مختلف أجزاء الجسم، وبالتالي فإن انخفاض تركيز الخضاب الجائل سيؤدي إلى عدم حصول الجسم على حاجته من الأكسجين مما يؤدي إلى ظهور التعب وأعراض فقر الدم الأخرى [52].

تختلف الحاجة الفيزيولوجية بحسب العمر، الجنس، مستوى الارتفاع عن سطح البحر، التدخين، مراحل الحمل [53].

2.1.2 التعريف المخبري لفقر الدم:

تعرف منظمة الصحة العالمية فقر الدم بأنه انخفاض تركيز الخضاب عن 13g/dL عند الرجال فوق 15 سنة، وعن 12g/dL عند الإناث غير الحوامل فوق 15 سنة، وعن 11g/dL عند النساء الحوامل [54].

الجدول (1-2): درجات فقر الدم بحسب منظمة الصحة العالمية والمعهد الدولي للسرطان [10].

تركيز الخضاب	درجة فقر الدم
(10 – 11.9) g/dL	خفيف
(8 – 10) g/dL	معتدل
(6.5 – 7.9) g/dL	شديد
< 6.5 g/dL	شديد جداً

2.2 أعراض وعلامات فقر الدم (Symptoms and Signs of anemia):

تختلف أعراض وعلامات فقر الدم تبعاً لدرجة فقر الدم، ففي حالات فقر الدم الخفيفة قد لا يلاحظ على المريض أية أعراض أو علامات، لكن عند ارتفاع درجة فقر الدم تبدأ الأعراض والعلامات بالظهور حيث يعاني المريض من التعب، الضعف العام، شحوب الجلد.

عند تطور فقر الدم يشعر المريض بالدوار، الإعياء، ازدياد الشعور بالعطش، التعرق، تسرع التنفس، النبض الضعيف والسريع، أما في حالات فقر الدم الشديدة قد يعاني المريض من تشنجات مؤلمة في الطرفين السفليين عند إجراء التمارين الرياضية، الزلة التنفسية، إضافة إلى الأذيات العصبية.

قد يسبب فقر الدم أيضاً أعراضاً مرتبطة بعضلة القلب التي يجب أن تضاعف عملها لإيصال الدم الغني بالأكسجين إلى أجزاء الجسم المختلفة، تشمل هذه الأعراض اضطراب النظم، تضخم عضلة القلب، وقد تتطور إلى قصور القلب [52].

3.2 أسباب فقر الدم: [52].

تكون أسباب فقر الدم إما وراثية أو مكتسبة، ويحدث فقر الدم من خلال إحدى الآليات التالية:

1.3.2 إنتاج منخفض للكريات الحمراء:

تحتاج عملية إنتاج الكريات الحمراء إلى الحديد، فيتامين B12، الفولات، إضافة إلى كميات ضئيلة من الفيتامينات والمعادن الأخرى. يحصل الجسم على هذه العناصر من خلال وجبات الطعام، وبالتالي فإن اتباع بعض الحميات الغذائية الفقيرة بهذه العناصر قد يؤثر بشكل سلبي على عملية تشكل الكريات الحمراء مما يؤدي إلى تطور فقر الدم. كذلك تؤثر الأمراض المزمنة كالسرطان، التهاب المفاصل الرثياني، الأمراض الالتهابية المزمنة، على قدرة الجسم على إنتاج كميات كافية من الكريات الحمراء وبالتالي يساهم في تطور فقر الدم.

2.3.2 تخرب زائد للكريات الحمراء:

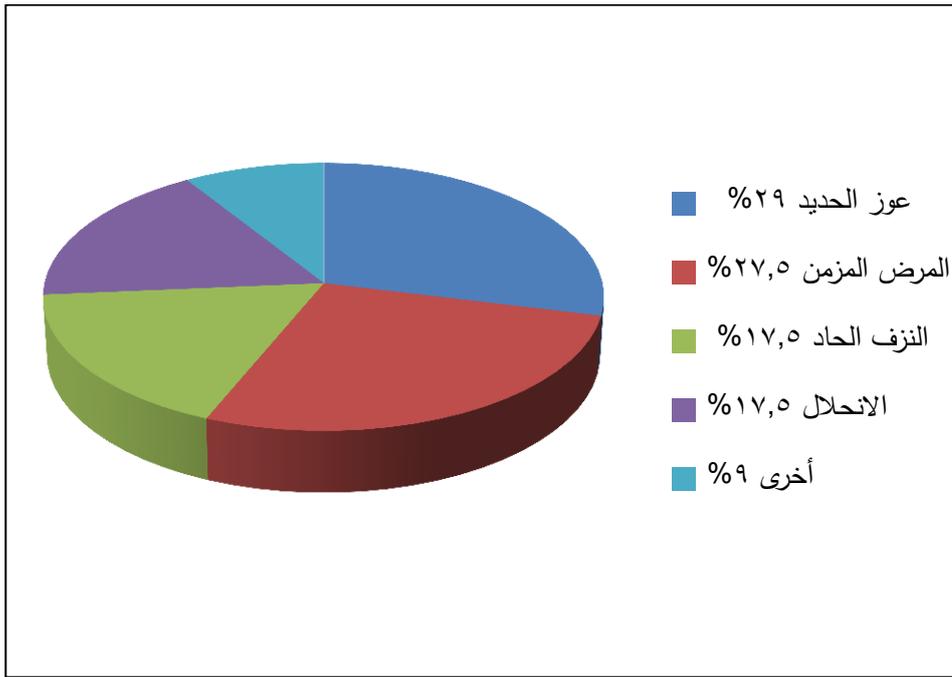
قد تتخرب الكريات الحمراء أحياناً قبل أن تكمل مدة حياتها الطبيعية والتي تقدر بحوالي 120 يوماً، تسمى هذه العملية بالانحلال (hemolysis)، وقد تكون أسباب الانحلال وراثية كما في أمراض التلاسيميا، فقر الدم المنجلي، تكور الحمر الوراثي، عوز G6PD، وقد تكون مكتسبة مناعية مثل الذئبة الحمامية الجهازية، أو ميكانيكية مثل خثار الأوعية الدقيقة.

3.3.2 خسارة زائدة للكريات الحمراء:

يمكن أن تؤدي خسارة الدم إلى فقدان عدد كبير من الكريات الحمراء وبالتالي تطور فقر الدم، كذلك تؤدي خسارة الدم إلى فقدان الحديد من الجسم مما يؤدي إلى إنتاج عدد أقل من الكريات الحمراء وبتكرير منخفض من الخضاب وهذا ما يساهم في تطور فقر الدم أيضاً.

قد يكون النزف مزمناً كما في حالات النزف الغزير أثناء الدورة الطمثية، القرحات، أورام السبيل الهضمي، سرطان الكلية والمثانة، وقد يكون حاداً كالنزف عند الولادة أو نتيجة العمليات الجراحية.

يبين الشكل (1-2) النسب المئوية للأسباب الرئيسية لحالات فقر الدم [55]:



الشكل (1-2): النسب المئوية للأسباب الرئيسية لحالات فقر الدم.

4.2 آليات فقر الدم عند مرضى الأورام:

1.4.2 فقر الدم الالتهابي:

يسمى أيضاً فقر الدم الناتج عن المرض المزمن (Anemia of Chronic Disease ; ACD)، وهو أكثر أشكال فقر الدم انتشاراً بعد فقر الدم بعوز الحديد.

يشاهد ACD في جميع أنواع الإنتانات (فيروسية، جرثومية، طفيلية، فطرية)، اضطرابات المناعة الذاتية كالذئبة الحمامية الجهازية والتهاب المفاصل الرثياني، كما يشاهد ACD أيضاً عند مرضى الأورام وذلك بسبب تأثير الورم نفسه، حيث تقوم الخلايا الورمية بإفراز السيتوكينات الالتهابية خاصة (Interlukine-1 ; IL-1)، و (tumor necrosis factor- α ; TNF- α) (عامل نخر الورم)، التي تثبط

إنتاج الإريثروبويتين وتؤثر على استجابة الخلايا الحمر السلف لهذا الهرمون، كما تؤدي إلى خلل في استقلاب الحديد وحدث عوز حديد وظيفي [56-61].

تحتاج الجملة الحمراء إلى كمية كافية من الحديد لتعويض الكريات الحمر الهرمة وبالتالي الحفاظ على معدل طبيعي لإنتاج الكريات الحمر، حيث يتم امتصاص الحديد في العفج من قبل خلايا خاصة تسمى الخلايا المعوية، ثم ينتقل الحديد من سطح الخلايا المعوية من خلال بروتين عابر للغشاء يسمى فيروبروتين [62-64]، وعند وصول الحديد إلى مجرى الدم يرتبط مع الترانسفيرين وينتقل إلى الخلايا الحمراء النامية.

يتم تنظيم هذه العملية من قبل بروتين آخر منتج في الخلايا الكبدية يسمى هيبسيدين، حيث أن الزيادة في إنتاج الهيبسيدين تنقص امتصاص الحديد من السبيل المعدي المعوي وتنقص تحرره من البالعات، أما نقص إنتاج الهيبسيدين يحدث تأثيراً معاكساً [65-67].

تسبب زيادة السيتوكينات الالتهابية خاصة IL-6 عند مرضى الأورام خلافاً في حركية الحديد، حيث تحفز إنتاج الهيبسيدين مما يثبط امتصاص الحديد من السبيل المعدي المعوي وتحرره من البالعات، وبالتالي سوف تزداد مخازن الحديد وينخفض حديد المصل ولن يتمكن المريض من تعويض الكريات الحمر الهرمة مما يؤدي إلى إصابته بفقر الدم [68].

يكون فقر الدم الالتهابي عادةً سوي الحجم والصباغ لكن في حالات أقل شيوعاً قد يكون صغير الحجم ومنخفض الصباغ [60].

2.4.2 فقر الدم المحرض بالمعالجة المضادة للأورام:

1.2.4.2 فقر الدم المحرض بالعلاج الكيميائي:

على الرغم من فعالية المعالجة الكيميائية في علاج العديد من أنواع الأورام، إلا أنها غالباً ما تسبب آثاراً جانبية تختلف من شخص إلى آخر تبعاً لنوع الورم، نوع العلاج المستخدم، والحالة الصحية للمريض.

يستهدف العلاج الكيميائي الخلايا سريعة النمو والانقسام والتي تشمل الخلايا الورمية وبعض الخلايا الطبيعية كالخلايا الدموية، الخلايا الموجودة في بطانة الفم والأمعاء، بالإضافة إلى الشعر، وبالتالي فإن الأذية التي يسببها العلاج الكيميائي على الخلايا الطبيعية هي المسؤولة عن الآثار الجانبية الناجمة عن العلاج [69].

يعد فقر الدم من أهم الآثار الجانبية الناجمة عن العلاج الكيميائي عند مرضى الأورام، حيث تؤدي المعالجة الكيميائية إلى تثبيط إنتاج الإريثروبويتين، ونقص استجابة الخلايا الحمر السلف للإريثروبويتين، بالإضافة إلى تثبيط النقي مما يؤدي إلى انخفاض تعداد العناصر الدموية [57، 59، 60].

إن تطبيق أسواط متكررة من العلاج الكيميائي يسبب أذية تراكمية على عملية تشكل الكريات الحمر [71،70]، حيث بينت إحدى الدراسات على مرضى سرطان الرئة غير صغير الخلايا (non-small cell lung cancer ; NSCLC) أن حدوث فقر الدم عند المرضى كان تراكمياً، حيث ازداد من 30% بعد الشوط الأول من العلاج الكيميائي إلى 59% مع الشوط الرابع من العلاج [72].

إن فقر الدم المرتبط بالعلاج الكيماوي هو فقر دم كبير الكريات، منخفض التوالد، وهو ناجم عن تثبيط اصطناع DNA في الخلايا طليعة الحمر [73].

2.2.4.2 فقر الدم المحرض بالعلاج الشعاعي والهرموني:

يساهم العلاج الشعاعي أيضاً في حدوث فقر الدم عند مرضى الأورام، حيث بينت إحدى الدراسات أن 48% من المرضى الخاضعين للمعالجة الشعاعية كان لديهم فقر دم قبل بداية العلاج وارتفعت النسبة إلى 57% في نهاية العلاج الشعاعي [74].

كذلك ترتبط المعالجة الهرمونية لسرطان البروستات مع ارتفاع معدلات حدوث فقر الدم، حيث بينت إحدى الدراسات أنه بعد شهرين من المعالجة الهرمونية لسرطان البروستات باستخدام زولاديكس (zoladex) وفلوتاميد (flutamide)، انخفض الخضاب بمقدار 1 g/dL أو أكثر عند 75% من المرضى، وبمقدار 2 g/dL أو أكثر عند 81% من المرضى بعد شهرين إضافيين من العلاج بحاصرات الأندروجين المترافقة مع أشعة X [75].

3.4.2 فقر الدم الناجم عن سوء التغذية:

أثبتت المعالجة الكيميائية والشعاعية فعاليتها في علاج العديد من أنواع الأورام، لكنها تسبب العديد من الآثار الجانبية التي تؤثر على الحالة الغذائية للمرضى كالفم، تبدل في حاسة الذوق، ألم وعسر البلع، جفاف الفم، الغثيان والإقياء إضافة إلى الإسهال [69].

يعد التهاب المخاطيات (Mucositis) من الاختلالات الشائعة للمعالجة الكيماوية والشعاعية حيث يؤثر على حوالي 40% من المرضى، وهو عبارة عن التهاب وتقرح في مخاطية الفم مع تشكل غشاء كاذب، ويعد مصدراً محتملاً للإنتانات التي قد تسبب الموت [76-78]، كما تؤدي هذه التقرحات إلى ألم شديد يتطلب عادة تغيير النظام الغذائي وتلقي الأدوية المسكنة لتخفيف الألم [77].

يؤثر كل ذلك على المدى البعيد على الحالة الغذائية للمرضى ويؤدي إلى تطور الدنف عند مرضى الأورام، وهو عبارة عن متلازمة متعلقة بالورم يتم فيها خسارة تدريجية للكتلة العضلية والنسيج الدهني.

يختلف حدوث الدنف عند مرضى الأورام تبعاً لنوع الورم، لكنه يؤثر على أكثر من 50% من مجمل المرضى ويعد سبباً لحدوث الموت عند أكثر من 20% من المرضى [79،80].

كذلك تساهم السيتوكينات الالتهابية في تطور الدنف عند مرضى الأورام حيث أن تفعيل طلائع السيتوكينات الالتهابية يؤدي إلى تفعيل عامل الاستنساخ النووي مما يؤدي إلى تثبيط اصطناع البروتين العضلي [81].

يعاني المرضى المصابون بالدنف من ضعف عام، خسارة ملحوظة في الوزن، إضافة إلى فقر الدم مما يؤدي إلى تراجع في نوعية الحياة لديهم، تراجع إنذار المرض، وانخفاض فعالية المعالجة المضادة للورم [86-82].

4.4.2 فقر الدم الناجم عن زيادة ضياع الحديد:

ينتشر فقر الدم بعوز الحديد عند حوالي 2-5% من الرجال والنساء بعد سن اليأس [54]. يعد ضياع الدم خلال فترة الطمث السبب الرئيسي لعوز الحديد عند النساء قبل سن اليأس، بينما يعد النزف من السبيل المعدي المعوي السبب الرئيسي لعوز الحديد عند الرجال والنساء بعد سن اليأس [87-91].

من الأسباب الشائعة للنزف تناول مضادات الالتهاب اللاستيرويدية، سرطان الكولون أو البوليبيات، سرطان المعدة، والتهاب الأمعاء. أما الأسباب النادرة فتتضمن قطع جزء من المعدة، داء كوليك وغيرها [92].

بينت عدة دراسات أن حوالي ثلثي المرضى الذين لديهم فقر دم بعوز الحديد، لديهم آفات معدية معوية، وحوالي 10-15% من هؤلاء المرضى لديهم أمراض خبيثة [88]. حيث تعد خباثات السبيل المعدي المعوي أكثر شيوعاً عند المصابين بفقر الدم بعوز الحديد مقارنة مع الأشخاص ذوي المستويات الطبيعية من حديد المصل والخضاب [93].

أشارت دراسات أخرى إلى أن حدوث فقر الدم بعوز الحديد يشير إلى احتمال وجود إصابة بسرطان الكولون والمستقيم وسرطان الأمعاء الدقيقة [94،95]، كذلك بينت دراسة نشرت عام 1993 على 100 مريض لديهم فقر دم بعوز الحديد أن حوالي 26% من المرضى لديهم آفة معدية تؤدي لخسارة الدم، وحوالي 41% من الأسباب المعوية كانت ناجمة عن سرطان الكولون [88].

تبين نتائج هذه الدراسات وجود ترابط بين خباثات السبيل المعدي المعوي وفقر الدم بعوز الحديد، حيث أن عوز الحديد الناجم عن النزف المعدي المعوي يساهم في تطور فقر الدم عند مرضى خباثات السبيل الهضمي.

كذلك يحدث فقر الدم بعوز الحديد عند حوالي ثلث مرضى سرطان الخلية الكلوية (renal cell carcinoma) بسبب البيلة الدموية وترسب الهيموسيدرين في الخلايا الورمية [96].

5.4.2 فقر الدم الانحلالي المناعي الذاتي

(Auto Immune Hemolytic Anemia ; AIHA)

وهو اضطراب غير شائع نسبياً، يحدث نتيجة وجود أضداد ذاتية من نمط IgG أو IgM تجاه المستضدات الموجودة على غشاء الكريات الحمر [97].

يكون AIHA مجهول السبب غالباً لكنه قد يكون مرتبطاً مع بعض الأدوية كالبنسلين، الإنتانات الفيروسية مثل داء كثرة الوحيدات، الأمراض الكولاجينية الوعائية مثل الذئبة الحمامية الجهازية، والخبثات الدموية مثل لمفوما لاهودجكن [98].

يعد AIHA من التظاهرات الشائعة المرتبطة بالاضطرابات التكاثرية للمفاوية المزمنة، خاصة الابيضاض اللمفاوي المزمن (chronic lymphocytic leukemia ; CLL)، حيث أن حوالي 10-20% من مرضى CLL يتطور لديهم AIHA خلال فترة المرض [99-101].

يمكن أن يصنف AIHA تبعاً لخصائص الأضداد الذاتية التي إما أن تكون من النمط الحار كما في AIHA المرتبط ب CLL، حيث تكون ألفة الأضداد للكريات الحمر عظمى في الدرجة 37°، وإما من النمط البارد حيث تكون ألفتها للكريات الحمر مثالية في درجات حرارة أقل.

يترافق AIHA والعديد من الاضطرابات المناعية الأخرى مثل نقص الصفيحات المناعي ونقص العدلات المناعي مع اللمفوما اللاهودجكنية، حيث يتراوح معدل حدوثه عند مرضى اللمفوما اللاهودجكنية بين 1.5-2.7% [102-104]، كما لوحظ أن استخدام المركبات المشابهة للبورين مثل فلودارابين (fludarabine) في علاج الاضطرابات التكاثرية للمفاوية الخبيثة قد يحرض حدوث AIHA، وقد يكون ذلك مسبباً للوفاة في بعض الأحيان [105].

من المثير للاهتمام أن الأشخاص الذين سبق وأن أصيبوا بفقر دم انحلاي مناعي ذاتي يزداد احتمال إصابتهم لاحقاً بالاضطرابات التكاثرية للمفاوية بمقدار ضعفين إلى ثلاثة أضعاف [106]، حيث بينت إحدى الدراسات أن 18% من المرضى المصابين بفقر الدم الانحلالي المناعي الذاتي قد تطور لديهم لاحقاً اضطراب تكاثري لمفاوي وذلك بعد حوالي 26 شهراً من بدء إصابتهم ب AIHA [107].

يمكن تفسير تطور AIHA عند مرضى اللمفوما اللاهودجكنية بوجود ضعف في جهازهم المناعي خاصة المناعة المتواسطة بالخلايا والذي يحتمل أن يكون ناجماً عن نقص عدد الخلايا التائية وتراجع قدرتها الوظيفية، بالتالي فإن العدد المنخفض من الخلايا التائية يحتمل أن يؤدي إلى زيادة إنتاج الأضداد الذاتية [108].

5.2 العوامل المؤثرة على شدة فقر الدم عند مرضى الأورام:

1.5.2 نوع الورم:

تشير الدراسات إلى حدوث فقر الدم عند كل مرضى الأورام لكن بنسب متفاوتة، حيث يلاحظ فقر الدم بمعدلات مرتفعة تصل إلى 50-60% في بعض أنواع الأورام كسرطان الرئة، الأورام النسائية (مثل سرطان المبيض) [109]، بينما يلاحظ فقر الدم بنسبة أقل في أنواع أخرى من الأورام كسرطان الثدي وسرطان الكولون والمستقيم، حيث تبلغ نسبة حدوث فقر الدم لديهم حوالي 10-20% [110].

2.5.2 نوع العلاج الكيماوي:

يحدث فقر الدم بعد العلاج الكيماوي بنسبة كبيرة (100% من الدرجة 1 و 2، 80% من الدرجة 3 و 4)، يختلف الحدوث بحسب نوع العلاج الكيماوي المستخدم [111]، فالمرضى الخاضعون للعلاج الكيماوي باستخدام مركبات البلاتين لديهم خطورة عالية للإصابة بفقر الدم [112].

تعد مركبات البلاتين الخيار الأول في علاج سرطان الرئة وسرطان المبيض لكنها تؤدي إلى حدوث فقر دم شديد عند حوالي 23% من مرضى سرطان الرئة، وحوالي 42% من مرضى سرطان المبيض [109]، حيث أن هذه المركبات لها سمية خلوية مباشرة على النيبات الكلوية المسؤولة عن إنتاج الإريثروبويتين [113].

بينت دراسة أجريت على مرضى NSCLC أن هناك علاقة عكسية بين الجرعة المعطاة من Cisplatin و تركيز الخضاب [114]، كما أن إضافة مركبات البلاتين إلى Paclitaxel تؤدي إلى زيادة حدوث فقر الدم من الدرجة 3 و 4 مقارنةً مع استخدام Paclitaxel بمفرده [115].

على العكس من مركبات البلاتين فإن استخدام العوامل العلاجية الجديدة مثل مركبات taxanes (paclitaxel, docetaxel)، gemcitabine، vinorelbine، مرتبط بنسبة حدوث مرتفعة لفقر الدم من الدرجة 1 و 2، ونسبة حدوث منخفضة لفقر الدم من الدرجة 3 و 4، مثلاً استخدام paclitaxel بمفرده يؤدي إلى حدوث فقر الدم من الدرجة 3 و 4 عند 0-5% من المرضى [116-118]، بينما يؤدي إلى حدوث فقر دم من الدرجة 1 و 2 عند 23-47% من المرضى عندما يسرب لمدة 3 ساعات، وفقر دم من الدرجة 1 و 2 عند 100% من المرضى عندما يسرب لمدة 24 ساعة [118].

كذلك يؤدي استخدام vinorelbine إلى حدوث فقر دم من الدرجة 3 و 4 عند 1-8% من المرضى لكنه يسبب فقر دم من الدرجة 1 و 2 عند 48-75% من المرضى [119].

3.5.2 عمر المريض:

يعد فقر الدم الاضطراب الدموي الأكثر شيوعاً عند كبار السن، حيث يزداد حدوث فقر الدم بعد سن 65 سنة، كما يزداد بشكل أكبر بعد سن 80 سنة [120].

تختلف أسباب فقر الدم عند كبار السن لكن فقر الدم الناجم عن المرض المزمن هو السبب الأكثر شيوعاً، حيث أن حوالي 35% من حالات فقر الدم عند كبار السن ناجمة عن المرض المزمن، كذلك يعد فقر الدم بعوز الحديد شائعاً بين المسنين حيث يشكل حوالي 15% من حالات فقر الدم لدى كبار السن [121]، رغم ذلك فإن حوالي ثلث حالات فقر الدم عند كبار السن لا تزال مجهولة السبب [122].

هناك العديد من التغيرات المرتبطة بالعمر والتي تؤثر على عملية تشكل الكريات الحمر، حيث يلاحظ مع التقدم في السن تناقص النسيج المكون للدم في نقي العظم مع زيادة مرافقة في النسيج الدهني، كما يتراجع عمل الكلية عند التقدم في العمر مما قد يؤدي إلى انخفاض إنتاج الإريثروبويتين [123-125]، كذلك ترتبط بعض الأمراض كارتفاع ضغط الدم والسكري مع مستويات مصلية منخفضة من الإريثروبويتين وهذان المرضان هما من الأمراض الشائعة عند كبار السن [126، 127].

من التغيرات الأخرى المرتبطة بالعمر والمؤثرة على عملية تشكل الكريات الحمر انخفاض مستويات التستوسترون، حيث تلعب الأندروجينات دوراً في عملية تشكل الكريات الحمر وقد بينت إحدى الدراسات على كبار السن أن الأفراد ذوي المستويات المنخفضة من التستوسترون كان احتمال تطور فقر الدم لديهم أكبر مقارنة مع الأفراد ذوي المستويات المرتفعة، هذه المستويات المنخفضة من التستوسترون غير كافية بحد ذاتها لكي تسبب فقر الدم لكنها تعد عاملاً إضافياً يساعد على تطور فقر الدم [128].

هناك آليات أخرى تساهم في تطور فقر الدم عند كبار السن كتناقص إفراز هرمون النمو الذي يساعد على تشكل الكريات الحمر من خلال تثبيط عملية الموت الخلوي المبرمج [129، 130]، انخفاض قدرة الخلايا الجذعية في نقي العظم على التوالد والتجدد، وجود مستويات مرتفعة لطلائع السييتوكينات الالتهابية خاصة IL-6 الذي يثبط إنتاج الإريثروبويتين [122].

6.2 مضاعفات فقر الدم عند مرضى الأورام:

1.6.2 التعب:

يؤدي فقر الدم إلى مجموعة من الأعراض أهمها التعب الذي يؤثر على حوالي 75% من المرضى ويمنع 90% منهم من ممارسة نشاطهم بشكل طبيعي، وقد بينت الدراسات أن المرضى الذين يبلغ تركيز الخضاب لديهم مستوى أكبر من 12 g/dL هم أفضل من الناحية الجسدية والوظيفية وأقل عرضة للتعب ولأعراض فقر الدم الأخرى، ويتمتعون بنوعية حياة أفضل بشكل عام مقارنة مع المرضى الذين لديهم

مستوى خضاب أقل من 12 g/dL [4]، وبالتالي فإن تصحيح فقر الدم يخفف التعب عند مرضى السرطان ويحسن نوعية الحياة لديهم [73].

2.6.2 زيادة خطر الوفاة:

يؤدي فقر الدم إلى خلل في أكسجة الأنسجة ووظائف الأعضاء، وبالتالي زيادة معدل الوفيات [131]، حيث يزداد خطر حدوث الموت بنسبة 65% تقريباً عند مرضى الأورام ممن لديهم فقر دم. تختلف هذه النسبة بحسب نوع الورم، حيث تبلغ 19% عند مرضى سرطان الرئة، وتصل إلى 75% عند مرضى سرطان الرأس والعنق [132].

3.6.2 السمية الناجمة عن العلاج الكيماوي والشعاعي:

تؤثر المستويات المنخفضة من الخضاب بشكل سلبي على إنذار المرض وتحمل العلاج الكيماوي والشعاعي [5-9]، حيث أن نقص الأكسجة يجعل النسيج الطبيعية أكثر عرضةً للأذية، كما أن فقر الدم ينقص حجم التوزيع للعوامل المنحلة بالماء المرتبطة بالكريات الحمر مما يؤدي إلى ارتفاع التراكيز الحرة من هذه المركبات في الدوران وبالتالي يزداد خطر الاختلاطات الناجمة عنها [133،134].

4.6.2 نقص الاستجابة للعلاج الكيماوي والشعاعي:

يعد فقر الدم عاملاً تنبؤياً مستقلاً عن الاستجابة على المعالجة المضادة للأورام [135]، حيث يؤدي فقر الدم إلى نقص أكسجة الخلايا الورمية، مما يفسر ولو بشكل جزئي انخفاض فعالية العلاج الشعاعي والكيماوي، وذلك بسبب مقاومة الخلايا السرطانية للعلاج عندما تكون في حالة من نقص الأكسجة [136،137].

يؤثر نقص الأكسجة على الاستجابة للعلاج الكيماوي بشكل مباشر من خلال انخفاض تشكل الأكسجين الفعال، وبشكل غير مباشر من خلال إبطاء دورة حياة الخلية [138]، كذلك يرتبط فقر الدم مع انخفاض فعالية العلاج الشعاعي بسبب انخفاض مستويات الخضاب وبالتالي انخفاض أكسجة الخلايا الورمية التي تكون بوجود جزيئات الأكسجين أكثر حساسية للعلاج الشعاعي بحوالي 2-3 مرات مقارنة مع الخلايا التي تعاني من نقص الأكسجة [139،140]، وقد بينت إحدى الدراسات على مرضى أورام الطرق التنفسية العلوية، السبيل الهضمي العلوي، عنق الرحم، أن الاستجابة على العلاج الشعاعي عند المرضى المصابين بفقر دم كانت أقل منها عند المرضى غير المصابين بفقر الدم [73].

يبدو أن المقاومة للعلاج الشعاعي ناجمة عن نقص الأكسجة في الخلايا الورمية مما يمنع تشكل الجذور الحرة القادرة على أذية DNA الخلية الورمية [201].

الفصل الثالث: دور الإريثروبويتين في تدبير فقر الدم عند مرضى الأورام

1.3 تطور مركبات الإريثروبويتين والصيغ المتوافرة:

يلعب علاج فقر الدم دوراً هاماً في تدبير الأمراض الخبيثة، وقد اعتمد العلاج سابقاً وبشكل أساسي على نقل الدم الذي يؤدي إلى تصحيح سريع لفقر الدم [10]، لكن ذلك قد تراجع حالياً بسبب التأثيرات الضارة لنقل الدم والتي يمكن إجمالها في مجموعتين رئيسيتين هما: التأثيرات المثبطة للمناعة وتفاعلات نقل الدم مثل تفاعل نقل الدم الحموي غير الانحلالي، الأخماج الجرثومية والفيروسية، أذية الرئتين الحادة المترافقة مع نقل الدم (Transfusion - Related Acute Lung Injury; TRALI)، فرط الحمل الحجمي، فرط حمل الحديد، التفاعل الانحلالي المتأخر، داء الطعم ضد الثوي المرافق لنقل الدم (Graf - Versus - Host Disease ; GVHD)، والفرقية التالية لنقل الدم [141].

سمحت تقنية تآشيب DNA باصطناع الإريثروبويتين البشري المؤشب الذي يتوفر بعدة أشكال هي Epoetin alfa و Epoetin beta الذين تمت هندستهما في مزارع خلايا مبيض الهمستر الصيني [142]، وكذلك المضاهئ مفرط الثمالات السكرية Darbepoetin alfa والذي يتماثل مع Epoetin alfa من حيث الفعالية لكنه يختلف باحتوائه على ثمالات سكرية إضافية تطيل عمره النصفى مما يسمح بإعطائه كل 3 أسابيع، بينما يعطى Epoetin alfa أسبوعياً [143-145].

هناك عامل آخر محفز لتشكيل الكريات الحمر هو (Continuous Erythropoietin Receptor Activator ; CERA)، وهو عبارة عن جزيئة من Epoetin مع سلسلة بوليميرية جانبية تطيل عمره النصفى لعدة أسابيع مما يسمح بإعطائه بتكرار أقل من [146] Darbepoetin، كما تم أيضاً تحضير عامل صناعي محفز لتشكيل الكريات الحمر هو Hematide [147].

أثبتت هذه المركبات فعاليتها في تصحيح فقر الدم عند مرضى القصور الكلوي المزمن، إضافة إلى تدبير العديد من حالات فقر الدم المعنونة بما فيها فقر الدم في الأمراض المزمنة، فقر الدم عند مرضى عسر تصنع النقي، فقر الدم اللاتنسجي، فقر الدم المرتبط باستخدام المضادات الفيروسية لعلاج مرض الإيدز [148-151]، وقد تم اعتماد هذه المركبات من قبل إدارة الغذاء والدواء (Food and Drug Administration ; FDA) عام 1993 في تدبير فقر الدم عند مرضى السرطان الذين وصلت مستويات الخضاب لديهم إلى أقل من 11 g/dL عند الذكور، وأقل من 10.5 g/dL عند الإناث، وقد أدى استخدام هذه المركبات إلى تحسين فقر الدم والتقليل من عدد مرات نقل الدم وصولاً إلى الاستغناء عنه، وكذلك تحسين نوعية الحياة عند المرضى [152].

2.3 المرضى المستهدفون بالعلاج بمركبات الإريثروبويتين:

بحسب إرشادات الجمعية الأمريكية لعلم الأورام السريري (The American Society of Clinical Oncology ; ASCO) والشبكة الدولية الشاملة للسرطان (National Comprehensive Cancer Network ; NCCN)، يجب البدء بالعلاج بالإريثروبويتين عند كل المرضى الذين يبلغ تركيز الخضاب لديهم مستوى أقل من 10 g/dL، أما عندما تتراوح مستويات الخضاب بين 10–12 g/dL فيجب إعطاء العلاج فقط عند وجود أعراض لدى المريض، وبحسب توجيهات ASCO و NCCN فإن الهدف من العلاج بالإريثروبويتين هو وصول تركيز الخضاب إلى 12 g/dL [153].

3.3 الجرعة الموصى بها من الإريثروبويتين:

الجرعة البدئية الأكثر شيوعاً من Epoetin alfa عند مرضى الأورام هي 150 U/kg تعطى حقناً تحت الجلد 3 مرات أسبوعياً [8]، كما يمكن إعطاؤه بجرعة 40000 U مرة أسبوعياً [154]، بينما يعطى Darbepoetin alfa حقناً تحت الجلد بجرعة بدئية 2.25µg/kg مرة أسبوعياً أو بجرعة 500 µg مرة كل 3 أسابيع [154].

يوصى بإعطاء الحديد خلال فترة العلاج بالإريثروبويتين عند الشك بوجود عوز حديد، أي عندما يكون مستوى فيريتين المصل 40-100 µg/L، حيث يشير هذا المستوى إلى نفاذ مخزون الحديد في حالات الأمراض الالتهابية المزمنة [155،156].

4.3 فعالية العلاج بمركبات الإريثروبويتين:

1.4.3 تحسين نوعية الحياة ومعدلات البقيا:

تحسن المستويات الطبيعية للخضاب من نوعية الحياة (quality of life ; QOL) ومعدلات البقيا عند مرضى الأورام، حيث أشارت العديد من الدراسات إلى انخفاض معدل البقاء على قيد الحياة عند مرضى الأورام ممن لديهم فقر دم وذلك في العديد من أنواع الأورام (سرطان الرئة، سرطان الرأس والعنق، سرطان البروستات، اللمفوما، سرطان عنق الرحم، الورم النقوي العديدي)، حيث ازداد خطر الموت بنسبة 19–75% عند المصابين بفقر الدم وذلك حسب موقع الورم [132].

تؤثر أعراض فقر الدم على نوعية الحياة عند مرضى الأورام، ويعد التعب العرض الأكثر شيوعاً حيث يؤثر على 80–100% من المرضى الخاضعين للمعالجة المضادة للأورام [70،71].

قام Cella في دراسته عام 1997 باستخدام مقياس (Functional Assessment of Cancer Therapy-Fatigue ; FACT-F) ومقياس (Functional Assessment of Cancer Therapy-Anemia ; FACT-An) لتقييم تأثير فقر الدم والتعب على QOL عند 50 مريضاً بأنواع مختلفة من

الأورام، فتبين أن المرضى الذين لديهم مستويات خضاب أعلى من 12 g/dL هم أقل عرضةً للتعب وبحالة جسدية ووظيفية جيدة، ويتمتعون ب QOL أفضل مقارنة مع المرضى الذين لديهم مستويات خضاب أقل من 12 g/dl [4].

اهتمت العديد من الدراسات بتقييم دور علاج فقر الدم بالإريثروبويتين في تحسين QOL عند مرضى الأورام منها دراسة Demetri التي نشرت عام 1998، حيث استخدم مقياس FACT-An لتقييم QOL عند مرضى أورام غير نقوية المنشأ خاضعين للعلاج الكيماوي ومعالجين ب Epoetin alfa بجرعة مقدارها 10000 U تعطى 3 مرات أسبوعياً لمدة 16 أسبوع على الأكثر، فتبين أن استخدام Epoetin alfa أدى إلى ارتفاع واضح في مستوى الخضاب وتحسن QOL وفقاً لمقياس FACT-An، كذلك أدى العلاج ب Epoetin alfa إلى تحسن في مستوى الطاقة، النشاط، والحالة العامة للمريض [15].

وفي دراسة أخرى تم تقييم تأثير العلاج ب Epoetin alfa على أكثر من 2000 مريض أورام غير نقوية المنشأ، لديهم فقر دم وخاضعين للعلاج الكيماوي، حيث تم إعطاء Epoetin alfa 3 مرات أسبوعياً بجرعة مقدارها 150 U/kg لمدة وصلت إلى 4 أشهر، فتبين أن المرضى المعالجين ب Epoetin alfa ازداد الخضاب لديهم بمقدار 1.8 g/dL عن القيمة البدئية، وقد أدى ذلك إلى تحسن واضح في مستوى الطاقة، النشاط، و QOL عند المرضى [14].

تشير النتائج السابقة إلى أن استخدام مركبات الإريثروبويتين في علاج فقر الدم عند مرضى الأورام الخاضعين للعلاج الكيماوي يؤدي إلى تحسن القدرة الوظيفية و QOL عند المرضى.

2.4.3 تقليل الحاجة لنقل الدم:

يقلل استخدام العوامل المحفزة لتشكيل الكريات الحمر من عمليات نقل الدم، وقد كان ذلك واضحاً في العديد من الدراسات حيث كان المعدل الوسطي لانخفاض الحاجة لنقل الدم 30% تقريباً [157].

قام Crawford وزملاؤه في دراسة نشرت عام 1997 [158] بالمقارنة بين استخدام Epoetin alfa و placebo (علاج كاذب) عند مرضى SCLC معالجين ب etoposide ، doxorubicin ، cyclophosphamide ، granulocyte colony stimulating factor. حيث يسبب هذا النظام العلاجي فقر دم عند 100% من المرضى، 80% منهم يحتاجون إلى نقل دم [159].

تم إعطاء placebo إلى 13 مريض، وإعطاء Epoetin alfa إلى 14 مريض بجرعة 75 U/kg في اليوم حقناً تحت الجلد، وقد بدأ ذلك منذ اليوم الأول لتلقي العلاج الكيماوي واستمر خلال 6 أشواط من المعالجة الكيماوية.

أتم المرضى المعالجون ب Epoetin alfa 3.7 شوطاً من العلاج الكيماوي دون الحاجة إلى نقل الدم، أما المرضى الذين تلقوا placebo فقد أكملوا 1.5 شوطاً من العلاج الكيماوي قبل أن يحتاجوا إلى نقل الدم،

أي كان متوسط الزمن الذي قضاه المرضى دون الحاجة إلى نقل الدم 96 يوماً عند المرضى المعالجين بـ Epoetin alfa، و43 يوماً عند المرضى المعالجين بـ placebo.

وفي دراسة أخرى نشرت عام 2001 تبين أن استخدام Epoetin alfa يقلل الحاجة لنقل الدم عند مرضى الأورام الخاضعين للمعالجة الكيميائية، حيث انخفضت الحاجة لنقل الدم عند المرضى المعالجين بالـ Epoetin (24.7%) مقارنة مع المرضى المعالجين بـ placebo (39.5%) [8].

3.4.3 الوقاية من فقر الدم المحرض بالعلاج الكيماوي:

يلعب الإريثروبويتين دوراً هاماً في الوقاية من فقر الدم عند المرضى الخاضعين للمعالجة الكيماوية، ففي دراسة أجريت على مرضى سرطان الرأس والعنق تلقى المرضى 3 أشواط من العلاج الكيماوي باستخدام مركبات paclitaxel و carboplatin، تم إخضاع 14 مريضاً إلى العلاج بـ Epoetin alfa مقابل 22 مريضاً لم يعالجوا بـ Epoetin alfa، وقد لوحظ أن الخضاب انخفض عند المرضى المعالجين بـ Epoetin alfa بمقدار 0.5 g/dL خلال فترة العلاج الكيماوي، بينما انخفض الخضاب عند المرضى غير المعالجين بـ Epoetin alfa بمقدار 3.3 g/dL خلال فترة العلاج، كما أنه لم يتم نقل الدم إلى أي من المرضى المعالجين بـ Epoetin alfa خلال فترة العلاج الكيماوي، بينما تم نقل الدم إلى 18% من المرضى غير المعالجين بـ Epoetin alfa خلال فترة العلاج [160].

تشير نتائج الدراسات السابقة [158-160] إلى أن استخدام Epoetin alfa يقي من حدوث فقر الدم المحرض بالعلاج الكيماوي ويقلل الحاجة لنقل الدم عندما يعطى بالتزامن مع أنظمة العلاج الكيماوي التي تسبب عادةً ازدياد الحاجة لنقل الدم.

5.3 الآثار الجانبية للعلاج بالإريثروبويتين:

1.5.3 الحوادث الخثارية:

نشرت دراسة عام 2003 حول تأثير العلاج بالإريثروبويتين على مرضى سرطان الرأس والعنق الخاضعين للمعالجة الشعاعية، فتبين أن استخدام الإريثروبويتين أدى إلى ارتفاع مستوى الخضاب وتحسن نوعية الحياة عند المرضى، لكن الأمر المقلق وغير المتوقع هو أن معدلات البقيا عند المرضى المعالجين بالإريثروبويتين كانت أقل بالمقارنة مع المرضى المعالجين بالـ placebo [161]، وقد أشارت دراسات أخرى إلى نتائج مشابهة [162].

يفسر ذلك بأن الإريثروبويتين يعطى للمرضى بهدف الوصول إلى مستويات خضاب أعلى من المستويات المستحب الوصول إليها مما يؤدي إلى زيادة الحوادث الخثارية [162]، حيث بين Glaspy وزملاؤه في دراسة نشرت عام 2010 أن خطر حدوث الصمة الخثارية يزداد عند إعطاء الإريثروبويتين بهدف وصول

تركيز الخضاب إلى مستوى أعلى من 12 g/dL أو عندما يزداد تركيز الخضاب بمقدار 1g/dL خلال 14 يوماً [163].

كذلك يؤثر الإريثروبويتين على عمل الصفيحات والبطانة الوعائية وعلى مستويات عامل فون ويلبراند كما يخفض تأثير الإسبرين في إطالة زمن النزف [164-166].

أكدت العديد من الدراسات الأخرى على ازدياد الحوادث الخثارية عند المرضى المعالجين بالإريثروبويتين، حيث بينت دراسة نشرت عام 2006 أن معدل حدوث الاختلاطات الخثارية عند المرضى المعالجين بالإريثروبويتين هو 5.2% مقابل 3.1% عند مرضى مجموعة الشاهد غير المعالجين بالإريثروبويتين [167]، وفي دراسة أخرى لوحظت الحوادث الخثارية عند 4.5% من المرضى المعالجين بمركبات الإريثروبويتين، بينما لوحظت الحوادث الخثارية عند 1.4% من مرضى مجموعة الشاهد [157].

2.5.3 ارتفاع التوتر الشرياني:

أثبتت الإريثروبويتين فائدته في تحسين مستويات الخضاب و نوعية الحياة عند مرضى الأورام [15]، لكن ارتفاع ضغط الدم هو من الأخطار المحتملة عند المرضى المعالجين بالإريثروبويتين [168].

إن عدم تكيف المقاومة الوعائية أو النتاج القلبي مع زيادة لزوجة الدم الناجمة عن تصحيح فقر الدم يعد من عوامل الخطر لتطور ارتفاع ضغط الدم [169]، كما أن ارتفاع ضغط الدم المحفز بالإريثروبويتين ليس متوسطاً فقط بازدياد كتلة الكريات الحمر، بل هو ناجم أيضاً عن تأثيرات مباشرة للإريثروبويتين، حيث تبين أن الإريثروبويتين ينقص فعالية أنزيم اصطناع أكسيد الآزوت في الخلايا البطانية للشريان التاجي عند البشر [170].

كذلك يرتبط العلاج بالإريثروبويتين مع وجود خلل في توازن الكالسيوم في الخلايا، حيث يحفز الإريثروبويتين تدفق شوارد الكالسيوم في الخلايا العضلية الملساء الوعائية مما يساهم في ارتفاع ضغط الدم المرتبط بالعلاج بالإريثروبويتين [171].

3.5.3 زيادة معدل نمو الورم والاستحداث الوعائي:

تم اقتراح دور العوامل المحفزة لتشكيل الكريات الحمر في تعزيز نمو الورم في دراستين إحداهما على مرضى سرطان الرأس والعنق [161] والأخرى على مرضى سرطان الثدي [172].

تعزى هذه التأثيرات إلى تمثيل بعض الخلايا السرطانية لمستقبل الإريثروبويتين، الأمر الذي يزيد الاستحداث الوعائي الورمي العائد إلى الإريثروبويتين وبالتالي زيادة النفاثات السرطانية [173]، حيث يتم التعبير عن الإريثروبويتين ومستقبله في العديد من أنواع الأورام كسرطان الثدي والمعدة وغيرها، ويلاحظ وجود توزع كثيف للإريثروبويتين ومستقبله في الخلايا الورمية وكذلك في الجملة الوعائية الورمية [174، 175]، وقد بينت إحدى الدراسات وجود مستويات زائدة من الإريثروبويتين ومستقبله في النفاثات إلى

العقد اللمفية مقارنة مع الأورام الأساسية في الرأس والعنق مما يقترح أن للإريتروبوليتين ومستقبله دوراً في تطور الورم وحدوث النقائل السرطانية [176].

يؤدي التعبير المرتفع عن الإريتروبوليتين ومستقبله في الأورام الصلبة إلى تحسن بقيا الخلايا الورمية التي تعرضت لنقص الأكسجة، حيث يحفز الإريتروبوليتين توالد الخلايا الورمية الحاملة لمستقبله ويثبط موتها الخلوي المبرمج [177]، وبالتالي فإن تأثير الإريتروبوليتين على نمو الورم أبعد من فعاليته المولدة للأوعية [178].

على العكس من ذلك بين Pirker وزملاؤه في دراسة نشرت عام 2008 لتقييم فعالية وأمان العلاج بمركب Darbepoetin alfa عند مرضى SCLC، أنه لا يوجد فرق في تطور الورم أو حدوث الوفاة بين المرضى المعالجين بـ Darbepoetin alfa والمرضى المعالجين بـ placebo [179].

تقترح هذه الدراسة أنه على الرغم من التعبير عن مستقبل الإريتروبوليتين في العديد من أنواع الأورام بما فيها SCLC [180،181]، فإنه لا دور للإريتروبوليتين ومستقبله في نمو الورم، ويتوافق ذلك مع العديد من الدراسات الأخرى التي لم تلاحظ ازدياد تطور المرض عند استخدام العوامل المحفزة لتشكيل الكريات الحمر لعلاج فقر الدم المحرض بالعلاج الكيماوي عند مرضى الأورام [182،183].

ظهر دور العوامل المحفزة لتشكيل الكريات الحمر في تعزيز نمو الورم بشكل واضح عندما كان الهدف من استخدامها هو الحفاظ على مستويات طبيعية للخضاب، لكن تأثيرها ضئيل جداً عند الحفاظ على مستوى الخضاب بحدود 12 g/dL.

أدت نتائج هذه الدراسات إلى تغيير التوجهات حول استخدام الإريتروبوليتين لعلاج فقر الدم عند مرضى الأورام، حيث حددت استخدام الإريتروبوليتين لعلاج فقر الدم عند مرضى الأورام الخاضعين للمعالجة الكيماوية، وأنقصت تركيز الخضاب المستهدف إلى 12 g/dL [184].

الفصل الرابع: دراسات عالمية حول أهمية قيمة إريتروبويتين المصل قبل العلاج في التنبؤ بالاستجابة العلاجية

تعد مركبات الإريتروبويتين البشري المؤشب فعالة في علاج فقر الدم عند مرضى الأورام لكن بمعدلات استجابة متفاوتة [13،8]، حيث تتراوح بين 32-85% ، وبشكل عام حوالي 70% من المرضى يزداد الخضاب لديهم بمقدار أكبر من 2 g/dL [15،14،8].

هناك مجموعة من العوامل التي تؤثر على استجابة المرضى للعلاج بالعوامل المحفزة لتشكيل الكريات الحمر كنوع ومرحلة الورم، وجود عوامل أخرى مسببة لفقر الدم (نزف، عوز حديد..)، نوع وجرعة العلاج الكيميائي [187-185].

لا يكون مستوى إريتروبويتين المصل مرتفعاً عادةً عند وجود فقر دم عند مرضى الأورام [188]، وقد اقترحت العديد من الدراسات أن الاستجابة الضعيفة على العلاج بمركبات الإريتروبويتين قد تكون مرتبطة بوجود تراكيز مرتفعة من الإريتروبويتين في المصل قبل بدء العلاج [18-16]، وقد أدى ذلك إلى تطور عدد من النظم التنبؤية [189،185]، حيث تم في العديد من الدراسات اختبار عدد من العوامل قبل بدء العلاج بالإريتروبويتين وخلال المراحل الباكرة من العلاج بهدف تقييم فائدتها في التنبؤ بالاستجابة العلاجية، وقد استخدمت هذه العوامل غالباً بالمشاركة مع تركيز الإريتروبويتين في المصل قبل بدء العلاج.

تعد التغيرات الباكرة في الخضاب والشبكيات (خلال 2-4 أسابيع من بدء العلاج) ذات فائدة تنبؤية بالاستجابة العلاجية [20،19،15،13]، كما يمكن الاستفادة من تقييم مستوى الحديد في الجسم في التنبؤ بالاستجابة العلاجية .

قام Tilman وزملاؤه في دراسة نشرت عام 2007 [190] على مرضى أورام لديهم فقر دم وخاضعين للعلاج الكيميائي بتقييم دور مجموعة من العوامل في التنبؤ بالاستجابة على العلاج بالإريتروبويتين. اعتبر المريض مصاباً بفقر الدم إذا كان تركيز الخضاب لديه أقل من 11 g/dL أو إذا كان تناقص الخضاب لديه أكبر من 1.5 g/dL خلال 4 أسابيع.

تم إخضاع المرضى إلى العلاج بمركب Darbepoetin لمدة 12 أسبوع إما بجرعة مقدارها 150 µg كل أسبوع أو بجرعة 300 µg كل أسبوعين وذلك بشكل مترافق مع العلاج الكيميائي، وقد تم مضاعفة الجرعة إلى 300 µg كل أسبوع إذا لم ترتفع قيمة الخضاب بمقدار $1g/dL \leq$ بعد 4 أسابيع.

تم إيقاف العلاج بال Darbepoetin عندما تجاوز تركيز الخضاب 14 g/dL عند المرضى المستجيبين، كما تم إيقاف العلاج إذا كان ارتفاع الخضاب أقل من 1g/dL بعد 8 أسابيع، حيث اعتبر المريض غير مستجيب في هذه الحالة .

عرفت الاستجابة العلاجية بأنها ارتفاع تركيز الخضاب بمقدار أكبر من 2g/dL مقارنة مع قيمته البدئية أو وصول تركيز الخضاب إلى 12 g/dL أو أكثر خلال 8-12 أسبوع. توصلت هذه الدراسة إلى النتائج التالية:

- بلغت نسبة الاستجابة على العلاج بالإريتروبويتين عند المرضى الذين التزموا بالبروتوكول العلاجي حوالي 68%
- لا تعتبر القيمة البدئية لإريتروبويتين المصل قبل العلاج عاملاً تنبؤياً بالاستجابة عند مرضى الأورام الصلبة وذلك على عكس مرضى الخباثات التكاثرية للمفاوية، وتتوافق هذه النتيجة مع دراسات سابقة [186،191].
- ليس للشبكيات دور هام في التنبؤ بالاستجابة العلاجية.
- ارتفاع مستقبل الترانسفيرين المنحل ذو قيمة تنبؤية بالاستجابة العلاجية.
- العامل ذو القيمة التنبؤية الأهم هو ارتفاع الخضاب بعد 4 أسابيع من العلاج، وقد اعتبر العامل التنبؤي الرئيسي في عدد من الدراسات السابقة [187،192،193].

في دراسة أخرى نشرت عام 2003 قام Littlewood وزملاؤه بتحليل البيانات المجموعة من 4 دراسات سريرية عشوائية شملت 604 مرضى خباثات غير نقوية المنشأ بهدف تقييم فائدة عدد من العوامل قبل العلاج وخلال المراحل الباكرة من العلاج في التنبؤ بالاستجابة على العلاج بالإريتروبويتين [187]. تم إخضاع المرضى إلى العلاج بالإريتروبويتين بجرعة 150 IU/kg حقناً تحت الجلد 3 مرات أسبوعياً، وقد تم مضاعفة الجرعة إلى 300 IU/kg في جميع الدراسات باستثناء دراسة واحدة إذا لم تتحقق الاستجابة بعد 4 أسابيع من العلاج (تحسن الخضاب > 1 g/dL). كان متوسط سن المرضى المشمولين بالدراسة هو 62 سنة، 52% منهم لديهم أورام صلبة، وكان أكثر أنواع الأورام شيوعاً هو سرطان الثدي 23%، يليه الورم النقوي 20% ثم اللمفوما 16%. تم معايرة إريتروبويتين المصل قبل بدء العلاج إضافة إلى تقييم الخضاب والمشعرات الدموية الأخرى قبل وخلال فترة العلاج.

توصلت هذه الدراسة إلى النتائج التالية:

- بلغت نسبة الاستجابة على العلاج بالإريتروبويتين في نهاية الدراسة 68.1%
- تبين ارتباط عدد من العوامل قبل بدء العلاج مع الاستجابة وهي:
مستوى إريتروبويتين المصل $\geq 100 \text{ mU/ml}$ ، ومستوى الفيريتين $\geq 400 \text{ ng/ml}$.
- تبين ارتباط عدد من العوامل خلال المراحل الباكرة من العلاج مع الاستجابة كان أهمها خضاب الأسبوع الرابع، حيث أن ارتفاع تركيز الخضاب في الأسبوع الرابع بمقدار $< 1 \text{ g/dL}$ يعد عاملاً تنبؤياً هاماً بحدوث الاستجابة.
- لكن بشكل عام اعتبرت هذه الدراسة أنه من غير المفيد استخدام هذه العوامل بشكل روتيني للتنبؤ بالاستجابة العلاجية كونها ذات حساسية ونوعية منخفضة.

قام Cazzola وزملاؤه في دراسة نشرت عام 1996 بتقييم دور عدد من العوامل في التنبؤ بالاستجابة على العلاج بمركبات rHuEPO [185]. شملت الدراسة 48 مريضاً بأمراض خبيثة مختلفة (دموية وصلبة)، كانت قيمة الخضاب البدئي عند المرضى المشمولين بالدراسة أقل من 10 g/dL، وتم إعطاء الإريثروبويتين حقناً تحت الجلد مرة كل يوم لمدة 5 أيام بجرعة بدئية 375 U/kg/week لمدة 4 أسابيع، تم مضاعفتها إلى 750 U/kg/week لمدة 4 أسابيع أخرى إذا لم تلاحظ استجابة عند المرضى خلال الأسابيع الأربعة الأولى من العلاج. عرفت الاستجابة بأنها ارتفاع تركيز الخضاب بمقدار $\leq 2\text{g/dL}$ دون الحاجة لنقل الدم.

تم إجراء تعداد دم كامل بشكل أسبوعي، كما تم تقييم الحديد في الجسم من خلال قياس حديد المصل، معامل إشباع الترانسفيرين، وفيريتين المصل. كما تم إعطاء الحديد الفموي بشكل روتيني باستثناء المرضى الذين لديهم حديد المصل $< 150\mu\text{g/dL}$ أو معامل إشباع الترانسفيرين $< 60\%$. وقد توصلت هذه الدراسة إلى النتائج التالية:

- تحققت الاستجابة عند 58% من المرضى خلال 8 أسابيع.
- لوحظ وجود علاقة عكسية بين تغير الخضاب خلال 8 أسابيع والقيمة المصلية للإريثروبويتين قبل بدء العلاج حيث أن 31/25 مريض كانت قيمة الإريثروبويتين لديهم $> 100\text{mu/ml}$ استجابوا على العلاج، بينما استجاب فقط 17/3 مريض كانت قيمة الإريثروبويتين لديهم $\leq 100\text{mu/ml}$.
- ارتفاع الخضاب بعد 8 أسابيع مرتبط بشكل مباشر بتغير مستقبل الترانسفيرين في الأسبوع الثاني.
- لم يلاحظ وجود علاقة بين ارتفاع الخضاب بعد 8 أسابيع والتغير في تعداد الشبكيات بعد أسبوعين.
- ارتفاع الخضاب بعد 8 أسابيع مرتبط بشكل ضعيف بتغير مستوى الخضاب بعد أسبوعين.
- ارتفاع الخضاب بعد 8 أسابيع مرتبط بشكل واضح بتغير تعداد الشبكيات ومستوى الخضاب بعد 4 أسابيع.

يمكننا أن نستنتج من الدراسات الثلاثة السابقة [185،187،190] أن الخلل في إنتاج الإريثروبويتين الداخلي يعد عاملاً تنبؤياً رئيسياً بالاستجابة على العلاج بمركبات rHuEPO، فإذا كانت قيمة إريثروبويتين المصل قبل العلاج أقل من 100 mu/ml، فإن ذلك يعد مؤشراً على حدوث الاستجابة العلاجية.

أشارت العديد من الدراسات الأخرى إلى وجود علاقة عكسية بين مستوى الإريثروبويتين قبل العلاج وحدوث الاستجابة على العلاج بالإريثروبويتين منها دراسة Stenke التي نشرت عام 1993 حول استخدام مركبات rHuEPO في علاج متلازمة عسر تصنع النقي، حيث تبين أن كل المرضى

المستجيبين باستثناء مريض واحد كانت المستويات المصلية للإريثروبويتين لديهم قبل بدء العلاج أقل من 100 mu/ml [194].

في دراسة أخرى نشرت عام 1995 قام Rose وزملاؤه بإخضاع 100 مريض بمتلازمة عسر تصنع النقي إلى العلاج بمركبات rHuEPO، فتبين أن 86% من المرضى المستجيبين للعلاج كانت لديهم مستويات إريثروبويتين المصل قبل العلاج أقل من 100 mu/ml [195].

كذلك قام Cazzola وزملاؤه في دراسة نشرت عام 1995 بإعطاء مركبات rHuEPO بجرعة 500U/kg/week أو أكثر لعلاج فقر الدم المرتبط بالورم النقوي العديد واللمفوما اللاهودجكنية. تبين أن مستوى إريثروبويتين المصل قبل بدء العلاج هو العامل التنبؤي الأفضل بالاستجابة العلاجية، حيث أن حوالي 75% من المرضى الذين لديهم التركيز البدئي لإريثروبويتين المصل $\geq 100 \text{ mU/ml}$ استجابوا على العلاج، بالمقابل فإن أقل من 20% من المرضى الذين لديهم التركيز البدئي لإريثروبويتين أكبر من 100 mU/ml، استجابوا على العلاج [196].

الدراسة العملية

الفصل الخامس: المواد والطرائق

MATERIALS AND METHODS

1.5 عينة الدراسة:

شملت هذه الدراسة 30 مريض أورام (صلبة ودموية)، الخضاب لديهم أقل من 10 g/dL، خاضعين للعلاج الكيماوي، وغير معالجين سابقاً بمركبات rHuEPO. خضع المرضى المشمولون بالدراسة إلى العلاج بمركب Epoetin بجرعة 8000 U بشكل إبر تحت الجلد 3 مرات أسبوعياً لمدة شهرين.

تم استبعاد مريضين في نهاية الدراسة ولم تدرس استجابتهما على العلاج بالإريتروبويتين بسبب عدم إكمالهما العلاج خلال مدة الدراسة (شهرين)، ليصبح العدد النهائي للمرضى الذين درست استجابتهم على العلاج بالإريتروبويتين هو 28 مريضاً.

جمعت العينات من قسم المعالجة الكيميائية والشعاعية في مشفى تشرين الجامعي خلال الفترة الممتدة بين أيار 2013 و نيسان 2014. تم تحديد كل المعطيات المتعلقة بخصائص المرضى كالعمر والجنس ونوع الورم، إضافة إلى تسجيل نتائج التحاليل الدموية التي أجراها المرضى خلال مدة الدراسة، وجمعت كل المعلومات في استمارة الدراسة التالية:

الجدول (1-5): استمارة الدراسة الخاصة بالعيينة المدروسة.

رقم التسلسل:		تاريخ دخول المريض بالدراسة:			
رقم الإضبارة:		مواعيد الزيارات القادمة:			
الهوية الشخصية					
الاسم	العمر	الجنس	رقم الهاتف	نوع الورم	تاريخ التشخيص

المشعرات الدموية قبل العلاج							
الإريثروبويتين		RBC	Hct	Hb			
المعطيات المتعلقة بالمرضى خلال فترة العلاج							
نوع وجرعة العلاج الكيميائي	عدد مرات نقل الدم	Hct	Ferritin	RBC	شبيكات	Hb	
							بعد أسبوعين
							بعد 4 أسابيع
							بعد 8 أسابيع

2.5 المواد والأجهزة المستخدمة في البحث:

تم جمع عينات الدم بمقدار 5 مل من الدم الوريدي على أنابيب جافة لاتحوي مضاد تخثر وذلك قبل بدء المريض بتلقي الإريثروبويتين، ثقلت العينات باستخدام المثقلة الموجودة في مخبر مشفى تشرين الجامعي للحصول على المصل (serum)، وتم حفظ المصل في المجمدة بدرجة حرارة 20°- إلى حين إجراء المقايسة للإريثروبويتين في المصل.

تم إجراء المقايسة بطريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA، Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) باستخدام جهاز ELISA الموجود في مخبر مشفى تشرين الجامعي، وباستخدام Kit تابع لشركة DRG الأميركية.

3.5 التحري عن الإريثروبويتين:

1.3.5 مبدأ المقايسة:

المقايسة المناعية للإريثروبويتين هي عبارة عن two - site ELISA، تهدف إلى قياس الشكل الفعال بيولوجياً من الإريثروبويتين والمكون من 165 حمض أميني.

تتم المقايسة باستخدام نوعين مختلفين من الأضداد وحيدة النسيلة تجاه الإريثروبويتين البشري، وهي نوعية لمناطق محددة في جزيئة الإريثروبويتين، يكون أحد الضدين مرتبطاً مع البيوتين بينما يكون الضد الآخر موسوماً بأنزيم البيروكسيداز.

تحضن العينات والشاهد (control) والعياري (calibrator) مع كل من الضد المرتبط مع البيوتين وال ضد الموسوم بالأنزيم في الصفيحة المطلية بال streptavidin، وبعد انتهاء مدة الحضان يتم الغسل بهدف التخلص من المكونات غير المرتبطة ثم يحضن الأنزيم الموجود على الطور الصلب مع الركازة وهي عبارة عن tetramethylbenzidine، ثم يضاف محلول حمضي لإيقاف التفاعل فينقلب اللون إلى الأصفر، حيث تتناسب شدة اللون الأصفر مع تركيز الإريثروبويتين في العينة.

الجدول (2-5): محتوى ال kit المستخدم في مقايسة الإريثروبويتين.

الأضداد المقترنة بالبيوتين
الأضداد الموسومة بأنزيم البيروكسيداز
محلول الغسيل: (saline+surfactant) مع وجود سيبروفلوكساسين كمادة حافظة
محلول الركازة: (tetramethylbenzidine)
محلول الإيقاف stopping solution: عبارة عن حمض الكبريت 1N
الصفيحة microplate: تحتوي 12 صفاً من الحجرات، يحتوي كل صف على 8 حجرات مطلية بال streptavidine
(A-F) Calibrators
(2،1) Controls

2.3.5 خطوات المقايسة:

- توزع العينات بشكل دقيق مع ترقيمها.
- يضاف 200 µl من كل من العينات، controls، calibrators إلى الحجرات المخصصة لها.
- يضاف 25 µl من الضد المقترن بالبيوتين إلى كل الحجرات .
- يضاف 25 µl من الضد الموسوم بالأنتزيم إلى كل الحجرات مع المزج الجيد.
- تغطي الصفيحة بورق الألمنيوم لتجنب التعرض للضوء، وتوضع على الهزازة لمدة ساعتين بدرجة حرارة الغرفة.
- تزال الأضداد الزائدة غير المرتبطة بعملية غسل 5 مرات بمحلول الغسيل بعد تمديده، وتجفف الصفيحة بقلبها على المحارم الورقية.
- يضاف 150 µl من محلول الركازة إلى كل الحجرات مع المزج الجيد.
- تغطي الصفيحة بورق الألمنيوم وتوضع على الهزازة لمدة نصف ساعة بدرجة حرارة الغرفة.
- يضاف 100 µl من محلول الإيقاف إلى كل الحجرات لإيقاف التفاعل.
- تقرأ امتصاصية المحلول خلال 10 دقائق عند طول موجة 450 nm مقابل 250 µl من الماء المقطر، ثم تعاد قراءة الامتصاصية عند طول موجة 405 nm مقابل الماء المقطر.

4.5 التحليل الإحصائي:

تم استخدام الاختبارات الإحصائية التالية:

- اختبار "تي" لمجموعتين مستقلتين two samples t test: لمقارنة متوسطين حسابيين بين مجموعتين، والاختبار اللانمطي Mann-Whitney U-test إذا كانت شروط استخدام اختبار "تي" غير محققة.
- اختبار كاي مربع Chi-squared test: لمقارنة النسب المئوية للمتغيرات الفئوية بين المجموعتين المدروستين، أو الاختبار الدقيق لـ "فيشر" Fisher's exact test عندما لا تكون شروط تطبيق اختبار كاي مربع محققة.
- الفروق عند عتبة الدلالة p value أقل أو تساوي 0.05 اعتبرت هامة إحصائياً.
- تم التحليل الإحصائي بمساعدة البرنامج الإحصائي Stata (version 6.0).

الفصل السادس: النتائج والمناقشة RESULTS AND DISCUSSION

1.6 خصائص المرضى المشاركين في الدراسة:

شملت هذه الدراسة التجريبية 30 مريضاً مصاباً بالسرطان ويعاني من فقر دم (14 أنثى و16 ذكراً)، تراوحت أعمار المرضى بين 24 سنة و80 سنة بمتوسط قدره 55 سنة تقريباً وانحراف معياري قدره 14 سنة.

كان أكثر الأورام شيوعاً في العينة المدروسة سرطان الثدي (7 حالات)، ثم اللمفوما اللاهودجكنية والورم النقوي العديدي (4 حالات لكل منهما)، ثم سرطان الرئة (3 حالات) وسرطان الدماغ ولمفوما هودجكن (حالتين لكل منهما) بينما شملت الحالات الأخرى (سرطان المعدة، البنكرياس، المثانة، البروستات، الكولون، الكلية، ابيضاض لمفاوي، متلازمة عسر تصنع النقي).

كان الإريثروبويتين أقل من 100 U/L عند 60% من المرضى، وبلغ متوسط الخضاب في بداية الدراسة 8.5 g/dL (الانحراف المعياري 1.11).

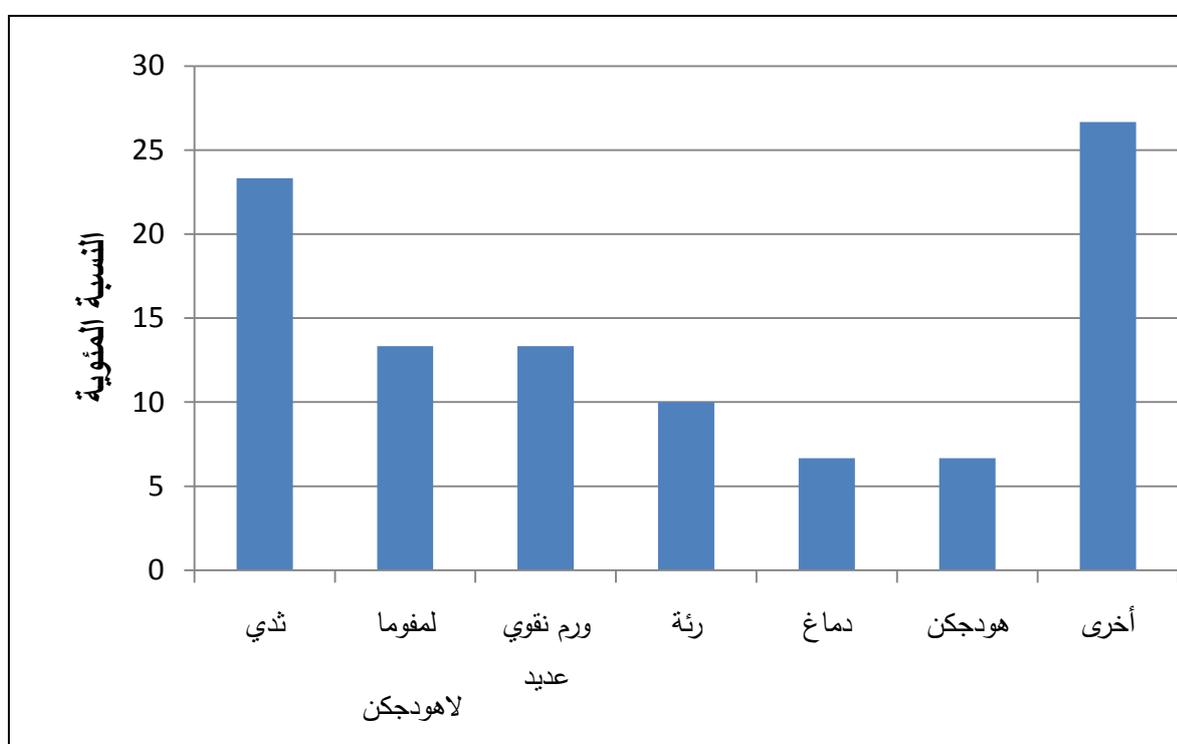
تم إعطاء مركبات البلاتين إلى 10 مرضى، و تم علاج 5 مرضى بالدوناتاكسيل، كما تم نقل الدم عند مريضين فقط خلال مدة الدراسة. يلخص الجدول (1-6) الخصائص المتعلقة بالمرضى المشمولين في الدراسة:

الجدول (1-6): خصائص المرضى المشاركين في الدراسة.

الانحراف المعياري	المتوسط	النسبة المئوية	التكرار		
		46.67	14	أنثى	الجنس
		53.33	16	ذكر	
13.97	54.8			بالسنوات	العمر
		23.33	7	ثدي	نوع الورم
		13.33	4	لمفوما لاهودجكن	
		13.33	4	ورم نقوي عديدي	
		10	3	رئة	
		6.67	2	دماغ	
		6.67	2	لمفوما هودجكن	
		26.67	8	أخرى	

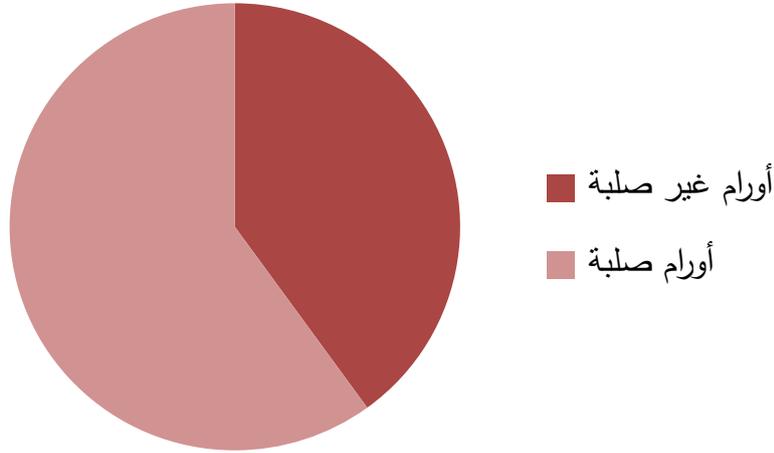
		40	12	أورام غير صلبة	
		60	18	أورام صلبة	
		60	18	<100 U/L	الإريتروبويتين
		40	12	>100 U/L	
1.11	8.52			g/dL	الخصاب البدني
	66.67	20	لا		بلاطين
	33.33	10	نعم		
	83.33	25	لا		دوناتاكسيل
	16.67	5	نعم		
	93.33	28	لا		نقل الدم
	6.67	2	نعم		

يظهر الشكل (1-6) توزيع نوع الورم عند المرضى المشاركين في الدراسة:



الشكل (1-6) : توزيع نوع الورم عند المرضى.

يبين الشكل (2-6) توزيع الأورام الصلبة وغير الصلبة عند المرضى المشاركين في الدراسة، حيث بلغت نسبة الأورام الصلبة 60% ونسبة الأورام غير الصلبة 40%.



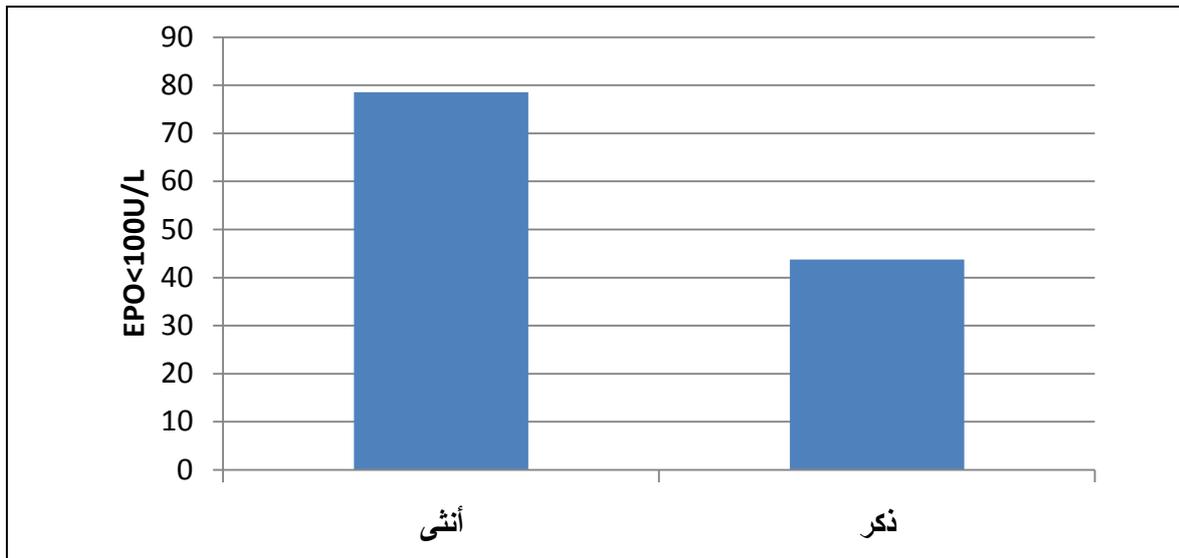
الشكل (2-6): توزيع الأورام الصلبة وغير الصلبة عند المرضى.

2.6 العوامل المتعلقة بقيمة الإريثروبويتين:

لاحظنا وجود علاقة هامة إحصائياً بين قيمة الإريثروبويتين قبل بدء العلاج الكيميائي وكل من جنس المرضى، وتركيز الخضاب البدئي.

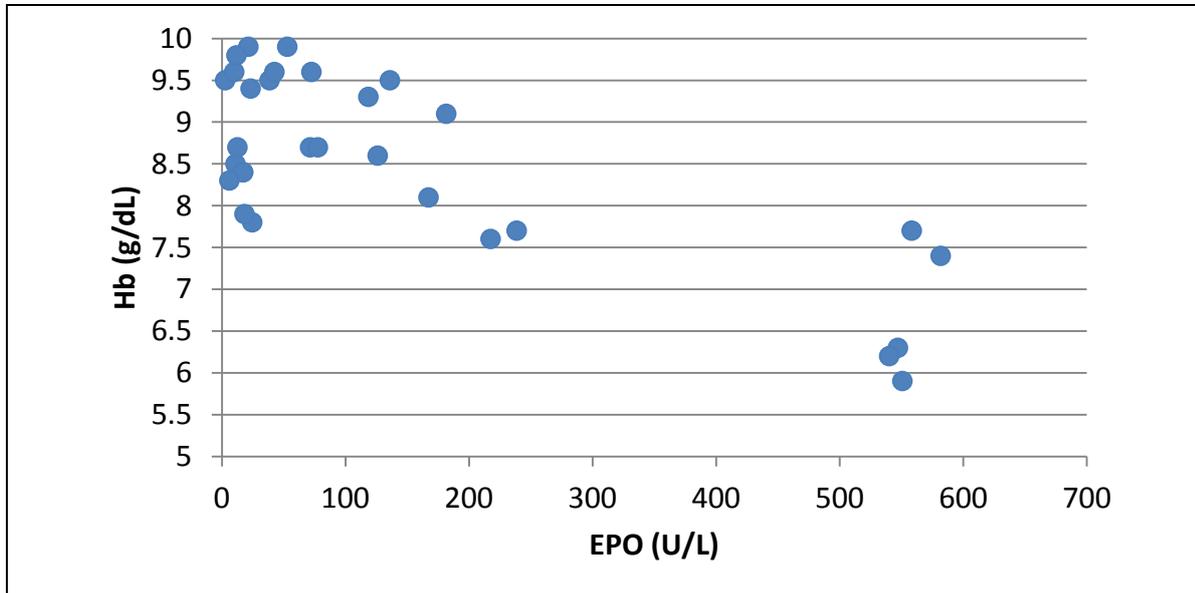
يبين الشكل (3-6) وجود علاقة هامة بين الجنس وتركيز الإريثروبويتين البدئي، حيث كانت نسبة انخفاض الإريثروبويتين (<100 U/L) أعلى عند مرضى الأورام الإناث منه عند المرضى الذكور (79% تقريباً مقابل 44%)، وكان هذا الفرق هاماً من الناحية الإحصائية ($Pvalue = 0.05$).

يمكن تفسير ذلك باختلاف مستوى الأكسجة النسيجية بحسب الجنس، حيث يكون مستوى الأكسجة النسيجية بشكل عام أخفض عند الذكور بسبب عدة عوامل كالبدانة والتدخين التي تلاحظ عند الذكور بشكل أكبر مقارنة مع الإناث، وبالتالي من الطبيعي أن يكون تركيز الإريثروبويتين أعلى عند الذكور وذلك استجابة لانخفاض الأكسجة النسيجية. كذلك تلعب الأندروجينات عند الذكور دوراً في تحفيز إنتاج الإريثروبويتين مما يفسر أيضاً ارتفاع مستوياته المصلية لدى الذكور.



الشكل (3-6): العلاقة بين الإريثروبويتين والجنس.

كما وجدنا علاقة عكسية هامة إحصائياً بين قيمة الإريثروبويتين قبل بدء العلاج وتركيز الخضاب البدئي، حيث يزداد تركيز الخضاب مع تناقص مستوى الإريثروبويتين. يظهر الشكل (6-4) أن متوسط الخضاب البدئي أعلى عند وجود انخفاض في مستوى الإريثروبويتين (<100 U/L) منه عند وجود ارتفاع في مستوى الإريثروبويتين (>100 U/L)، (9.01 g/dL مقابل 7.78 g/dL)، (Pvalue = 0.0015).



الشكل (4-6): العلاقة بين قيمة الإريثروبويتين وتركيز الخضاب البدئي.

تبدو هذه النتيجة منطقية لأنه عند انخفاض تركيز الخضاب ومستوى الأكسجة النسيجية سوف يزداد تركيز الإريثروبويتين كرد فعل طبيعي لتعويض نقص الأكسجة في الجسم.

بالمقابل، لم نلاحظ وجود علاقة هامة إحصائياً بين كل من العمر، ونوع الورم من جهة، وقيمة الإريثروبويتين البدئي من جهة ثانية (Pvalue > 0.05).

يلخص الجدول (2-6) العلاقة بين بتركيز الإريثروبويتين قبل بدء العلاج وكل من العمر، الجنس، نوع الورم، وتركيز الخضاب البدئي.

الجدول (2-6): العوامل المتعلقة بقيمة الإريثروبويتين.

p value	الإريثروبويتين				
	>100 U/L	<100 U/L			
0.05	3	11	التكرار	أنثى	الجنس
	21.43	78.57	النسبة المئوية		
	9	7	التكرار	ذكر	
	56.25	43.75	النسبة المئوية		
0.27	51.33	57.11	المتوسط	بالسنوات	العمر
	12.45	14.78	الانحراف المعياري		
0.30	6	6	التكرار	أورام غير صلبة	نوع الورم
	50	50	النسبة المئوية		
	6	12	التكرار	أورام صلبة	
	33.33	66.67	النسبة المئوية		
0.0015	7.78	9.01	المتوسط		الخضاب البدئي
	1.21	0.70	الانحراف المعياري		

3.6 دراسة الاستجابة على علاج فقر الدم بالإريثروبويتين:

تحققت الاستجابة في نهاية الدراسة عند 28/15 مريضاً (نسبة الاستجابة 53.57%)، وقد لاحظنا وجود علاقة هامة إحصائياً بين الاستجابة بعد 8 أسابيع من العلاج بالإريثروبويتين ومستوى إريثروبويتين المصل قبل بدء العلاج الكيميائي.

كذلك لاحظنا وجود علاقة هامة إحصائياً بين الاستجابة العلاجية وعدد من العوامل كنوع الورم، تعداد الشبكيات في الأسبوع الثاني، تركيز الخضاب في الأسبوع الثاني، وتركيز الخضاب في الأسبوع الرابع.

بالمقابل لم نلاحظ وجود علاقة هامة إحصائياً بين كل من الجنس، العمر، تركيز الخضاب البدئي، نوع العلاج الكيماوي، مستوى الفيريتين في الأسبوع الثاني من جهة، والاستجابة على العلاج بالإريتروبويتين من جهة ثانية (Pvalue > 0.05).

الجدول (3-6): العوامل غير المتعلقة بالاستجابة على علاج فقر الدم بالإريتروبويتين.

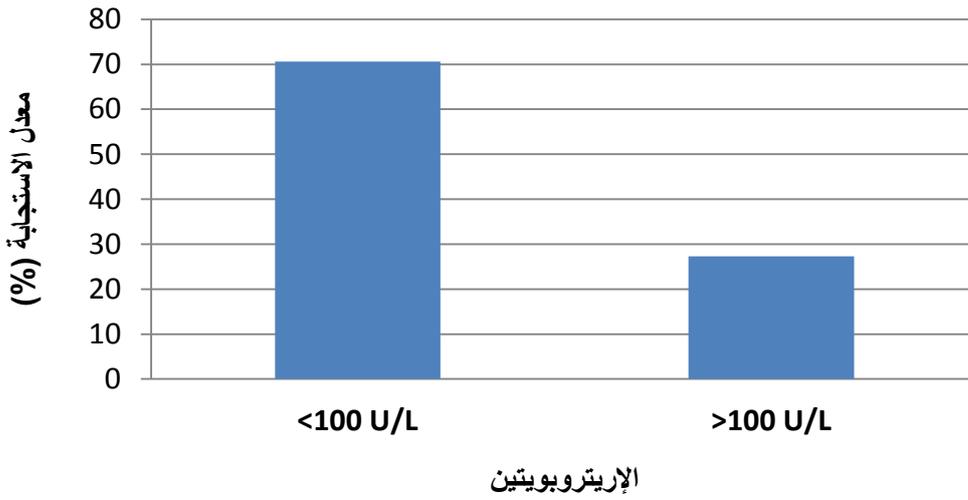
p value	الاستجابة بعد 8 أسابيع				
	نعم	لا			
0.23	9	5	التكرار	أنثى	الجنس
	64.29	35.71	النسبة المئوية		
	6	8	التكرار	ذكر	
	42.86	57.14	النسبة المئوية		
0.31	57.80	52.69	المتوسط	بالسنوات	العمر
	15.14	9.72	الانحراف المعياري		
0.9867	8.45 g/dL	8.45 g/dL	المتوسط		الخضاب البدئي
	1.13	1.12	الانحراف المعياري		
0.249	11	7	التكرار	لا	بلاطين
	61.11	38.89	النسبة المئوية		
	4	6	التكرار	نعم	
	40	60	النسبة المئوية		
0.428	13	10	التكرار	لا	دوناتاكسيل
	56.52	43.48	النسبة المئوية		
	2	3	التكرار	نعم	
	40	60	النسبة المئوية		
0.586	308 ng/ml	622 ng/ml	المتوسط	بعد أسبوعين	فيريتين
	555	1149	الانحراف المعياري		

1.3.6 العلاقة بين تركيز الإريثروبويتين قبل بدء العلاج والاستجابة:

كان معدل الاستجابة أعلى عند وجود انخفاض في مستوى الإريثروبويتين (<100 U/L) منه عند وجود ارتفاع في مستوى الإريثروبويتين (>100 U/L) ، (71% مقابل 27%) ، (Pvalue = 0.025).

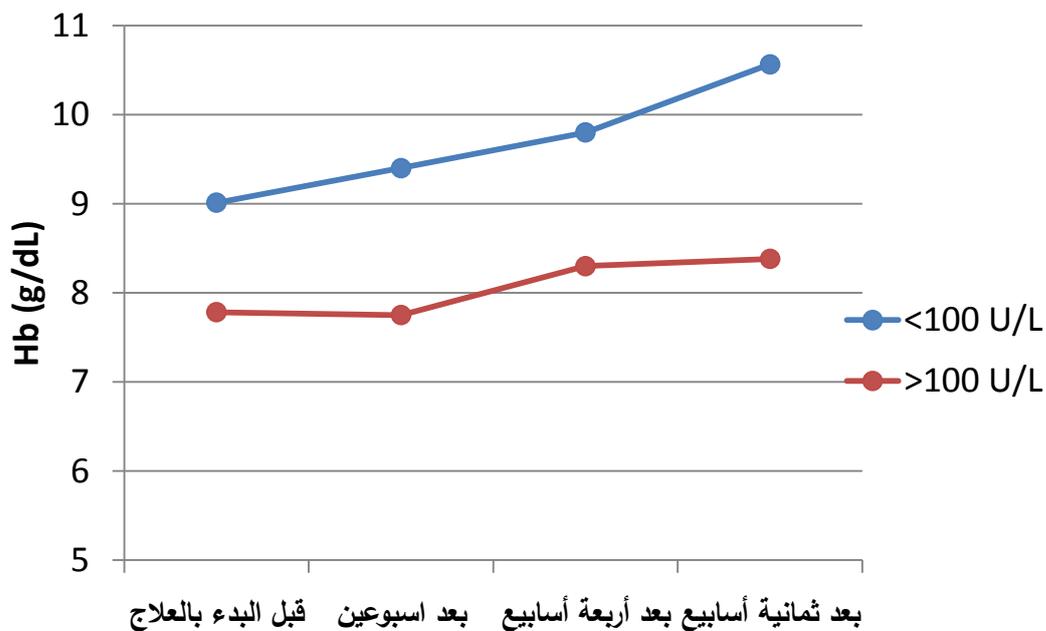
الجدول (4-6): العلاقة بين تركيز الإريثروبويتين قبل بدء العلاج والاستجابة.

P value	الاستجابة بعد 8 أسابيع				
	نعم	لا			
0.025	12	5	التكرار	<100 U/L	الإريثروبويتين
	70.59	29.41	النسبة المئوية		
	3	8	التكرار	>100 U/L	
	27.27	72.73	النسبة المئوية		



الشكل (5-6): العلاقة بين مستوى إريثروبويتين المصل قبل العلاج والاستجابة على علاج فقر الدم بالإريثروبويتين.

ويظهر الشكل (6-6) تطور مستوى الخضاب بحسب تركيز الإريثروبويتين قبل البدء بالعلاج، حيث لاحظنا أن تحسن مستوى الخضاب كان أكبر وأسرع عند وجود انخفاض في مستوى الإريثروبويتين (<100 U/L) في بداية المعالجة منه عند وجود ارتفاع في مستوى الإريثروبويتين (>100 U/L).



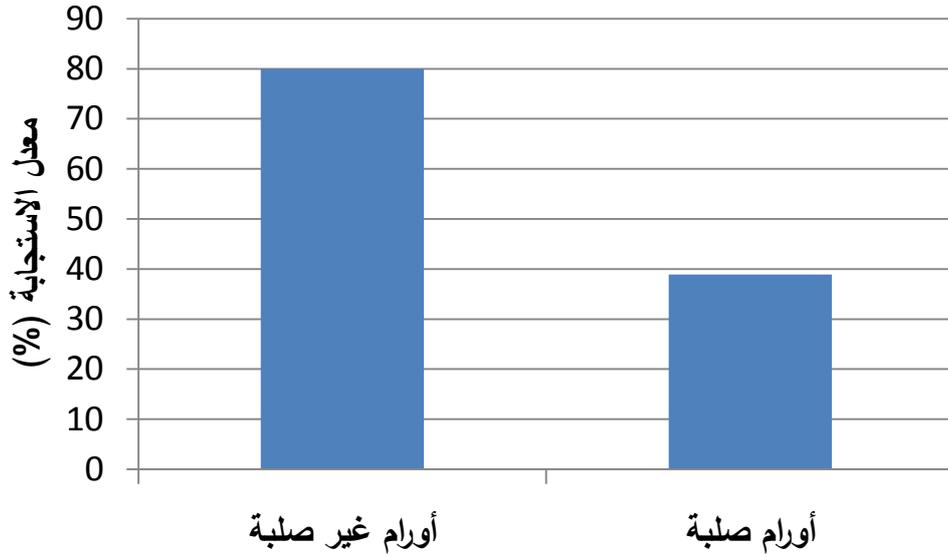
الشكل (6-6): تطور متوسط مستوى الخضاب بحسب تركيز الإريثروبويتين قبل البدء بالعلاج.

2.3.6 العلاقة بين نوع الورم والاستجابة:

كان معدل الاستجابة على العلاج أعلى عند المصابين بأورام غير صلبة (80%) منه عند المصابين بأورام صلبة (39% تقريباً) ، (Pvalue = 0.043).

الجدول (5-6): العلاقة بين نوع الورم والاستجابة.

P value	الاستجابة بعد 8 أسابيع				
	نعم	لا			
0.043	8	2	التكرار	أورام غير صلبة	نوع الورم
	80	20	النسبة المئوية		
	7	11	التكرار	أورام صلبة	
	38.89	61.11	النسبة المئوية		



الشكل (6-7): العلاقة بين نوع الورم والاستجابة على علاج فقر الدم بالإريثروبويتين.

3.3.6 العلاقة بين تعداد الشبكيات في الأسبوع الثاني والاستجابة:

كان متوسط تعداد الشبكيات بعد أسبوعين أعلى عند المرضى الذين استجابوا على المعالجة منه عند المرضى غير المستجيبين (104,427 شبكية مقابل 33,538) (P value = 0.0054).

الجدول (6-6): العلاقة بين تعداد الشبكيات في الأسبوع الثاني والاستجابة.

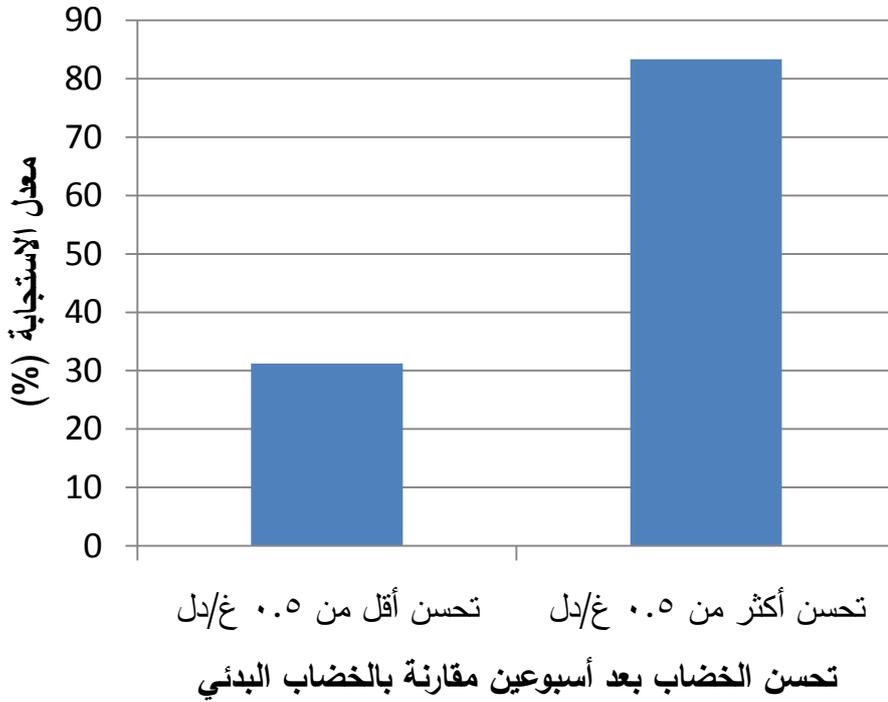
P value	الاستجابة بعد 8 أسابيع		المتوسط	بعد أسبوعين	الشبكيات
	نعم	لا			
0.0054	104,427	33,538			
	71,246	26,610	الانحراف المعياري		

4.3.6 العلاقة بين تركيز الخضاب في الأسبوع الثاني والاستجابة:

لاحظنا وجود علاقة هامة إحصائياً بين تركيز الخضاب في الأسبوع الثاني ومعدل الاستجابة على المعالجة، حيث كان معدل الاستجابة أعلى عند المرضى الذين تحسن مستوى الخضاب لديهم بعد أسبوعين من العلاج بمقدار أكبر من 0.5 g/dL نسبة للخضاب البدئي مقارنة مع المرضى الذين تحسن مستوى الخضاب لديهم بعد أسبوعين بمقدار أقل من 0.5 g/dL (83.33% مقابل 31.25%)، (P value = 0.006).

الجدول (6-7): العلاقة بين تركيز الخضاب في الأسبوع الثاني والاستجابة.

P value	الاستجابة بعد 8 أسابيع				
	نعم	لا			
0.006	5	11	التكرار	تحسن أقل من 0.5g/dL	الخضاب بعد 2 أسبوع
	31.25	68.75	النسبة المئوية		
	10	2	التكرار	تحسن أكبر من 0.5g/dL	
	83.33	16.67	النسبة المئوية		



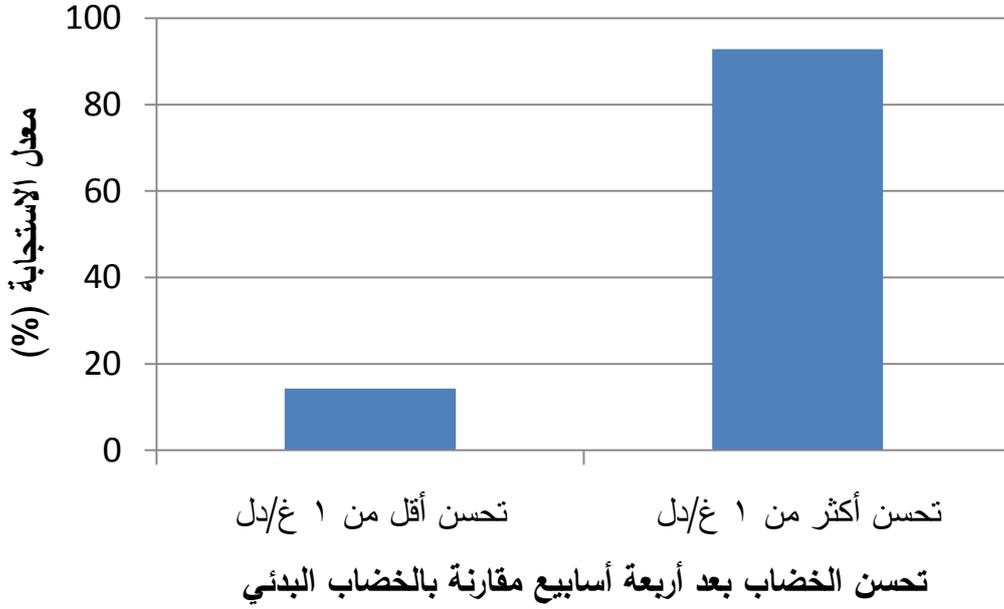
الشكل (6-8): العلاقة بين تحسن الخضاب بعد أسبوعين والاستجابة على علاج فقر الدم بالإريثروبويتين.

5.3.6 العلاقة بين تركيز الخضاب في الأسبوع الرابع والاستجابة:

كان معدل الاستجابة أعلى عند المرضى الذين تحسن مستوى الخضاب لديهم بعد 4 أسابيع بمقدار أكبر من 1 g/dL نسبة للخضاب البدئي مقارنة مع المرضى الذين كان تحسن مستوى الخضاب لديهم أقل من 1 g/dL (93% تقريباً مقابل 14%) ، (p value < 0.0001).

الجدول (8-6): العلاقة بين تركيز الخضاب في الأسبوع الرابع والاستجابة.

P value	الاستجابة بعد 8 أسابيع				
	نعم	لا			
<0.0001	2	12	التكرار	تحسن أقل من 1g/dL	الخضاب بعد 4 أسابيع
	14.29	85.71	النسبة المئوية		
	13	1	التكرار	تحسن أكبر من 1g/dL	
	92.86	7.14	النسبة المئوية		



الشكل (9-6): العلاقة بين تحسن الخضاب بعد أربعة أسابيع والاستجابة على علاج فقر الدم بالإريثروبويتين.

المناقشة:

تعد مركبات rHuEPO فعالة في علاج فقر الدم عند مرضى الأورام لكن بمعدلات استجابة متفاوتة، حيث تتراوح بين 50-70% [197].

تعرف الاستجابة بأنها ارتفاع تركيز الخضاب بمقدار أكبر من 2 g/dL خلال 8-12 أسبوع من العلاج أو وصول تركيز الخضاب إلى مستوى أكبر أو يساوي 12 g/dL [190].

بلغت نسبة الاستجابة في دراستنا على العلاج بال Epoetin حوالي 53%، أي أن نصف المرضى تقريباً لم يستفيدوا من العلاج، مما يبين أهمية تحديد المرضى المستجيبين وغير المستجيبين قبل العلاج أو على الأقل خلال المراحل الباكرة من العلاج.

وجدنا في دراستنا علاقة هامة إحصائياً بين تركيز الإريثروبويتين قبل العلاج والاستجابة، حيث كان معدل الاستجابة أعلى عند وجود انخفاض في مستوى الإريثروبويتين (<100 U/L) منه عند وجود ارتفاع في مستوى الإريثروبويتين (>100 U/L)، وتتوافق هذه النتيجة مع العديد من الدراسات منها دراسة Osterborg التي نشرت عام 2002 [198]، حيث بينت هذه الدراسة أن العلاج بالإريثروبويتين يؤدي إلى تراجع فقر الدم وتحسين نوعية الحياة وتخفيف الحاجة لنقل الدم عند المرضى الذين لديهم مستويات مصلية منخفضة من الإريثروبويتين، كذلك بين Beguin وزملاؤه في دراسة نشرت عام 2002 [199]، أن مستوى إريثروبويتين المصل > 100 mu/ml يعد مؤشراً على وجود إنتاج منخفض للإريثروبويتين وعاملاً تنبؤياً قوياً على حدوث الاستجابة.

بالمقابل أشارت بعض الدراسات مثل دراسة Tlman عام 2007 [190] إلى أن القيمة المصلية للإريثروبويتين قبل العلاج ليس لها فائدة تنبؤية بالاستجابة عند مرضى الأورام الصلبة، وذلك على العكس من مرضى الخباثات الدموية، حيث بينت عدة دراسات أن المستويات المصلية المنخفضة من الإريثروبويتين قبل العلاج عند مرضى الخباثات الدموية ترتبط مع معدلات استجابة عالية [185، 189].

وجدنا في دراستنا علاقة هامة إحصائياً بين نوع الورم والاستجابة، حيث كان معدل الاستجابة على العلاج أعلى عند المصابين بأورام غير صلبة (80%) منه عند المصابين بأورام صلبة (39%)، وتتوافق هذه النتيجة مع دراسة Ludwig عام 1993 [17] حيث قارنت هذه الدراسة بين استجابة مرضى سرطان الثدي والكلون (أورام صلبة) من جهة واستجابة مرضى الورم النقوي العديد (خباثات دموية) من جهة أخرى على العلاج بالإريثروبويتين، فكانت نسبة الاستجابة حوالي 40-44% بالنسبة لمرضى الأورام الصلبة مقابل 77.8% بالنسبة لمرضى الورم النقوي العديد.

بالمقابل بينت دراسات أخرى أن نوع الورم لا يؤثر على الاستجابة منها دراسة Demetri عام 1998 [15]، ودراسة Littlewood عام 2001 [8].

يمكن تفسير استجابة مرضى الأورام الصلبة على العلاج بشكل أقل مقارنة مع مرضى الخباثات الدموية بأن أغلب الخباثات الدموية في عينة الدراسة هي عبارة عن لمفوما هودجكينية ولاهودجكينية إضافة إلى الورم النقوي العديد، وهي تخضع لبروتوكول علاجي أقل شدة مقارنة مع الأورام الصلبة. إضافة إلى وجود عوامل أخرى مسببة لفقر الدم أكثر شيوعاً عند مرضى الأورام الصلبة مقارنة مع الخباثات الدموية كالدنف الشديد خاصة في أورام الرئة، فقر الدم الالتهابي، النزوف الهضمية.

وجدنا وفقاً لنتائج دراستنا أن ارتفاع تركيز الخضاب في الأسبوع الثاني بمقدار $0.5 \text{ g/dL} <$ يعد مؤشراً على حدوث الاستجابة، وقد أكدت العديد من الدراسات على أهمية هذه القيمة كعامل تنبؤي لحدوث الاستجابة منها دراسة Ludwig عام 1994، حيث بين أنه من المرجح عدم استجابة المرضى للعلاج إذا كان ارتفاع تركيز الخضاب بعد أسبوعين أقل من 0.5 g/dL [189].

لاحظنا في دراستنا أيضاً وجود علاقة هامة إحصائياً بين ارتفاع تعداد الشبكيات في الأسبوع الثاني وحدوث الاستجابة، حيث كان متوسط ارتفاع تعداد الشبكيات بعد أسبوعين أعلى عند المرضى الذين استجابوا على المعالجة منه عند المرضى غير المستجيبين ($104,427/\mu\text{L}$ مقابل $33,538/\mu\text{L}$)، وقد اهتمت العديد من الدراسات بتقييم دور التغيرات الباكرة في تعداد الشبكيات (خلال 2-4 أسابيع من العلاج) كعوامل تنبؤية بالاستجابة العلاجية، حيث بين Cazzola في دراسته التي نشرت عام 1996 [185] أن ارتفاع تعداد الشبكيات في الأسبوع الرابع بمقدار $40,000/\mu\text{L} \leq$ يعد مؤشراً قوياً على حدوث الاستجابة، بينما بينت دراسة Henry عام 1995 [200] على مرضى الخباثات غير النقوية غير الخاضعين للعلاج الكيماوي وجود معدلات استجابة مرتفعة عندما كان ارتفاع تركيز الخضاب بعد أسبوعين $0.5 \text{ g/dL} \leq$ وارتفاع تعداد الشبكيات بعد أسبوعين $40,000/\mu\text{L} \leq$ (نسبة الاستجابة 91%).

بينت دراستنا أيضاً أن ارتفاع تركيز الخضاب في الأسبوع الرابع بمقدار $1 \text{ g/dL} <$ يعد عاملاً تنبؤياً هاماً بالاستجابة العلاجية، وتتوافق هذه النتيجة مع دراسة Tilman عام 2007 [190] والتي بين فيها أن ارتفاع تركيز الخضاب بعد 4 أسابيع بمقدار أكبر من 1 g/dL هو العامل التنبؤي الأهم بالاستجابة العلاجية، وقد أكدت العديد من الدراسات السابقة على أهمية القيمة التنبؤية لخضاب الأسبوع الرابع منها دراسة Gonzalez عام 2002 [193] ودراسة Henry عام 1995 [200] حيث بينت هذه الدراسة أن معدل الاستجابة عند المرضى الخاضعين للعلاج الكيماوي كان أعلى مايمكن عندما كان ارتفاع تركيز الخضاب في الأسبوع الرابع $1 \text{ g/dL} \leq$ ، وارتفاع الشبكيات في الأسبوع الرابع $40,000/\mu\text{L} \leq$ (نسبة الاستجابة 84%).

بالمقابل لم نلاحظ في دراستنا وجود علاقة هامة إحصائياً بين تركيز الخضاب البدئي وحدوث الاستجابة، على الرغم من أننا قد وجدنا في دراستنا علاقة بين تركيز الخضاب البدئي وقيمة الإريثروبويتين البدئية من جهة، وبين قيمة الإريثروبويتين البدئية وحدوث الاستجابة من جهة أخرى، مما يدل أن تسارع تحسن الخضاب مع الزمن هو المقياس لحدوث الاستجابة بغض النظر عن تركيز الخضاب البدئي. الأمر الذي

يقودنا أيضاً إلى أن تركيز الإريثروبويتين البدئي ليس العامل الوحيد الذي يؤثر على حدوث الاستجابة بل هناك مجموعة من العوامل الأخرى التي تساعد على التنبؤ بالاستجابة العلاجية وذلك بالتكافل مع تركيز الإريثروبويتين البدئي. وقد توصلت بعض الدراسات السابقة إلى نتيجة مشابهة لنتيجة دراستنا منها دراسة Demetri عام 1998، حيث بينت هذه الدراسة عدم وجود علاقة بين تركيز الخضاب البدئي وحدث الاستجابة [15].

قمنا أيضاً في هذه الدراسة بمقارنة الاستجابة بين المرضى المعالجين بالبلاطين أو الدوناتاكسيل (مركبات ذات سمية عالية) والمرضى غير المعالجين بهذه المركبات، فلم نلاحظ وجود اختلاف هام إحصائياً بين هاتين المجموعتين من المرضى. و تتوافق هذه النتيجة مع دراسة Ludwig عام 1998 حيث بينت هذه الدراسة أن نوع العلاج الكيماوي لا يؤثر على حدوث الاستجابة على العلاج بمركبات rHuEPO [110]. لم نجد في دراستنا أيضاً علاقة هامة إحصائياً بين مستوى الفيريتين في الأسبوع الثاني من جهة، والاستجابة على العلاج من جهة ثانية، بينما بينت دراسات أخرى كدراسة Ludwig عام 1994 [189] ودراسة Littlewood عام [187] 2003 أنه من المحتمل عدم استجابة المرضى على العلاج إذا كان فيريتين المصل قبل العلاج أو في الأسبوع الثاني من العلاج $\leq 400 \text{ ng/ml}$. إلا أننا وجدنا في دراستنا أن متوسط فيريتين المصل عند المرضى غير المستجيبين أعلى بضعفين مقارنة مع المستجيبين (622 ng/ml مقابل 308 ng/ml) وهذا يشير إلى وجود حالة التهابية أشد عند غير المستجيبين مما قد يفسر عدم استجابتهم على العلاج بالإريثروبويتين، لكن لم يشاهد فارق ذو دلالة إحصائية قد يعود ذلك إلى قلة عدد العينات.

الاستنتاجات:

- ❖ لا يستجيب جميع مرضى الأورام ممن لديهم فقر دم على العلاج بالإريتروبويتين، حيث بلغ معدل الاستجابة في دراستنا 53%، أي أن حوالي نصف المرضى المعالجين لم يستفيدوا من العلاج.
- ❖ يزداد احتمال الاستجابة على العلاج عند المرضى ذوي المستويات المصلية المنخفضة من الإريتروبويتين (تركيز الإريتروبويتين $> 100 \text{ U/L}$)، مما يشير إلى أهمية هذه القيمة كعامل تنبؤي بحدوث الاستجابة.
- ❖ يستجيب مرضى الخباثات الدموية على العلاج بالإريتروبويتين بشكل أكبر مقارنة مع مرضى الأورام الصلبة.
- ❖ تعد التغيرات الباكزة في الخضاب والشبكيات (خلال 2-4 أسابيع من العلاج) من المشعرات الهامة لحدوث الاستجابة.
- ❖ لا توجد علاقة بين كل من العمر، الجنس، تركيز الخضاب البدئي، نوع العلاج الكيماوي، مستوى الفيريتين في الأسبوع الثاني، وحدوث الاستجابة على العلاج بالإريتروبويتين.

المقترحات والتوصيات:

- ❖ قياس مستوى إريتروبويتين المصل قبل البدء بإعطاء مركبات الإريتروبويتين لعلاج فقر الدم عند مرضى الأورام، وذلك بهدف الحد من الإعطاء العشوائي للإريتروبويتين وبالتالي تخفيف التكلفة الاقتصادية على المريض أو الجهة المتكفلة بالعلاج.
- ❖ التوجه بالعلاج بالإريتروبويتين إلى مرضى الخباثات الدموية ذوي المستويات المصلية المنخفضة من الإريتروبويتين ($> 100 \text{ U/L}$).
- ❖ متابعة العلاج بالإريتروبويتين عند وجود تحسن في مستوى الخضاب والشبكيات خلال الأسابيع الأولى من العلاج (\uparrow الشبكيات $< 40,000/\mu\text{L}$ و $\uparrow \text{Hb} < 0.5 \text{ g/dL}$ في الأسبوع الثاني) ($\uparrow \text{Hb} < 1 \text{ g/dL}$ في الأسبوع الرابع)، وإيقاف العلاج عند المرضى ممن لم تحقق لديهم المعايير السابقة.
- ❖ متابعة الدراسات بهدف البحث عن وجود مشعرات أخرى أكثر حساسية ونوعية للتنبؤ بالاستجابة العلاجية، ودراسة تأثير النمط النسيجي على حدوث الاستجابة.

المراجع:

1. Khayat D. *Is anemia a problem for European cancer patients and treating oncologists?* Semin Oncol 2000;27(suppl 4):9–11; discussion 16–17.
2. Barrett-Lee PJ, Bailey NP, O'Brien ME et al. *Large-scale UK audit of blood transfusion requirements and anaemia in patients receiving cytotoxic chemotherapy.* Br J Cancer 2000;82:93–97.
3. Ashbury FD, Findlay H, Reynolds B et al. *A Canadian survey of cancer patients' experiences: Are their needs being met?.* J Pain Symptom Manage 1998;16:298–306.
4. Cella D. *The Functional Assessment of Cancer Therapy-Anemia (FACTAn) Scale: A new tool for the assessment of outcomes in cancer anemia and fatigue.* Semin Hematol 1997;34(suppl 2):13–19.
5. Fein DA, Lee WR, Hanlon AL et al. *Pretreatment hemoglobin level influences local control and survival of T1–T2 squamous cell carcinomas of the glottic larynx.* J Clin Oncol 1995;13:2077–2083.
6. Dubray B, Mosseri V, Brunin F et al. *Anemia is associated with lower local/regional control and survival after radiation therapy for head and neck cancer: A prospective study.* Radiology 1996;201:553–558.
7. Waters JS, O'Brien ME, Ashley S. *Management of anemia in patients receiving chemotherapy.* J Clin Oncol 2002;20:601–603.
8. Littlewood TJ, Bajetta E, Nortier JW et al. *Effects of epoetin alfa on hematologic parameters and quality of life in cancer patients receiving nonplatinum chemotherapy: Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial.* J Clin Oncol 2001;19:2865–2874.
9. Glaser CM, Millesi W, Kornek GV et al. *Impact of hemoglobin level and use of recombinant erythropoietin on efficacy of preoperative chemoradiation therapy for squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 2001;50:705–715.
10. NCCN (National Comprehensive Cancer Network) *Clinical Practice Guidelines in Oncology: Cancer and chemotherapy-induced anemia.* V3, 2009.
11. Heiss MM, Mempel W, Delanoff C et al. *Blood transfusion-modulated tumor recurrence: First results of a randomized study of autologous versus allogeneic blood transfusion in colorectal cancer surgery.* J Clin Oncol 1994;12:1859–1867.
12. Jensen LS, Kissmeyer-Nielsen P, Wolff B et al. *Randomised comparison of leucocyte-depleted versus buffy-coat-poor blood transfusion and complications after colorectal surgery.* Lancet 1996;348:841–845.
13. Beguin Y. *A risk-benefit assessment of epoetin in the management of anemia associated with cancer.* Drug Saf 1998;19:269–282.

14. Glaspy J, Bukowski R, Steinberg D et al. *Impact of therapy with epoetin alfa on clinical outcomes in patients with nonmyeloid malignancies during cancer chemotherapy in community oncology practice.* J Clin Oncol 1997;15:1218-1234.
15. Demetri GD, Kris M, Wade J et al. *Quality-of-life benefit in chemotherapy patients treated with epoetin alfa is independent of disease response or tumor type: results from a prospective community oncology study.* J Clin Oncol 1998;16:3412-3425.
16. Barlogie B, Beck JT. *Recombinant human erythropoietin and the anemia of multiple myeloma.* STEM CELLS 1993;11:88-94.
17. Ludwig H, Fritz E, Leitgeb C et al. *Erythropoietin treatment for chronic anemia of selected hematological malignancies and solid tumours.* Ann Oncol 1993;4:161-167.
18. Hellstrom-Lindberg E, Ahlgren T, Beguin Y et al. *Treatment of anemia in myelodysplastic syndromes with granulocyte colony-stimulating factor plus erythropoietin: results from a randomized phase II study and long-term follow-up of 71 patients.* Blood 1998;92:68-75.
19. Thatcher N. *Predicting the response to r-HuEPO in anaemic cancer patients undergoing chemotherapy.* Erythropoiesis: new dimensions in the treatment of anaemia 1995;6:99-106.
20. Henry DH, Glaspy J. *Predicting response to epoetin alfa in anemic cancer patients receiving chemorx.* Proc Am Soc Clin Oncol 1997;16:49a.
21. Spivak I. *Cancer-related anemia: its causes and characteristics.* Semin Oncol. 1994;21(suppl 3):3-8.
22. Bron D, Meuleman N, Mascaux C. *Biological basis of anemia.* Semin Oncol. 2001; 28 (suppl 8):1-6.
23. Adamson JW. *Erythropoietin: its role in the regulation of erythropoiesis and as therapeutic in humans.* In: Goldstein J, ed. *Biotechnology of blood.* Stoneham, Mass: Butterworth-Heinemann; 1991.
24. Spivak I. *The biology and clinical applications of recombinant erythropoietin.* Semin Oncol. 1998; 25(suppl 7): 7-11.
25. Adamson JW. *Regulation of red blood cell production.* Am J Med. 1996;101(suppl):4S-6S.
26. A.J. Erslev, J. Caro, O. Miller, R. Silver. *Plasma erythropoietin in health and disease.* Ann. Clin. Lab. Sci. 10 (1980) 250-257.
27. Conrad KP, Benyo DF, Westerhausen-Larsen A, Miles TM. *Expression of erythropoietin by the human placenta.* FASEB J. 1996;10:760-768.
28. Zhang F, Laneville P, Gagnon RF, Morin B, Brox AG. *Effect of chronic renal failure on the expression of erythropoietin message in a murine model.* Exp Hematol. 1996;24:1469-1474.
29. Burk JR, Lertora JJ, Martinez Jr IR, Fisher JW. *Renal cell carcinoma with erythrocytosis and elevated erythropoietic stimulatory activity.* South Med J. 1977;70:955-958.

30. A Victor Hoffbrand; Daniel Catovsky; Edward GD Tuddenham; Anthony R Green. *Postgraduate Haematology*. Sixth edition.(2011) . A John Wiley & Sons, Ltd., Publication.
31. H Youssoufian, G Longmore, D Neumann, A Yoshimura and HF Lodish. *Structure, function, and activation of the erythropoietin receptor*. *Blood*, Vol81, No 9 (May 1) , 1993; p 2223-2236.
32. Broudy VC, Lin N, Brice M, Nakamoto B, Papayannopoulou T. *Erythropoietin receptor characteristics on primary human erythroid cells*. *Blood*. 1991;15:2583–2590.
33. Koury MJ, Bondurant MC: *Maintenance by erythropoietin of viability and maturation of murine erythroid precursor cells*. *J Cell Physiol* 137:65, 1988.
34. Weiss MJ. *New Insights into erythropoietin and epoetin alfa: Mechanisms of action, target, tissues, and clinical applications*. *Oncologist* 2003;8(Suppl. 3):18–29.
35. Jaquet K, Krause K, Tawakol-Khodai M, et al. *Erythropoietin and VEGF exhibit equal angiogenic potential*. *Microvasc Res* 2002;64:326–333.
36. Ribatti D, Presta M, Vacca A, et al. *Human erythropoietin induces a pro-angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization in vivo*. *Blood* 1999;93:2627–2636.
37. Westenfelder C, Biddle DL, Baranowski RL. *Human, rat, and mouse kidney cells express functional erythropoietin receptors*. *Kidney Int* 1999;55:808–820.
38. Feldman L, Wang Y, Rhim JS, et al. *Human prostate epithelial and prostate cancer cells express both erythropoietin and functional erythropoietin receptors*. *Proc Am Soc Hematol* 2002; 100:171b.
39. Buemi M, Cavallaro E, Floccari F, et al. *The pleiotropic effects of erythropoietin in the central nervous system*. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003;62:228–236.
40. Senzer N. *Rationale for a phase III study of erythropoietin as a neurocognitive protectant in patients with lung cancer receiving prophylactic cranial irradiation*. *Semin Oncol* 2002; 29(Suppl. 6):47–52.
41. Ehrenreich, H, Hasselblatt, M, Dembowski, C, et al. (2002) *Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial*. *Molecular Medicine*, 8, 495–505
42. Lipsic, E, Schoemaker, R.G, Van Der Meer, P, et al. (2006) *Protective effects of erythropoietin in cardiac ischemia: from bench to bedside*. *Journal of the American College of Cardiology*, 48, 2161–2167.
43. McCaffrey PJ, Fraser JK, Lin FK, Berridge MV. *Subunit structure of the erythropoietin receptor*. *J Biol Chem*. 1989;264:10507–10512.
44. Witthuhn BA, Quelle FW, Silvennoinen O, et al. *JAK2 associates with the erythropoietin receptor and is tyrosine phosphorylated and activated following EPO stimulation*. *Cell*. 1993;74:227–236.

45. Miura O, Nakamura N, Quelle FW, Witthuhn BA, Ihle JN, Aoki N. *Erythropoietin induces association of the JAK2 protein tyrosine kinase with the erythropoietin receptor in vitro*. Blood. 1994;84:1501–1507.
46. Kilbridge T, Fried W. *Response of mice with decreased number of hematopoietic stem cells to doses of erythropoietin*. J Lab Clin Med. 1968;72:85–92.
47. Fried W, Plzak LF, Jacobson LO, Goldwasser E. *Studies on erythropoiesis III. Factors controlling erythropoietin production*. Proc Soc Exp Biol Med. 1957;94:241–243.
48. Goldberg MA, Dunning SP, Bunn HF. *Regulation of the erythropoietin gene: evidence that the oxygen sensor is a heme protein*. Science. 1988;242:1412–1415.
49. Ward HP, Kurnick JE, Pisarczyk MJ. *Serum erythropoietin in anemias associated with chronic infection, malignancy, and primary hematopoietic disease*. J Clin Invest. 1971;50:332–335.
50. Erslev AJ, Wilson J, Caro J. *Erythropoietin in anemic non-uremic patients*. J Lab Clin Med. 1987;109:429–433.
51. Jelkmann W, Weidmann G. *Serum erythropoietin level: relationship to blood hemoglobin concentration and erythrocytic activity of the bone marrow*. J Mol Biol. 1990;68:403–407.
52. Your guide to anemia. NIH Publication No. 11-7629 September 2011.
53. Assessing the iron status of populations: report of a joint World Health Organization/ Centers for Disease Control and Prevention technical consultation on the assessment of iron status at the population level, 2nd ed., Geneva, World Health Organization, 2007.
54. WHO. Iron Deficiency Anemia. Assessment, Prevention, and Control. A Guide for Programme Managers. 2001.
55. Beris P, Tobler A. *Differential diagnosis of anemia*. Schweiz Rundsch Med Prax 1997; 86:1684-1686.
56. Means RT Jr. *Hepcidin and anaemia*. Blood Rev 2004; 18: 219-225.
57. Adamson JW. *The anemia of inflammation/malignancy : mechanisms and management*. Hematology 2008;159-165.
58. Birgegard G, Aapro MS, Bokemeyer C et al. *Cancer- Related Anemia : Pathogenesis , Prevalence and Treatment*. Oncology 2005;68(suppl 1)3-11 .
59. Grotto HZW. *Anemia of Cancer: an overview of the mechanisms involved in its pathogenesis*. Med Oncol 2008;25:12-21.
60. Weiss G and Goodnough LT. *Anemia of chronic disease*. N ENGL J Med 2005; 352:1011-1023.
61. Spivak JL. *Anemia and erythropoiesis in cancer*. Adv Stud Med 2002;2:212–9.

62. Morgan EH, Oates PS. *Mechanisms and regulation of intestinal iron absorption*. Blood Cells Mol Dis. 2002;29:384–399.
63. Abboud S, Haile DJ. *A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism*. J Biol Chem. 2000;275: 19906–19912.
64. Donovan A, Lima CA, Pincus JL, et al. *The iron exporter ferroportin/Sic40a1 is essential for iron homeostasis*. Cell Metab. 2005;1:191–200.
65. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. *Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide, synthesized in the liver*. J Biol Chem. 2001; 276:7806–7810.
66. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, et al. *Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization*. Science. 2004;306:2090–2093.
67. Ganz T. *Molecular control of iron transport*. J Am Soc Nephrol. 2007; 18:394–400.
68. Schade SG, Fried W. *The utilization of senescent re cell and hemolysate iron for erythropoiesis*. Proc Soc Exp Biol Med. 1976; 151:78–83.
69. WWW.Cancer.net
70. Ferrell BR, Grant M, Dean GE, Funk B, Ly J. “Bone tired”: *the experience of fatigue and its impact on quality of life*. Oncol Nurs Forum 1996;23:1539–47.
71. Irvine D, Vincent L, Graydon JE, Bubela N, Thompson L. *The prevalence and correlates of fatigue in patients receiving treatment with chemotherapy and radiotherapy. A comparison with the fatigue experienced by healthy individuals*. Cancer Nurs 1994;17:367–78.
72. Langer C, Barsevick A, Bruner D, Grindel C, Leighton J, Luckscheiter C, et al. *Correlation of quality of life (QOL) with survival, treatment response, and anemia in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with carboplatin and paclitaxel [abstract]*. Lung Cancer 1997;18:23.
73. Stasi R, Amadori S, Littlewood TJ, et al.: *Management of cancer-related anemia with erythropoietic agents: doubts, certainties, and concerns*. Oncologist 2005;10:539–554.
74. Harrison LB, Shasha D, White C, Ramdeen B. *Radiotherapy-associated anemia: The scope of the problem*. Oncologist 2000;5:1–7.
75. Asbell SO, Leon SA, Tester WJ, et al. *Development of anemia and recovery in prostate cancer patients treated with combined androgen blockade and radiotherapy*. Prostate 1996;29:243–248.
76. Biron P, Sebban C, Gourmet R, Chvetzoff G, Philip I, Blay JY. *Research controversies in management of oral mucositis*. Support Care Cancer 2000;8:68-71.
77. Sonis ST. *Mucositis as a biological process: A new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity*. Oral Oncol 1998;34:39-43.

78. Adamietz IA, Rahn R, Böttcher HD, Schäfer V, Reimer K, Fleischer W. *Prophylaxis with povidone-iodine against induction of oral mucositis by radiochemotherapy*. Support Care Cancer 1998;6:373-7.
79. Tishdale MJ (2004). *Cancer Cachexia*. Langenbecks Arch Surg, 389, 299-305.
80. Inui A (2002). *Cancer anorexia-cachexia syndrome*. Current issues in research and management. CA Cancer J Clin, 52,72-91.
81. Wheeler MT, Snyder EC, Patterson MN, et al (1999). *An E-box within the MHC IIB gene is bound by MyoD and is required for gene expression in fast muscle*. Am J Physiol, 276, 1069-78.
82. Mantovani G, Mededdu C, Maccio A, et al. *Cancer related anorexia/cachexia syndrome and oxidative stress: an innovative approach beyond current treatment*. Cancer Epidermiol Biomarkers Prev 2004;13:1651–1659.
83. Ravasco P, Monteiro-Grillo I, Camilo ME. *Does nutrition influence quality of life in cancer patients undergoing radiotherapy?* Radiother Oncol 2003;67:213–220.
84. Kim HL, Han K, Zisman A, Figlin RA, Beldegrun AS. *Cachexia-like symptoms predict a worse prognosis in localized T1 renal cell carcinoma*. J Urol 2004;171:1810–1813.
85. Andreyev HJ, Norman AR, Oates J, Cunningham D. *Why do patients with weight loss have a worse outcome when undergoing chemotherapy for gastrointestinal malignancies?* Eur J Cancer 1998;34:503–509.
86. Dewys WD. *Weight loss and nutritional abnormalities in cancer patient: incidence, severity, and significance*. In: Calmar KC, Fearon KCH, editors. Nutritional support for the cancer patient. London: WB Saunders. p 251–261.
87. Kepczyk T & Kadakia SC. *Prospective evaluation of gastrointestinal tract in patients with iron-deficiency anemia*. Dig Dis Sci 1995;40:1283–1289.
88. Rockey DC & Cello JP. *Evaluation of the gastro-intestinal tract in patients with iron-deficiency anemia*. N Engl J Med 1993;329:1691–1695.
89. Cook, IJ, Pavli P, Riley JW, Goulston KJ & Dent OF. *Gastrointestinal investigation of iron deficiency anaemia*. BMJ 1986;292:1380–1382.
90. Zuckerman G & Benitez J. *A prospective study of bidirectional endoscopy (colonoscopy and upper endoscopy) in the evaluation of patients with occult gastrointestinal bleeding*. Am J Gastroenterol 1992;87:62–66.
91. Hardwick RH & Armstrong CP. *Synchronous upper and lower gastrointestinal endoscopy is an effective method of investigating iron-deficiency anaemia*. Br J Surg 1997;84:1725–1728.
92. Goddard AF, McIntyre As, Scott BB. *Guidelines for the management of iron deficiency anemia*. Gut 2000; 46: (iv)1-5.

93. Ioannou GN, Rockey DC, Bryson CL, Weiss NS. *Iron deficiency and gastrointestinal malignancy: a population-based cohort study*. Am J Med 2002;113:276–80.
94. Tan YM, Rosmawati M, Ranjeev P, Goh KL. *Predictive factors by multivariate analysis for colorectal cancer in Malaysian patients undergoing colonoscopy*. J Gastroenterol Hepatol 2002;97:590–3.
95. Sworzak K, Siekierska-Hellmann M, Drobinska A, Sledzinski Z, Markuszewski M. *Iron deficiency anemia as the sole symptom of small intestine carcinoma*. Med Sci Monit 2001;7:457–60.
96. Kroll MH, Jiji V, Jiji R. *Microcytic hypochromic anaemia associated with renal cell carcinoma*. South Med J 1984;77:635–7.
97. Eaton WW, Rose NR, Kalaydjian A, Pedersen MG, Mortensen PB. *Epidemiology of autoimmune diseases in Denmark*. J Autoimmun 2007;29:1–9.
98. Cavalli F. *Rare syndromes in Hodgkin disease*. Ann Oncol 1998;9(suppl 5):S109–S113.
99. Montserrat E, Bosch F, Rozman C. *B-cell chronic lymphocytic leukemia: recent progress in biology, diagnosis, and therapy*. Ann Oncol. 1997;8(suppl 1):93-101.
100. Sthoeger ZM, Sthoeger D, Shtalrid M, et al. *Mechanism of autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia*. Am J Hematol. 1993;43:259-264.
101. Diraimondo F, Giustolisi R, Cacciola E, et al. *Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia patients treated with fludarabine*. Leuk Lymphoma. 1993;11:63-68.
102. Xiros N, Binder T, Anger B, Böhlke J, Heimpel H. *Idiopathic thrombocytopenic purpura and autoimmune hemolytic anemia in Hodgkin's disease*. Eur J Haematol 1988;40:437–441.
103. May RB, Bryan JH. *Autoimmune hemolytic anemia and Hodgkin disease*. J Pediatr 1976;89:428–429.
104. Rudders RA, Aisenberg AC, Schiller AL. *Hodgkin's disease presenting as "idiopathic" thrombocytopenic purpura*. Cancer 1972;30:220–230.
105. Paydas S. *Fludarabine-induced hemolytic anemia: successful treatment by rituximab*. Hematol J 2004;5:81–83.
106. Ekström Smedby K, Vajdic CM, Falster M, et al. *Autoimmune disorders and risk of non-Hodgkin lymphoma subtypes: a pooled analysis within the InterLymph Consortium*. Blood 2008;111:4029–4038.
107. Sallah S, Wan JY, Hanrahan LR. *Future development of lymphoproliferative disorders in patients with autoimmune hemolytic anemia*. Clin Cancer Res 2001;7:791–794.
108. Shah SJ, Warriar RP, Ode DL, Lele HE, Yu LC. *Immune thrombocytopenia and hemolytic anemia associated with Hodgkin disease*. J Pediatr Hematol Oncol 1996;18:227–229.

109. Groopman JE, Itri LM. *Chemotherapy-induced anemia in adults: incidence and treatment*. J Natl Cancer Inst 1999; 91:1616–34.
110. Ludwig H, Fritz E. *Anemia in cancer patients*. Semin Oncol 1998; 25:2-6.
111. Demetri GD. *Anemia and its functional consequences in cancer patients: Current challenges in management and prospects for improving therapy*. Br J Cancer 2001;84(Suppl. 1): 31–37.
112. Reed WR, Hussey DH, DeGowin RL. *Implications of the anemia of chronic disorders in patients anticipating radiotherapy*. Am J Med Sci.1994;308:9-15.
113. Nowrousian MR. *Recombinant human erythropoietin in the treatment of cancer-related or chemotherapy-induced anemia in patients with solid tumors*. Med Oncol 1998;15(Suppl. 1):S19–28.
114. Okamoto H, Saijo N, Shinkai T, Eguchi K, Sasaki Y, Tamura T, et al. *Chemotherapy-induced anemia in patients with primary lung cancer*. Ann Oncol 1992;3:819–24.
115. Postmus PE, Giaccone G, Debruyne C, Sahmoud T, Splinter TA, van Zandwijk N. *Results of the phase II EORTC study comparing paclitaxel/cisplatin with teniposide/cisplatin in patients with non-small cell lung cancer*. EORTC Lung Cancer Cooperative Group. Semin Oncol 1996;23(suppl 12):10–3.
116. Ranson MR, Jayson G, Perkins S, Anderson H, Thatcher N. *Single-agent paclitaxel in advanced non-small cell lung cancer: single-center phase II study using a 3-hour administration schedule*. Semin Oncol 1997;24(suppl 12):S12-6–S12-9.
117. Millward MJ, Bishop JF, Friedlander M, Levi JA, Goldstein D, Olver IN, et al. *Phase II trial of a 3-hour infusion of paclitaxel in previously untreated patients with advanced non-small-cell lung cancer*. J Clin Oncol 1996;14:142–8.
118. Murphy WK, Fossella FV, Winn RJ, Shin DM, Hynes HE, Gross HM, et al. *Phase II study of Taxol in patients with untreated advanced non-smallcell lung cancer*. J Natl Cancer Inst 1993;85:384–8.
119. Vokes EE, Rosenberg RK, Jahanzeb M, Craig JB, Gralla RJ, Belani CP, et al. *Multicenter phase II study of weekly oral vinorelbine for stage IV non-small-cell lung cancer*. J Clin Oncol 1995;13:637–44.
120. Anía BJ, Suman VJ, Fairbanks VF, Rademacher DM, Melton JL. *Incidence of anemia in older people: an epidemiologic study in a well defined population*. J Am Geriatr Soc 1997; 45:825–831.
121. Joosten E, Pelemans W, Hiele M. *Prevalence and causes of anemia in a geriatric hospitalised population*. Gerontology 1992; 38: 111-7.
122. Makipour S, Kanapuru B, Ershler WB. *Unexplained anemia in the elderly*. Semin Hematol 2008;45:250-4.

123. R.J. Hartsock, E.B. Smith, C.S. Petty. *Normal variations with aging of the amount of hematopoietic tissue in bone marrow from the anterior iliac crest. A study made from 177 cases of sudden death examined by necropsy*. Am. J. Clin. Pathol. 43 (1965) 326–331.
124. J. Justesen, K. Stenderup, E.N. Ebbesen, et al. *Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis*. Biogerontology 2 (2001) 165–171.
125. Duthie et al. in Balducci L; Lyman GH; Ershler WB; Extermann M: *Comprehensive Geriatric Oncology* 2nd edition, Taylor & Francis, London, 2004.
126. W.B. Ershler, S. Sheng, J. McKelvey, et al. *Serum erythropoietin and aging: a longitudinal analysis*. J. Am. Geriatr. Soc. 53 (2005) 1360–1365.
127. O.A. Mojiminiyi, N.A. Abdella, M.Y. Zaki, et al. *Prevalence and associations of low plasma erythropoietin in patients with Type 2 diabetes mellitus*. Diabet. Med. 23 (2006) 839–844.
128. L. Ferrucci, M. Maggio, S. Bandinelli, et al. *Low testosterone levels and the risk of anemia in older men and women*. Arch. Intern. Med. 166 (2006) 1380–1388.
129. E. Corpas, S.M. Harman, M.R. Blackman. *Human growth hormone and human aging*. Endocr. Rev. 14 (1993) 20–39.
130. K. Muta, S.B. Krantz. *Apoptosis of human erythroid colony-forming cells is decreased by stem cell factor and insulin-like growth factor I as well as erythropoietin*. J. Cell. Physiol. 156 (1993) 264–271.
131. Smith R. *Applications of darbepoietin alfa, a novel erythropoiesis-stimulating protein, in oncology*. Curr Opin Hematol. 2002;9:228-233.
132. Caro JJ, Salas M, Ward A, Goss G. *Anemia as an independent prognostic factor for survival in patients with cancer: a systemic quantitative review*. Cancer. 2001;91:2214-2221.
133. Extermann M, Chen A, Cantor AB, Corcoran MB, Meyer J, Grendys E, Cavanaugh D, Antonek S, Camarata A, Haley WE, Balducci L: *Predictors of tolerance from chemotherapy in older patients: a prospective pilot study*. Eur J Cancer 2002;38(11): 1466–1473.
134. Schrijvers D, Highley M, DeBruyn E, Van Oosterom AT, Vermorken JB: *Role of red blood cell in pharmacokinetics of chemotherapeutic agents*. Anticancer Drugs 1999;10:147–
135. Van Belle SJ, Cocquyt V. *Impact of hemoglobin levels on the outcome of cancer treated with chemotherapy*. Crit Rev Oncol hematol 2003;47:1–11.
136. Grant DG, Hussain A, Hurman D. *Pretreatment anemia alters outcome in early squamous cell carcinoma of the larynx treated by radical radiotherapy*. J Laryngol Otol 1999;113:829–33.
137. Vaupel P, Thews O, Hockel M. *Treatment resistance of solid tumors*. Med Oncol 2001;18:243–59.
138. Green SL, Giaccia AJ. *Tumor hypoxia and the cell cycle: Implications for malignant progression and response to therapy*. Cancer J Sci Am 1998;4:218 –223.

139. Shasha D. *The negative impact of anemia on radiotherapy and chemoradiation outcomes*. Semin Hematol 2001; 38 (3 Suppl. 7): 8-15.
140. Palcic B, Skarsgard LD. *Reduced oxygen enhancement ratio at low doses of ionizing radiation*. Radiat Res 1984;100:328–339.
141. Vamvakas EC, Blajchman MA. *Transfusion-related mortality : the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention*. Blood 2009;113:3406-3417.
142. Storrington PL, Tiplady RJ, Gaines Das RE, Stenning BE, Lamikanra A, Rafferty B. *Epoetin alfa and beta differ in their erythropoietin isoform compositions and biological properties*. Br J Haematol 1998;100:79-89.
143. Heatherington AC, Schuller J, Mercer AJ. *Pharmacokinetics of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP) in cancer patients : preliminary report*. Br J Cancer 2001;84(suppl 1):11- 6.
144. Osterborg A. *New erythropoietic proteins: rationale and clinical data*. Semin Oncol 2004;31(3 Suppl 8):12–18.
145. Canon JL, Vansteenkiste J, Bodoky G, et al.: *Final results of a randomized, double-blind, active-controlled trial of darbepoetin alfa administered once every 3 weeks (Q#W) for the treatment of anemia in patients receiving multicycle chemotherapy*. Am Soc Clin Oncol Proc. 2005;23:16S LBA8284.
146. McDougall JC: *CERA (Continuous Erythropoietin Receptor Activator): a new erythropoiesis stimulating agent for the treatment of anemia*. Curr Hematol Rep 2005;4:436–440.
147. Stead RG, Lambert J, Wessels D, et al.: *Evaluation of the safety and pharmacodynamics of Hematide, a novel erythropoietic agent, in a phase 1, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study in healthy volunteers*. Blood 2006;108(6):1830–1834.
148. Means RT Jr. *Erythropoietin in the treatment of anemia in chronic infectious, inflammatory and malignant diseases*. Curr Opin Hematol.1995;2:210–213.
149. Mundle S, Lefebvre P, Vekeman F, Duh MS, Rastogi R, Moyo V. *An assessment of erythroid response to epoetin alpha as a single agent versus in combination with granulocyte or granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in myelodysplastic syndromes using a meta-analysis approach*. Cancer. 2009;15:706–715.
150. Casadevall N, Duroeux P, Dubois S, et al. *Health, economic, and quality-of-life effects of erythropoietin and granulocyte-colony_ stimulating-factor for the treatment of myelodysplastic syndromes: a randomized, controlled trail*. Blood. 2004;104:321–327.
151. Henry DH, Beall GN, Benson CA, et al. *Recombinant human erythropoietin in the treatment of anemia associated with human immunodeficiency virus (HIV) infection and Zidovudine therapy*. Ann Intern Med. 1992;117:739–748.
152. Jones M, Schenkel B, Just J et al. *Epoetin alfa improves quality of life in patients with cancer : Results of meta analysis*.Cancer 2004;101:1720-1732.

153. Rizzo JD, Lichtin AE, Woolf SH, et al.: *Use of epoetin in patients with cancer: evidence based clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology and the American Society of Hematology*. J Clin Oncol, 2002; 20: 4083–4107.
154. Canon JL, Vansteenkiste J, Bodoky G, et al. *Randomized, double-blind, active-controlled trial of every -3-week darbepoetin alfa for the treatment of chemotherapy-induced anemia*. J Natl Cancer Inst, 2006; 98: 273-284.
155. Sears DA. *Anemia of chronic disease*. Med Clin North Am, 1992; 76:5 67–79.
156. Beguin Y. *Erythropoietin and the anemia of cancer*. Acta Clin Belg, 1996; 51: 36-52.
157. Bohlius J, Langersiepen S, Schwarzer G, et al.: *Recombinant human erythropoietins and cancer patients: updated meta-analysis of 57 studies including 9353 patients*. J Natl Cancer Inst, 2006; 98(10): 708–714.
158. Crawford J, Blackwell S, Shoemaker D, Pupa MR, Mulhausen T, Herndon J, et al. *Prevention of chemotherapy related anemia by recombinant human erythropoietin (EPO) in patients with small cell lung cancer (SCLC) receiving cyclophosphamide, doxorubicin, and etoposide (CAE) chemotherapy with G-CSF support [abstract]*. Lung Cancer, 1997; 18(suppl 1): 205.
159. Crawford J, Ozer H, Stoller R, Johnson D, Lyman G, Tabbara I, et al. *Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer*. N Engl J Med, 1991; 315: 164–70.
160. Dunphy FR, Dunleavy TL, Harrison BR, Boyd JH, Varvares MA, Dunphy CH, et al. *Erythropoietin reduces anemia and transfusions after chemotherapy with paclitaxel and carboplatin*. Cancer, 1997; 79: 1623–8.
161. Henke M, Laszig R, Rube C, et al. *Erythropoietin to treat head and neck cancer patients with anemia undergoing radiotherapy: randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. Lancet, 2003; 362: 1255–1260.
162. Bennett CL, Silver SM, Djulbegovic B, et al. *Venous thromboembolism and mortality associated with recombinant erythropoietin and darbepoietin administration for the treatment of cancer associated anemia*. JAMA, 2008; 299: 914–924.
163. Glaspy J, Crawford J, Vansteenkiste J, et al. *Erythropoiesis-stimulating agents in oncology : a study – level meta – analysis of survival and other safety outcomes*. Br J Cancer, 2010; 102: 301-315.
164. Noguchi, K., Yamashiro, S., Matsuzaki, T., Sakanashi, M., Nakasone, J. & Miyagi, K. *Effect of 1-week treatment with erythropoietin on the vascular endothelial function in anaesthetized rabbits*. British Journal of Pharmacology, 2001; 133: 395–405.
165. Stohlawetz, P.J., Dzirlo, L., Hergovich, N., Lackner, E., Mensik, C., Eichler, H.G., Kabrna, E., Geissler, K. & Jilma, B. *Effects of erythropoietin on platelet reactivity and thrombopoiesis in humans*. Blood, 2000; 95: 2983–2989.

166. Tang Y.D., Rinder H.M. & Katz S.D. Effects of recombinant human erythropoietin on antiplatelet action of aspirin and clopidogrel in healthy subjects: results of a double-blind, placebo-controlled randomized trial. *American Heart Journal*, 2007; 154, 494. e1-7.
167. Ross SD, Allen IE, Henry DH, et al. *Clinical benefits and risks associated with epoetin and darbepoetin in patients with chemotherapy-induced anemia: a systematic review of the literature*. *Clin Ther*, 2006; 28: 801-31.
168. Eschbach J.W.; Egrie J.C.; Downing M.R.; Browne J.K.; Adamson J.W. :*Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin : results of the phase I and II clinical trial*. *New Engl. J. Med*, 1987; 316: 73-78.
169. Raine A.E.G.: *Hypertension, blood viscosity, and cardiovascular morbidity in renal failure : implications of erythropoietin therapy*. *Lancet I*, 1988: 97-99.
170. Wang XQ, Vaziri ND. *Erythropoietin depresses nitric oxide synthase expression by human endothelial cells*. *Hypertension*, 1999; 33: 894-9.
171. Marrero MB, Venema RC, Ma H, Ling BN, Eaton DC. *Erythropoietin receptor-operated Ca²⁺ channels: activation by phospholipase C- γ 1*. *Kidney Int*, 1998; 53: 1259-68.
172. Leyland-Jones B. *Breast cancer trial with erythropoietin terminated unexpectedly*. *Lancet Oncol*, 2003; 4: 459-469.
173. Fandrey J, Dicato M. *Examining the involvement of erythropoiesis-stimulating agents in tumor proliferation (erythropoietin receptors, receptor binding, signal transduction), angiogenesis, and venous thromboembolic events*. *The Oncologist*, 2009 ;14 (suppl 1) :34-42.
174. Acs G, Zhang PJ, Rebeck TR, Acs P, Verma A. *Immunohistochemical expression of erythropoietin and erythropoietin receptor in breast carcinoma*. *Cancer*, 2002; 95: 969-81.
175. Ribatti D, Marzullo A, Nico B, Crivellato E, Ria R, Vacca A. *Erythropoietin is an angiogenic factor in gastric carcinoma*. *Histopathology*, 2003; 42:246-50.
176. Lai SY, Childs EE, Xi S, et al. *Erythropoietin-mediated activation of JAK-STAT signaling contributes to cellular invasion in head and neck squamous cell carcinoma*. *Oncogene*, 2005; 24: 4442-9.
177. Acs G, Acs P, Beckwith SM, Pitts RL, Clements E, Wong K et al. *Erythropoietin and erythropoietin receptor expression in human cancer*. *Cancer Res*, 2001;61:3561-5.
178. Acs G, Zhang PJ, McGrath CM, Acs P, McBroom J, Mohyeldin A et al. *Hypoxia-inducible erythropoietin signaling in squamous dysplasia and squamous cell carcinoma of the uterine cervix and its potential role in cervical carcinogenesis and tumor progression*. *Am J Pathol*, 2003;162:1789-806.
179. Robert Pirker, Rodryg A. Ramlau, Wolfgang Schuette, Petr Zatloukal, Irene Ferreira, Tom Lillie, and Johan F. Vansteenkiste. *Safety and Efficacy of Darbepoetin Alfa in Previously Untreated Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer Treated With Platinum Plus Etoposide*. *J Clin Oncol*, 2008; 26:2342-2349.

180. Kayser K, Gabius HJ: *Analysis of expression of erythropoietin-binding sites in human lung carcinoma by the biotinylated ligand*. Zentralbl Pathol. 1992; 138 :266-270.
181. Brown WM, Maxwell P, Graham AN, et al: *Erythropoietin receptor expression in non-small cell lung carcinoma: A question of antibody specificity*. Stem Cells. 2007; 25:718-722.
182. Grote T, Yeilding AL, Castillo R, et al: *Efficacy and safety analysis of epoetin alfa in patients with small-cell lung cancer: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. J Clin Oncol. 2005; 23: 9377-9386.
183. Della Ragione F, Cucciolla V, Borriello A, et al: *Erythropoietin receptors on cancer cells: A still open question*. J Clin Oncol. 2007; 25:1812-1813. author reply 1815, 2007.
184. Rizzo JD, Somerfield MR, Hagerty KL, et al. *Use of epoetin and darbepoetin in patients with cancer: 2007 American Society of Hematology/American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update*. Blood. 2008; 111: 25–41.
185. Cazzola M, Ponchio L, Pedrotti C et al. *Prediction of response to recombinant human erythropoietin (rHuEpo) in anemia of malignancy*. Haematologica. 1996; 81: 434–441.
186. Kolesar JM, Duren BA, Baranski BG. *Retrospective evaluation of response to epoetin alfa in patients with hematologic disorders*. J Oncol Pharm Pract. 2004; 10: 1– 6.
187. Littlewood TJ, Zagari M, Pallister C et al. *Baseline and early treatment factors are not clinically useful for predicting individual response to erythropoietin in anemic cancer patients*. The Oncologist. 2003; 8: 99 –107.
188. Miller CB, Jones RJ, Piantadosi S et al. *Decreased erythropoietin response in patients with the anemia of cancer*. N Engl J Med. 1990; 322: 1689-1692.
189. Ludwig H, Fritz E, Leitgeb C et al. *Prediction of response to erythropoietin treatment in chronic anemia of cancer*. Blood. 1994; 84: 1056-1063.
190. Tilman Steinmetz^a, Martin Hellmich^b, Michael Neise^c et al . *Prediction of the Responsiveness to Treatment with Erythropoiesis-Stimulating Factors: A Prospective Clinical Study in Patients with Solid Tumors*. The Oncologist. 2007; 12: 748–755.
191. Cheer SM, Wagstaff AJ. *Epoetin beta: A review of its clinical use in the treatment of anaemia in patients with cancer*. Drugs. 2004; 64: 323–346.
192. Goram AL. *Factors and predictors of response with epoetin alfa for chemotherapy related anemia*. J Pharm Technol. 2000; 16: 227–235.
193. Gonzalez-Baron M, Ordonez A, Franquesa R et al. *Response predicting factors to recombinant human erythropoietin in cancer patients undergoing platinum-based chemotherapy*. Cancer. 2002; 95: 2408 –2413.
194. Stenke L, Wallvik J, Celsing F, Hast R. *Prediction of response to treatment with human recombinant erythropoietin in myelodysplastic syndromes*. Leukemia. 1993; 7:1324-7.
195. Rose EH, Abels RI, Nelson RA, McCullough DM, Lessin L. *The use of r-HuEpo in the treatment of anaemia related to myelodysplasia*. Br J Haematol. 1995; 89:831-7.

196. Cazzola M; Messinger D; Battistel V; et al. *Recombinant human erythropoietin in the anemia associated with multiple myeloma or non-Hodgkin lymphoma: dose finding and identification of predictors of response*. *Blood*, 1995; 86:4446-53.
197. Malik; IA; Khan; ZK; Hakimali; A; et al. *The effect of subcutaneous recombinant human erythropoietin (r-HuEPO) on anemia in cancer patients receiving platinum-based chemotherapy*. *J Pak Med Assoc*, 1998;48:127–131.
198. Osterborg; A; Brandberg; Y; Molostova; V; Iosava; G; Abdulkadyrov; K; Hedenus; M; Messinger; D. *Randomized double-blind, placebo-controlled trial of recombinant human erythropoietin, epoetin Beta, in hematologic malignancies*. *Journal of Clinical Oncology*, 2002; 20: 2486–2494.
199. Beguin; Y. *Prediction of response and other improvements on the limitations of recombinant human erythropoietin therapy in anemic cancer patients*. *Haematologica*, 2002; 87: 1209–1221.
200. Henry; D; Abels; R; Larholt; K. *Prediction of response to recombinant human erythropoietin (r-HuEPO/Epoetin-a) therapy in cancer patients*. *Blood*, 1995; 85:1676-8.
201. Kaaron Benson; Lodovico Balducci; and Matti Aapro. Chapter: Anemia and Cancer. DOI: 10.1007/978-0-387-49506-4_8 In book: *Anemia in the Elderly*, pp.99-113

ABSTRACT

Background: Recombinant Human Erythropoietin (rHuEpo) is an effective treatment for anemia in cancer patients. Since a portion of patients do not respond to the treatment , it would be very useful to predict potential responders and non responders before the initiation of the treatment. Various algorithms have been developed to predict patient response to rHuEpo using pretreatment serum erythropoietin level and other factors.

Individuals and methods: we delivered 8,000 IU epoetin to 30 anemic cancer patients (median age 55 years ,16 males & 14 females) in Tishreen hospital-Lattakia admitted between 2013-2014. the drug was administered subcutaneously three times per week for two months. we used ELISA method to measure pretreatment serum erythropoietin level. Hb concentration and other hematological parameters were measured during the treatment.

Results :53% of patients responded to the treatment within 8 weeks. 71% of patients with serum erythropoietin < 100 U/L responded, whereas 27% with values > 100 U/L did (P value = 0.025). 80% of patients with hematological malignancies responded to the treatment , whereas 39% of patients with solid tumors did (P value = 0.043). Reticulocyte count increment after two weeks in responder patients was higher than non responders(P value = 0.0054). There was an important relation between response and Hb increment after 2 weeks and 4 weeks. response rate was higher in patients with Hb increment > 0.5 g/dL after 2 weeks (83% versus 31%) (P value = 0.006) , and in those with Hb increment > 1 g/dL after 4 weeks (93% versus 14%) (P value <0.0001).

Conclusion :response to rHuEpo can be predicted by pretreatment serum erythropoietin together with early changes in other laboratory parameters.

Keywords : erythropoietin , anemia , cancer , predictive factors.

Ministry of High Education
Tishreen University
Faculty of Pharmacy
Department of Biochemistry and Microbiology



The importance of serum erythropoietin measurement before the treatment of anemia with recombinant human erythropoietin in cancer patients in Lattakia city

Research prepared for the master degree in Microbiology, Hematology and Immunology

By

Abeer Adnan Rajab

Scientific Supervision

Dr.Firas Hussein

Assistant Professor, Faculty of Medicine
Tishreen University

Dr.Remal Asaad

Assistant Professor, Faculty of Pharmacy
Tishreen University

2015-2016