

Evaluation of coagulopathies in acute promyelocytic leukemia at diagnosis and after complete remission by D-dimer titration

Dr. Ruz Saeid*
Mazin Khadur**

(Received 6 / 7 / 2022. Accepted 11 / 9 / 2022)

□ ABSTRACT □

Background: Early hemorrhagic deaths is the most important cause of fatality in acute promyelocytic leukemia. All trans retinoic acid has an important role to induce hematological remission and decrease the coagulopathies that accompanies acute promyelocytic leukemia.

Aim: to assess the efficacy of all trans retinoic acid on coagulation profile when complete hematological remission is achieved.

Materials and Methods: blood sample were collected from acute promyelocytic leukemia patients at diagnosis and at complete hematological remission.

Results: 25 patients were admission in Tishreen University hospital and were treated with all trans retinoic acid, idarubicin and supportive care to maintain a reasonable platelet count. 88% of patients achieved complete hematological remission. Two patients died during induction therapy due to intracranial hemorrhages. All trans retinoic acid was able to normalize coagulation parameters at remission with D-dimer being the most affected parameters of them all. This result emphasizes on the important of D-dimer titration to monitor the coagulopathies and treatment in acute promyelocytic leukemia.

Keywords: Acute leukemia, coagulopathies , promyelocyte

*Assistant Professor, Faculty of Human Medicine, Department of Laboratory Medicine, Lattakia, Syria

**Master's Student, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry and Microbiology, Tishreen University, Lattakia, Syria

تقييم الشذوذات الخثرية عند مرضى الابيضاض الحاد بسلائف النقويات عند التشخيص وبعد الهجوم عبر معايرة D-dimer

د. روز سعيد*

مازن خضور**

(تاريخ الإيداع 6 / 7 / 2022. قُبِلَ للنشر في 11 / 9 / 2022)

□ ملخص □

مقدمة: تعد الوفيات الباكرة المرتبطة بالنزوف العامل المسبب الأول للوفاة عند مرضى الابيضاض الحاد بسلائف النقويات. كان لاستخدام حمض الريتينويك دوراً هاماً في تحقيق الهجوم لدى المرضى وخفض الشذوذات الخثرية عبر تحفيز تمايز الخلايا الورمية.

هدف البحث: التحري عن تأثير حمض الريتينويك على مشعرات التخثر عند التشخيص وعند تحقيق الهجوم الدموي الكامل.

الطرائق والأدوات: جمعت عينات دم من المرضى ومقايسة المشعرات المخبرية للتخثر عند الدخول المشفوي وتاكيد التشخيص بالابيضاض الحاد بسلائف النقويات وعند الهجوم الدموي الكامل.

النتائج: تضمنت الدراسة 25 مريضاً تم قبولهم في مستشفى تشرين الجامعي. تم علاجهم بحمض الريتينويك وبمعالجة كيميائية من Idarubicin بالإضافة إلى علاج داعم للمحافظة على تعداد صفيحات مقبول. حقق 88% من المرضى هجوعاً دموياً كاملاً. كان المسبب الأهم للوفاة هو النزف الدماغي لدى مريضين من عينة الدراسة. كان لحمض الريتينويك قدرة على تطبيع مشعرات التخثر كافة خلال فترة المعالجة. تعدّ قدرة حمض الريتينويك في تطبيع قيم المثنوي D هي الأهم من بين مشعرات التخثر مما يشير إلى أهمية هذا المشعر في مراقبة تطور الحالة الخثرية لدى مرضى الابيضاض الحاد بسلائف النقويات.

الكلمات المفتاحية: الابيضاض الحاد، شذوذات خثرية، سلائف النقويات

* مدرس، كلية الطب البشري، قسم الطب المخبري، اللاذقية، سورية

** طالب ماجستير كلية الصيدلة، قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية

مقدمة:

يعدّ الابيضاض النقوي الحاد بسلائف النقويات (Acute Promyelocytic Leukemia APL) من تحت الأنماط النادرة للابيضاض النقوي الحاد. يتميز الابيضاض النقوي الحاد بمجموعة من الشذوذات الخثرية التي تميزه عن باقي أنواع الابيضاضات وتؤدي إلى الوفاة إذا لم تعالج بسرعة. يصنف هذا النوع من الناحية الشكلية حسب تصنيف الـ FAB بالابيضاض النقوي الحاد AML-M3. يتميز هذا النوع بتكاثر ورمي للخلايا سليفة النقوية في نقي العظام تملك شذوذ مورثي هو عبارة عن إزفاء متوازن بين الصبغيين الخامس عشر والسابع عشر (15;17) (q24.1;q21.2) مما يؤدي إلى تشكيل بروتين ورمي انصهاري بين بروتين الابيضاض بسلائف النقويات (Promyelocytic leukemia PML) و مستقبل حمض الريتينويك ألفا (retinoic acid receptor- α) (RAR α). [1,2] يشكّل الابيضاض الحاد بسلائف النقويات حوالي 5-20% من معظم حالات الابيضاض الحاد وفق النسب العالمية [3].

كان اكتشاف الـ (all-trans retinoic acid ATRA) نقطة التحول المحورية في علاج الابيضاض الحاد بسلائف النقويات، فقبل ذلك ارتبط الابيضاض الحاد بسلائف النقويات بمعدلات وفاة عالية مرتبطة بالنزف وخاصة النزف داخل القحف والرئوي. على الرغم من أن النزف هو التظاهر المهيمن لدى مرضى الابيضاض الحاد بسلائف النقويات إلا أنهم ذوو خطورة لمضاعفات خثرية وخاصة تلك التي تتطور خلال العلاج. [4] يهدف البحث إلى تقييم مدى فعالية العلاج المطبق في مستشفى تشرين الجامعي ومدى تأثيره على الشذوذات الخثرية المرافقة للابيضاض وذلك من خلال دراسة مشعرات التخثر عند التشخيص وعند الهجوم الدموي الكامل للمرضى.

الطرائق والأدوات المستخدمة:

تمت الدراسة في مستشفى تشرين الجامعي خلال الفترة الزمنية الممتدة بين عامي 2018-2022. سُحبت عينات دموية من المرضى وجمعت على مضادات التخثر المناسبة. حيث جمعت العينات المراد التحري من خلالها عن مشعرات التخثر كالـ PTT، aPTT، الفيبرينوجين و D-dimer على سترات ثنائية الصوديوم بتركيز 4%. بينما استخدمت أنابيب جمع الدم الحاوية على هيبارين الصوديوم للتحري عن الاختبارات البيوكيميائية فيما استخدمت الأنابيب الحاوية على EDTA للتحري عن التعداد الدموي وأفلام الدم. استخدم جهاز Sysmex للتحري عن التعداد الدموي الكامل، جهاز Stago للتحري عن مشعرات التخثر، جهاز Ichroma للتحري عن قيم d-dimer فيما تم الحصول على تلك المتعلقة بالمصل عن طريق جهاز Mendray الآلي.

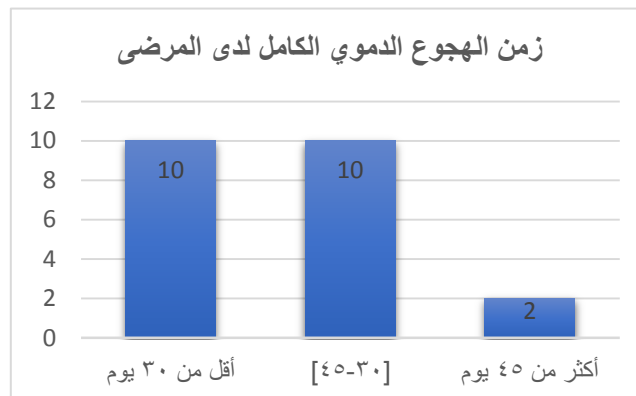
اعتمد التشخيص على وجود الأرومات بنسبة تتجاوز 10% مع غلبة الخلايا سليفة النقوية في رشافة نقي العظم والاعتماد على التحليل المورثي (15;17) عند توفره. تضمنت خطة العلاج إعطاء ATRA وذلك بجرعة 45 ملغ/م² يومياً حتى الوصول إلى الهجوم الدموي الكامل (90 يوماً بعد أقصى)، بالإضافة إلى Daunorubicin بجرعة 50 ملغ/م² وذلك في اليوم الأول والرابع والسابع. طُبّق العلاج الداعم للمرضى للمحافظة على قيم للصفائح أعلى 20,000 وذلك عند عدم وجود مظاهر نزفية لدى المرضى وفي حين وجود هذه المظاهر يهدف العلاج إلى إبقاء تعداد الصفائح أعلى من 10,000 صفيحة/ملم³.

حددت حالة الهجوع الدموي الكامل عند تحقيق المعايير التالية: نسبة الأرومات في نقي العظم أقل من 5%، عدم وجود أرومات تحوي عصابات Auer، عدم وجود دليل على مرض خارج نقوي، تعداد مطلق للعدلات أكبر من 1000، تعداد للصفائح أكبر من 100،000، عدم الحاجة إلى نقل منتجات الدم.

تم التحليل الإحصائي عبر برنامج R Studio، تم التعبير عم المتغيرات الرقمية بالمتوسط الحسابي + الانحراف المعياري إذا كانت ذات توزيع طبيعي ومقارنة هذه المتغيرات عن طريق اختبار t-student للعينات المستقلة وقيم الوسيط (القيمة الصغرى - القيمة الكبرى) عند شذوذاها عن التوزيع الطبيعي ومقارنتها عن طريق اختبار Wilcoxon Rank Sum Test. تم التعبير عن المتغيرات الفئوية عن الطريق النسب المئوية ومقارنة هذه المتغيرات عن طريق اختبار كاي مربع. اعتبرت الفروقات عند المقارنة ذات أهمية إحصائية عند قيمة $p\text{-Value} < 0.05$ ، استخدم مشعر Cohen's D لدراسة أثر التأثير على الفروقات بين المجموعات.

النتائج:

شخص 25 مريضاً بالابيضاض الحاد بسلائف النقويات خلال فترة الدراسة، بلغ وسيط أعمار المرضى (82 - 8) عاماً. بلغ عدد الذكور في عينة الدراسة (56%) 14 وعدد الإناث (44%) 11. تباينت شكاوى الدخول المشفوي لدى المرضى وشكلت الشكاوي المتعلقة بالنزف بالسبب الأهم للدخول المشفوي 9 كدمات على الأطراف، 6 نزف هضمي، مريض واحد نزف دماغي، ومريض واحد نزف أغشية مخاطية. بينما شكلت علامات القصور النقوي المسببات المتبقية للدخول المشفوي. بلغ معدل الشذوذات الخثارية لدى المرضى عند التشخيص وخلال العلاج (76%) 19. قسم المرضى إلى ثلاث مجموعات إنذارية. ضمت مجموعة المرضى ذوي الإنذار المنخفض 4 مرضى فقط فيما كانت غالبية المرضى ضمن المجموعة ذات الإنذارية المتوسطة بواقع 13 مريضاً و8 مرضى ضمن مجموعة الإنذار المرتفع حقق 22 مريضاً هجوعاً دموياً كاملاً وفق المعايير المعتمدة في الدراسة فيما توفي (22%) 3 مرضى خلال شهر من التشخيص والذي اعتبرت وفيات باكراً. تراوحت المدة الزمنية لتحقيق الهجوع الدموي بين 26 و 80 يوماً وبوسيط قدره 32 يوماً. تراوحت الفترة الزمنية للوفاة بعد التشخيص بين 4 و 12 يوماً. كان النزف الدماغي هو سبب الوفاة لدى مريضين فيما توفي المريض الثالث نتيجة الإقفار الدماغي.



الشكل 1 توزيع المدة الزمنية التي حدث فيها الهجوع لدى مرضى الدراسة

ويبين الجدول التالي المقارنة بين قيم المتغيرات المدرسة عند التشخيص وبعد تحقيق الهجوع الدموي بالإضافة إلى قيمة p-Value للاختبار الإحصائي وقيمة مشعر Cohen's D للدلالة على أثر التغيير في قيمة كل مشعر من المشعرات حيث يعتبر التأثير منخفضاً عند قيم أقل من 0.4 ومتوسطاً بقيم بين 0.4 - 0.7 وتأثيراً كبيراً عند القيم الأعلى من 0.8.

المتغير	عند التشخيص	عند الهجوع	p-value	Cohen's D
الخصاب	9.90 (7.40، 12.80)	9.77 (7.72، 13.10)	0.82	0.06
الهيماتوكريت	30.0 (21.0، 39.0)	34.9 (22.4، 44.0)	0.001>	0.88
الكريات البيض	11,000 (1,200، 39,900)	7,900 (6,700، 11,000)	0.058	0.75
المعدلات	440 (100، 4,300)	4,200 (3,000، 7,000)	0.001>	3.5
اللمفاويات	1,008 (256، 3,400)	3,200 (1,900، 4,000)	0.001>	2.7
الصفائح	26 (4، 110)	180 (130، 270)	0.001>	5.85
aPTT	30.69 (24.80، 35.65)	29.90 (28.10، 31.20)	0.15	0.4
D-dimer	7.30 (4.00، 10.00)	0.21 (0.10، 0.33)	0.001>	5.14
الفيرينوجين	134 (60، 305)	300 (190، 389)	0.001>	2.08
الألبومين	4.28 (3.60، 4.80)	3.65 (2.50، 6.30)	0.042	0.45
الكرياتينين	0.90 (0.68، 2.43)	1.02 (0.55، 1.90)	0.093	0.43
PT	16.49 (12.99، 19.01)	11.44 (11.08، 12.90)	0.001>	3.55

المناقشة:

يصيب الابيضاض الحاد بسلائف النقويات مختلف الفئات العمرية ولكن حاله كحال معظم الخباثات النقوية الأخرى تتركز الإصابة لدى الفئات العمرية الطاعنة في السن، تركزت معدلات الإصابة في دراستنا لدى الفئات العمرية التي تتجاوز 50 عاماً بنسبة 56% بينما كان نسبة المرضى التي لم تتجاوز أعمارهم 30 عاماً منخفضة نسبياً (12%) ولا بد من الذكر أن هذه النسبة تمثل ثلاث مرضى في دراستنا بينهم طفل أتم 8 سنوات عند التشخيص. تعكس النسب السابقة الأنماط المشاهدة عالمياً والتي تفضي إلى أن الابيضاض الحاد بسلائف النقويات يصيب الفئات العمرية ذات الأعمار المتقدمة بعكس الابيضاض اللمفاوي الحاد Acute Lymphoblastic Leukemia ALL والذي يتركز لدى الأطفال. [5]

لدى مراجعة الأدبيات الطبية المتوفرة في الجمهورية العربية السورية، كان عدد الدراسات التي تتناول موضوع الابيضاض الحاد بسلائف النقويات محدوداً إلا من خلال القليل من الدراسات التي ركزت على الابيضاض الحاد بشكل عام، ففي الدراسة التي قام بها سابا عام 2012 للتحري عن الشذوذات المورثية المرافقة للابيضاض الحاد كانت نسبة المرضى المصابين بالايبيضاض الحاد APL 34% (33 من 96 مريضاً) وكان 10 مرضى ضمن الفئة

العمرية 20-29 بنسبة 30% في حين كان عدد المرضى الذين تجاوزوا 50 عاماً 14 مريضاً بنسبة 42% وهذا ما يشكل تشابهاً مع النتائج المطروحة في دراستنا إلى حد ما. [6]

تتنسق النتائج المبينة في الدراسة مع العديد من الدراسات العالمية حيث كانت الفئة العمرية ذات معدل الإصابة الأعلى في الدراسة التي قام بها Kamath وزملاؤه عام 2019 هي بين الأعمار 35-65 بواقع 49% وبالرغم من أن هذا المجال العمري يشمل عدد أكبر من المرضى، في حين كان نسبة المرضى التي لم تتجاوز أعمارهم 20 عاماً 7.3%. [7]

تفرز الخلايا سليفة النقوية الورمية كميات كبيرة من البروتينات والتي تؤدي إلى تدرك الكولاجين وتفعيل أنزيمات شلال التخثر. قد تؤدي العلاجات الكيماوية التقليدية كالأنتراسيكلينات إلى زيادة في الشذوذ الخثاري المترافق مع APL مما يزيد من خطورة الوفيات المرتبطة بالنزف. أظهرت الدراسات التي اعتمدت على بروتوكولات علاجية خالية من الأنتراسيكلينات كتلاثي أكسيد الزرنيخ انخفاض في معدلات الوفاة الباكرة وشدة نقص الصفائح الحاصل لدى المرضى مع انخفاض في معدل الوفيات الباكرة المرتبطة بالنزف ولكن يبقى التطرق لآليات هذه العلاجات على الشذوذات الخثارية في الأدب الطبي قليلاً ويحتاج إلى المزيد من الجهود. [8]

درست الآليات المتعلقة بتأثير ATRA بشكل أوسع في الأدب الطبي مقارنة بالعلاجات الأخرى. تؤدي العلاجات المعتمدة على ATRA إلى خفض التعبير عن العامل النسيجي و Annexin II ضمن سلالات الأرومات النقوية الورمية مما يؤدي إلى كبح آليات الشذوذات الخثارية المتعلقة بهذه الخلايا الورمية [9]. يؤدي ATRA إلى تخفيض التعبير المورثي عن العامل النسيجي في الخلايا الورمية وكذلك يقلل من فعالية العامل الورمي المؤهب للخثار ويكون تقليل هذا التفعيل بالتزامن مع تمايز الخلايا الورمية المحدث عن طريق ATRA على عكس تقليل التعبير المورثي للعامل النسيجي والذي يكون مستقلاً عن التمايز الحاصل. [10]

يزداد التعبير عن thrombomodulin بالتزامن مع انخفاض التعبير عن Annexin II عند تعريض خلايا الخط الخلوي NB4 لـ ATRA وذلك خلال 24 ساعة من معالجة هذه الخلايا. تتصف الدراسات التي تتناول تأثير ATRA خلال بداية المعالجة بكونها ذات حجم عينات صغير ورجعية بطبيعتها ولكنها تؤكد ضرورة المعالجة الباكر بالـ ATRA عند الشك السريري بوجود اليبضااض الحاد بسلاتف النقويات [11]

تتمتع قدرة ATRA على تطبيع مشعرات التخثر من قدرته على تحفيز تمايز الخلايا الورمية. يشير ارتفاع D-dimer الحاصل على تأثير الخلايا الورمية على شلال التخثر من خلال تفعيلها للسبيل الخارجي عن طريق تعبيرها الزائد عن العامل النسيجي من جهة والتعبير عن العامل الورمي المؤهب للخثار من جهة أخرى والذي يقوم بفعيل شلال التخثر وتشكيل الفيبرين. بالرغم من الزيادة الملاحظة في تشكّل الفيبرين عن طريق الآليات السابقة إلا أن شيوع الشذوذات النزفية يعدّ المسيطر في اليبضااض الحاد بسلاتف النقويات والعائد بشكل رئيسي إلى حالة التخثر المنتشر داخل الأوعية المرافقة والتي تتمثل بزيادة التعبير عن Annexin II والتي تقضي إلى زيادة تفعيل البلاسمين وحل كمية الفيبرين المتشكّلة وبالتالي زيادة في استهلاك عوامل التخثر وغلبة المظاهر النزفية. يتجلى ذلك بشكل واضح من خلال كون النزوف الدماغية هي المسبب الرئيسي للوفيات المرتبطة بالنزف نظراً للتعبير المرتفع لـ Annexin II في الجهاز العصبي المركزي.

يخفّض ATRA قيم D-dimer بشكل واضح مقارنة بقيم المشعرات الأخرى باستثناء الصفائح، قد يكون هذا التفعيل مجملاً في آلية التمايز الحاصلة وتخفيضه للتعبير عن العامل النسيجي والعامل المؤهب للورم من جهة و تقليل التعبير

عن Annexin II من جهة أخرى. وكانت ديناميكية تطبّع عوامل التخثر موضوعاً بحثياً للعديد من الدراسات بالرغم من عدم التواجد المشفوي للمرضى بشكل دائم وهذا ما شكّل معوقاً هاماً للتحري عن هذه الديناميكية. ففي دراسة Mantha عام 2016 كان تطبّع قيم D-dimer هو الأسرع بين مشعرات التخثر المدرسة حيث بلغ قيمه الطبيعية خلال 14 يوماً من بدء المعالجة. [12]

تبين المقارنات السابقة قدرة ATRA على تطبيع قيم المشعرات المخبرية للخثار بشكل واضح ولكن تبقى الوفيات الباكرة وخاصة النزفية منها محطّ الاهتمام الأكبر للعديد من الدراسات البحثية. كان للعلاجات الداعمة حيزاً كبيراً في هذه الدراسات ولكن يبقى من المتعذر دراسة تأثيرها المستقل عن ATRA.

تتبع العديد من العلاجات الداعمة تلك المبينة في الدراسات المرجعية للابيضاض الحاد بسلائف النقويات دون الاتفاق على قيم موحدة للحدود الدنيا لمشعرات التخثر. تتضمن نقل الصفائح للمحافظة على قيم الصفائح أعلى من 50,000-30,000 صفيحة/مل ، نقل البلازما المجمدة للمحافظة على قيم الفيبرينوجين أعلى من 1 غرام/دسل بالإضافة إلى نقل البلازما الطازجة للمحافظة على قيم INR أقل من 1.5. [13]

الخاتمة:

عادت قيم مشعرات التخثر المدروسة إلى قيمها الطبيعية عند تحقيق الهجوم الدموي وبيّنت الدراسة الإحصائية أن قيمة D-dimer والصفائح هي أكثر القيم تأثراً من خلال تطبّعها بالعلاج بال-ATRA. مما يوضّح أهمية مقايسة D-dimer في مراقبة الشذوذات الخثرية لدى مرضى الابيضاض الحاد بسلائف النقويات.

تشير البيانات المطروحة في هذه الدراسة إلى نجاعة الخطة العلاجية المطبقة في مستشفى تشرين الجامعي في تدبير الشذوذات الخثرية والوفيات المرتبطة بالنزوف الباكرة للابيضاض الحاد بسلائف النقويات كونها السبب الأشيع للوفاة لدى هؤلاء المرضى.

Reference

1. Brezinová J, Šárová I, Ransdorfová Š, Zemanová Z, Michalová K. Use of molecular cytogenetic techniques in the analysis of chromosomal aberrations in haematological malignancies. *Transfuzie a Hematol Dnes*. 2017;
2. Adams J, Nassiri M. Acute promyelocytic leukemia a review and discussion of variant translocations. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2015.
3. Yamamoto JF, Goodman MT. Patterns of leukemia incidence in the United States by subtype and demographic characteristics, 1997-2002. *Cancer Causes Control*. 2008;
4. Giuli MV, Hanieh PN, Giuliani E, Rinaldi F, Marianecchi C, Screpanti I, et al. Current Trends in ATRA Delivery for Cancer Therapy. *Pharmaceutics*. 2020 Jul;12(8).
5. Redaelli A, Laskin BL, Stephens JM, Botteman MF, Pashos CL. A systematic literature review of the clinical and epidemiological burden of acute lymphoblastic leukaemia (ALL). *European Journal of Cancer Care*. 2005.
6. سابا، عيسى، أمين س، الدين اح. دراسة الشذوذات الصبغية لدى مرضى الابيضاض الحاد حديث التشخيص. مجلة جامعة دمشق 2012; Available from: http://mohe.gov.sy/master/Message/Mc/issa_saba.pdf [Internet].
7. Kamath GR, Tremblay D, Coltoff A, Caro J, Lancman G, Bhalla S, et al. Comparing the epidemiology, clinical characteristics and prognostic factors of acute myeloid leukemia with and without acute promyelocytic leukemia. *Carcinogenesis*. 2019;
8. Burnett AK, Russell NH, Hills RK, Bowen D, Kell J, Knapper S, et al. Arsenic

- trioxide and all-trans retinoic acid treatment for acute promyelocytic leukaemia in all risk groups (AML17): Results of a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2015;
9. Olwill SA, McGlynn H, Gilmore WS, Alexander HD. All-trans retinoic acid-induced downregulation of annexin II expression in myeloid leukaemia cell lines is not confined to acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol.* 2005;
 10. Hambley BC, Tomuleasa C, Ghiaur G. Coagulopathy in Acute Promyelocytic Leukemia: Can We Go Beyond Supportive Care? *Frontiers in Medicine.* 2021.
 11. Sanz MA, Fenaux P, Tallman MS, Estey EH, Löwenberg B, Naoe T, et al. Management of acute promyelocytic leukemia: Updated recommendations from an expert panel of the European LeukemiaNet. *Blood.* 2019;
 12. Mantha S, Tallman MS, Soff GA. What's new in the pathogenesis of the coagulopathy in acute promyelocytic leukemia? *Current Opinion in Hematology.* 2016.
 13. Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, Thiede C, Orlando SM, Iacobelli S, et al. Retinoic Acid and Arsenic Trioxide for Acute Promyelocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 2013;