

## تقييم دور الهيبسيدين في التنبؤ بعدم الاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي لدى مرضى مصابين بفقر الدم بعوز الحديد

د. رويدة أبو سمرة<sup>1</sup>

د. تهاني علي<sup>2</sup>

ريم ديب<sup>3</sup>

(تاريخ الإيداع 2 / 2 / 2017. قَبْلُ للنشر في 5 / 4 / 2017)

### □ ملخص □

يعد فقر الدم بعوز الحديد العوز الغذائي الأكثر شيوعاً حول العالم، كما أن تدبيره ما يزال تحد في كثير من الحالات. إن المعالجة بالحديد الفموي، بجرعات مناسبة ولمدة كافية، هي الخيار الفعال عند معظم المرضى. قد يبدي بعض المرضى استجابة غير مثالية للحديد الفموي. الحاجة مستمرة وواضحة سريرياً لتحديد منبئات بالاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي. الهيبسيدين 25 ، وهو منظم أساسي لاستقلاب الحديد، قد يستخدم كدليل يمكن الاعتماد عليه في المعالجة بالحديد، وقد يكون أحد هذه المنبئات. أُدخل في هذه التجربة السريرية المُتَابَعَة 112 مريض مصاب بفقر الدم بعوز الحديد تم اختيارهم من كل من مشفى المواساة ومشفى التوليد الجامعيين في دمشق ما بين حزيران 2015 وحزيران 2016. لمن تحققت لديه معايير الاشتمال، تم وبشكل أولي إجراء تعداد الدم الكامل CBC ودراسة الحديد وهيبسيدين المصل. ثم تلقى المرضى تجربة علاجية بالحديد الفموي لمدة 14 يوم (غلوكونات الحديد 325مغ/3 مرات يومياً) تم بعدها إعادة CBC ودراسة الحديد في زيارة المتابعة. تم تصنيف المرضى الذين حققوا  $1 > \text{غ/دل}$  (زيادة في الخضاب) بأنهم غير مستجيبين. تراوحت قيم الهيبسيدين الأولية بين  $(40.18 \pm 86.35)$  و  $(6.37 \pm 10.37)$  عند غير المستجيبين مقابل المستجيبين للبروتوكول العلاجي بالحديد الفموي بفاصلة الثقة  $(p = 0.041)$ . قيمة الهيبسيدين  $< 14.3$  نغ/مل أظهرت حساسية 40% ونوعية 90.2% وقيمة تنبؤية إيجابية 60% وقيمة تنبؤية سلبية 80% للتنبؤ بعدم الاستجابة للحديد الفموي. نستنتج أن الهيبسيدين يتنبأ بعدم الاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي عند مرضى مصابين بفقر الدم بعوز الحديد بشكل ضعيف ولكنه يتفوق على الفيريتين ونسبة الإشباع لهذه الغاية.

**الكلمات المفتاحية:** فقر الدم بعوز الحديد، الهيبسيدين، منبئات الاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي.

<sup>1</sup> أستاذة الكيمياء الحيوية والكيمياء السريرية - رئيسة قسم الطب المخبري - كلية الطب البشري - جامعة دمشق - سورية.

<sup>2</sup> أستاذة الدمويات المناعية ونقل الدم - قسم الطب المخبري - كلية الطب البشري - جامعة دمشق - سورية.

<sup>3</sup> دراسات عليا (دكتوراه) في الطب المخبري - قسم الطب المخبري - كلية الطب البشري - جامعة دمشق - سورية .

## Evaluation the role of Hepcidin in predicting nonresponsiveness to oral iron therapy among iron deficient anemic patients

Dr. Rouaida about Samra<sup>4</sup>  
Dr. Tahani Ali<sup>5</sup>  
Rim Dib<sup>6</sup>

(Received 2 / 2 / 2017. Accepted 5 / 4 / 2017)

### □ ABSTRACT □

Worldwide, iron deficiency anemia (IDA) is the most common nutritional deficiency, and its management remains a challenge in many cases. (OIT) Oral iron therapy, in appropriate doses and for a sufficient duration, is an effective first-line strategy for most patients. But some patients do not experience an optimal response to (OIT). The need is still current and clinically relevant for predictors of response to OIT. Hepcidin-25, a major regulator of iron metabolism, may be used as a reliable guide for the use of iron and be one of them. 112 patients with IDA were enrolled in this follow up clinical trial, Selected from two university hospitals in Damascus between JUNE 2015 and JUNE 2016. For patients who met the inclusion criteria, Baseline CBC, iron studies, and serum hepcidin-25 were measured, and then they received a 14-day course of oral iron (ferrous gluconate 325mg/ 3 times daily). Patients who achieved <1g/dl increase in Hb in 14 days were categorized as “non-responders”. Screening hepcidin levels were  $(40.18 \pm 86.35)$  versus  $(6.37 \pm 10.37)$  ( $p=0.041$ ) in nonresponders versus responders to oral iron trial. Hepcidin Cutoff of >14.3 ng/ml, showed sensitivity of 40%, specificity of 90.2%, and positive predictive value of 60% and negative predictive value of 80% for predicting nonresponsiveness to oral iron. We conclude that serum hepcidin 25 predicts poorly nonresponsiveness to oral iron therapy in IDA patients, but it is superior to ferritin and TSAT for this purpose.

**Keywords :** Iron deficiency anemia, predictors of response to OIT, Hepcidin-25.

---

<sup>4</sup>Prof of Biochemistry and clinical Biochemistry. Chef of Medical laboratory department. Fac. Of Medicine. Damascus University.

<sup>5</sup>Prof of Immuno-Hematology and Blood Transfusion. laboratory department. Fac. Of Medicine. Damascus University.

<sup>6</sup>Master in laboratory Medicine. Medical laboratory department. Fac. Of Medicine. Damascus University.

## مقدمة

يعد فقر الدم بعوز الحديد IDA العوز الغذائي الأكثر شيوعاً حيث يصيب 2 بليون شخص في العالم [1]، [2]. وأسباب حدوثه هو سوء التغذية في البلدان النامية إضافة للأخماج الطفيلية وما تسببه من فقد مزمن للدم، كما أن الحميات الغذائية المعتمدة على الحبوب تنقص التوفر الحيوي للحديد لأن الفيتات في الحبوب تحتجز الحديد في معقد قابل للامتصاص بشكل ضئيل [3]. بينما تتراوح الأسباب في البلدان المتقدمة بين الحميات النباتية الصارمة و سوء الامتصاص والنزوف الطمثية ، كما أن النزف من السبيل الهضمي بما فيه النزف الخفي الناجم عن أدوية سليمة أو عسر تصنع وعائي أو سرطان هو سبب هام لفقر الدم بعوز الحديد خصوصاً عند الرجال والمتقدمين في السن [4]. يجب أن يتلقى هؤلاء المرضى مكملات الحديد فموياً وهي طريقة ملائمة وغير مكلفة وفعالة عند المرضى المستقرين. بينما ينصح المرضى غير المستجيبين للمعالجة بالحديد الفموي (OIT) بالمستحضرات الوريدية للحديد [5].

يتميز فقر الدم بعوز الحديد IDA بمستويات منخفضة من **الخضاب** و**الفيريتين**، و**الفيريتين** واسم حيوي أساسي لحالة مخزون الحديد [6] حيث أن الفيريتين عند قيمة  $\geq 30$  نغ/مل يكشف عوز الحديد بحساسية 92% وقيمة تنبؤية إيجابية 83% [7] ولكن عند المتقدمين في السن أو بين المرضى المصابين بحالات التهابية قد يتواجد عوز الحديد مع قيم الفيريتين 60-100 نغ/مل [6]. بغض النظر عن السبب، فإن نقص التزود بالحديد لتوليد الكريات الحمر وبعد أسابيع عدة سوف يؤدي إلى ضعف إنتاج الخضاب الذي يتجلبقيم منخفضة في خضاب الكرية الوسطي (MCH) [8]، كما وتصبح الكريات الحمر صغيرة الحجم microcytes [9].

إن المحور الهبيدي-الفيروبروتين أساسي في المحافظة على توازن الحديد [10]. تم اكتشاف الهبيديين عام 2000 وجاء الفهم العميق لدور الهبيديين في استتباب الحديد في الجسم عام 2004 عندما كشفت علاقته بالفيروبروتين حيث توضح في الزجاج أن الهبيديين يُحرّض استتباب وتترك الفيروبروتين [11]، [12]. الهبيديين -25 فهو ببتيد وزن الجزيئي 2.7 كيلو دالتون مكوّن من 25 حمض أميني يحتوي أربع روابط ثنائية الكبريت. يتم اصطناعه وإفرازه من الخلايا الكبدية، يجول في الدوران بشكل حر عادةً باستثناء بعض الارتباط الضعيف بالألبومين وألفا 2 م كروغلوبولين. الفيروبروتين FPN1، هو مُصدّر الحديد الوحيد المعروف لدى الثدييات . يكون ذات تعبيرية عالية في جميع المواقع التي لها علاقة بنقل الحديد إلى البلازما (الغشاء القاعدي للخلايا المعوية في العفج، غشاء البالعات، السطوح الجيبية للخلايا الكبدية، وعلى السطح القاعدي للأرومة الغازية المخلوية المشيمائية التي تواجه الدوران الجنيني) [13]. فيزيولوجياً، يتم ضبط الهبيديين من قبل مخازن الحديد، والالتهاب، ونقص الأكسجة وتكون الكريات الحمراء [14]. بينت دراسة أن الهبيديين هو واسم حيوي محتمل عند مرضى IDA، فقياس مستوى الهبيديين المصلي قد يكون اختباراً متمماً لكل من تعداد الدم الكامل وواسمات حالة الحديد في إثبات تشخيص فقر الدم بعوز الحديد ويبدو أنه يتصدر المشعرات الحديثة لحالة الحديد مثل مستقبل الترانسفيرين الذواب STRF ووزنك البروتوبورفيرين ZPP [15]، ومحتوى الخضاب في الشبكيات ونسبة الخلايا الحمراء ناقصة الصباغ [16]، [17].

يُبدى الهبيديين ضبطاً سلبياً لاستتباب الحديد عبر تثبيط الامتصاص المعوي للحديد وتثبيط حركية الحديد من مخازنه النسيجية. تُحرّض الحالات الالتهابية السيتوكينات التي تزيد إنتاج الهبيديين م سبباً احتجاز الحديد في البالعات وفي الظهارة المعوية ما يضعف امتصاص الحديد [9]. في دراسة حديثة لعام 2016 استهدفت التعرف على المورثات المُعبّر عنها في الأمعاء والمكتنفة في امتصاص الحديد وتأثير الهبيديين فيها، تُبيّن أن وجود الهبيديين يثبط مستويات الرنا المرسل RNAm لكل من الفيروبروتين FPN1 والناقل المعدنيثائي التكاؤ DMT1 وأنزيم إرجاع

السيتوكروم العفجي DcyTb والهيفستين والبروتين الحامل للهيم HCP1، وبالتالي يثبط امتصاص الحديد من العفج على مستويات عدة [18]. الهيسيدين يتناسب عكساً مع امتصاص الحديد عند نساء أصحاء بمخازن حديد ممتلئة [19]. إن أفضل مقارنة لفقر الدم بعوز الحديد تتم عبر تحديد واسم حيوي يقود إلى تشخيص ومعالجة فعالة بأن واحد. الهيسيدين بمستوياته المنخفضة يسمح بامتصاص الحديد وياندخال فعال للحديد في الكريات الحمراء، إذاً فأفضل واسم لتوجيه المعالجة قد يكون هو المحدد الفيزيولوجي لاستخدام الحديد [20]. الحاجة لوجود واسمات مبدئية منبئة بمدى الاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي ما تزال مستمرة وجليّة سريراً، ونظراً لهذه العلاقة السببية بين ضعف امتصاص الحديد الفموي وارتفاع مستويات الهيسيدين المصلية فيمكن استخدام هذا الهرمون كواسم حيوي لقياس مدى استجابة المصابين بفقر الدم بعوز الحديد للمعالجة بالحديد الفموي.

**أهمية البحث وأهدافه :** تهدف هذه الدراسة إلى قياس مستويات الهيسيدين الأولية عند مرضى مصابين بفقر الدم بعوز الحديد وتقييم إمكانية استخدام الهيسيدينك واسم منبئ بعدم الاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي، ما يسمح بتوجيه التداخلات العلاجية بشكل سريع وفعال سواء باستخدام الحديد الفموي أو الانتقال الفوري إلى الحديد الوريدي. ما يوفر الوقت والتكلفة الطبية على المريض ، ويخفف العبء الاقتصادي الذي تسببه الفاقة الدموية على الدول.

### طرائق البحث ومواده:

ضمت هذه الدراسة التداخلية (112 مريض بالغ) تُشْتَبِه سريراً إصابتهم بفقر الدم بعوز الحديد تم اختيارهم من مشفى المواساة والتوليد الجامعيين في دمشق ما بين حزيران 2015 وحزيران 2016. وبعد أخذ الموافقة المستتيرة للدخول بالدراسة من كل مريض تم ملء الاستبيانات الخاصة بالدراسة. أُجري لجميع المرضى تعداد دم شامل (CBC) ودراسة حالة الحديد. وقد اشتملت معايير الدخول على قيمة الخضاب  $Hb \geq 11$  غ/دل إناثاً وذكوراً، ونسبة إشباع الترانسفيرين  $\geq 20\%$  والفيريتين  $\geq 100$  نغ/مل مهما كان سبب فقر الدم بعوز الحديد . ومن تحققت عنده هذه المعايير تم قياس مستوى الهيسيدين - 25 الأولي في مصله، ثم أُخضع لتجربة علاجية بالحديد الفموي لمدة 14 يوماً (غلوكونات الحديد 325 مغ/دل - 3 مرات يومياً) أي ما يعادل 100مغ من الحديد العنصري يومياً. وبعد 14 يوم من العلاج بالحديد الفموي تم إعادة التقييم الدموي والكيمائي الحيوي لحالة الحديد لاختبار الاستجابة للمعالجة. وكل من أحرز تحسناً في الخضاب قدره ( $\Delta Hb \leq 1$  غ/دل) عُد مستجيباً للمعالجة بالحديد الفموي. تراوحت الأسباب الإمرضية لفقر الدم بعوز الحديد بين النزف التالي للولادة بنسبة (51.2%) والنزف الرحمي الشاذ بنسبة (2%) والنزف الهضمي (3.6%) وأسباب متفرقة ضمت سوء التغذية وسوء الامتصاص والقرحات المتشاركة بالهاليكوباكتر بنسبة (45.1%). كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم إمكانية استخدام قيم الهيسيدين الأولية للتنبؤ بعدم الاستجابة للحديد الفموي.

1. تم إجراء تعداد دم كامل CBC لكل مريض باستخدام جهاز الدمويات الآلي سويدي المنشأ

(Medonic).

2. دراسة حالة الحديد : تم قياس حديد المصل باستخدام العتيدة (IRON – FERROZINE)

(BioSystems-(SPAIN)) والسعة الإجمالية الرابطة للحديد باستخدام العتيدة (UIBC – FERROZINE)

(BioSystems-(SPAIN)) بالطريقة اللونية على جهاز الكيمياء الآلي أمريكي المنشأ - ذي النظام المفتوح-

(ChemWell) وتم حساب نسبة الإشباع %Tsat حسب المعادلة التالية:

$$Tsat = (\text{الحديد/السعة الإجمالية الرابطة للحديد}) \times 100\%$$

3. قياس الفيريتين: أجري باستخدام تقنية (Direct ELISA) مقياساً المُمْتَزَّ المُنَاعِي المُرْتَبِط بالإنزيم-المباشرة)، المرتكزة على ارتباط الفيريتين البشري بنوعين من الأضداد وحيدة النسيلة معا، ويعتددة من شركة (DiaMetra, ITALY)

4. قياس الهبسيدين-25: أجري باستخدام بتقنية (C-ELISA) مقياساً المُمْتَزَّ المُنَاعِي المُرْتَبِط بالإنزيم- التنافسية) باستخدام أضداد فأرية وحيدة النسيلة للهبسيدين، ويعتددة (DRG® Hepcidin 25 ELISA) من شركة (DRG International, Inc., USA) وتم استخدام جهاز غاسل آلي (ApDia, ELISA Plate washer) وجهاز قارئ آلي (HUMAREADER plus).

#### الدراسة الإحصائية: تمت باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS (version:20.0)

- حساب المتوسط الحسابي والانحراف المعياري لجميع متغيرات الدراسة.
- المقارنة بين المتوسطات بتطبيق اختبار T ستودينت
- دراسة الارتباط بين الهبسيدين وواسمات حالة الحديد والمشعرات الدموية لاختبار بيرسون.
- إنشاء رُبيعات لقيم هبسيدين المصل بعد ترتيبها تصاعدياً والمقارنة بينها.
- اختبار إمكانية استخدام الهبسيدين كواسم حيوي منبئ بعدم الاستجابة باستخدام منحنى الانحدار اللوجستي.
- رسم منحنى ROC من أجل قيم الهبسيدين وحساب المساحة تحت المنحنى وحساب الحساسية والنوعية والقيم التنبؤية الإيجابية والسلبية للهبسيدين كمنبئ بعدم الاستجابة عند قيمة حدية مثلى وحساب نسبة الأرجحية التشخيصية Diagnostic odds ratio.
- عُدَّ الفرق معنوي عند قيمة  $p\text{-value} < 0.05$ .

#### النتائج:

تمت الدراسة على 112 مريض (106 إناث و6 ذكور) ممن حققوا المعايير.

#### 1. مقارنة القيم الأولية لكل من الخضاب وواسمات الحديد والهبسيدين بين مجموعة المستجيبين ومجموعة

غير المستجيبين:

(الجدول 1) يبين مقارنة بين القيم الأولية لكل من الخضاب وواسمات الحديد والهبسيدين

عند غير المستجيبين وعند المستجيبين للمعالجة بالحديد الفموي لمدة 14 يوم

المتغير	الإحصاء الوصفي	غير المستجيبين	المستجيبين	قيمة الاحتمالية P
الخضاب (غ/د.ل)	المتوسط	10.6	9.71	0.000*
	(الانحراف المعياري)	(0.78)	(1.08)	
	القيمة الدنيا، القيمة العليا	11.9 - 8.6	11.6 - 7.3	
حديد المصل	المتوسط	35.94	32.34	0.061
	(الانحراف المعياري)	(24.67)	(21.6)	
	القيمة الدنيا، القيمة العليا	103.5 - 5	92 - 6.6	
السعة الرابطة للحديد (مغ/دل)	المتوسط	387.91	468.77	0.000*

	(88.78)	(81.84)	(الانحراف المعياري)
	651 -212	692 -228	القيمة الدنيا، القيمة العليا
	نسبة الإشباع (%)		
0.428	8.31	9.31	المتوسط
	(5.82)	(6.07)	(الانحراف المعياري)
	23 -1	24.5 -1	القيمة الدنيا، القيمة العليا
	الفيريتين		
0.055	16.96	38.9	المتوسط
	(10.25)	(59.7)	(الانحراف المعياري)
	58 -5	303 -5	القيمة الدنيا، القيمة العليا
	الهيبسيدين (نغ/مل)		
	6.37	40.18	المتوسط
0.041*	(10.37)	(86.35)	(الانحراف المعياري)
	73.89 -0.77	383.1 -1.58	القيمة الدنيا، القيمة العليا

من اختبار T-student .

توزع المرضى تبعاً للاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي إلى 82 مستجيب و 30 غير مستجيب.

يتبين من الجدول (1) ما يلي :

كانت قيم الهيبسيدين أعلى ويشكل هام إحصائياً عند غير المستجيبين ( $40.18 \pm 86.35$ ) منها عند المستجيبين ( $p = 0.041$ ) ( $6.37 \pm 10.37$ ). وكانت القيم الأولية للخضاب والفيريتين في مجموعة غير المستجيبين أعلى ويشكل هام إحصائياً منها في مجموعة المستجيبين ( $p = 0.000$ ), ( $p = 0.055$ ) على الترتيب. أما القيم الأولية للسعة الرابطة للحديد فكانت أعلى ويشكل هام إحصائياً عند المستجيبين مقابل غير المستجيبين ( $468.77 \pm 88.78$  vs.  $387.91 \pm 81.84$ ,  $p = 0.000$ ). والقيم الأولية لنسبة الإشباع كانت أعلى عند غير المستجيبين مقابل المستجيبين ولكن الفرق لم يكن هام إحصائياً.

بدراسة تحسن مستوى الخضاب ( $\Delta Hb$ ) تبين أن تحسن الخضاب كان أفضل ويشكل هام إحصائياً عند المستجيبين مقابل غير المستجيبين بعد 14 يوم من المعالجة بالحديد الفموي ( $1.806 \pm 0.643$  vs.  $0.393 \pm 0.354$ ), ( $p = 0.000$ ).

2. دراسة الارتباط بين الهيبسيدين ومتغيرات الدراسة عند المستجيبين وغير المستجيبين:

(الجدول 2): يبين الارتباط بين الهيبسيدين والقيم الأولية لمتغيرات الدراسة عند مجموعة المستجيبين ومجموعة غير المستجيبين

المتغير	الإحصاء الوصفي	غير المستجيبين (30)	المستجيبين (82)	المجموعة الكلية (112)
الخضاب (غ/دل)	R	0.168	0.044	0.18
	P	0.374	0.693	0.057
حديد المصل (مغ/دل)	R	0.244	0.260*	0.137
	P	0.193	0.018	0.149

0.620**	0.431*	0.592**	R	نسبة الإشباع (%)
0.00	0.00	0.001	P	
-0.261**	-0.093	-0.304	R	السعة الرابطة (مغ/دل)
0.005	0.405	0.103	P	
0.285*	0.265*	0.446*	R	الفيريتين (مغ/مل)
0.002	0.016	0.014	P	

\*ذات دلالة إحصائية

يتبين من (الجدول 2) ما يلي :

وجود علاقة إيجابية ذات دلالة إحصائية بين الهيبسيدين والفيريتين عند غير المستجيبين والمستجيبين وعند الجمهرة ككل (R=0.446, P=0.014) و (R=0.265, P=0.016) و (R=0.285, P=0.002) علنا لترتيب .  
وجود علاقة إيجابية ذات دلالة إحصائية بين الهيبسيدين ونسبة الإشباع عند غير المستجيبين والمستجيبين وعند الجمهرة ككل (R=0.592, P=0.001) و (R=0.431, P=0.00) و (R=0.620, P=0.00) على الترتيب.  
- عند جمع المجموعتين معاً يتبين وجود علاقة سلبية ذات دلالة إحصائية بين الهيبسيدين والسعة الإجمالية الرابطة للحديد (R=-0.261, P=0.005)  
وجود علاقة موجبة ذات دلالة إحصائية بين الهيبسيدين وحديد المصل عند مجموعة المستجيبين (R=0.260, P=0.018)

### 3. مستويات الهيبسيدين وغيرها من الواسمات الدموية والمصلية بعد توزيعها إلى ربيعات:

(الجدول 3) يظهر توزيع قيم الهيبسيدين إلى ربيعات:

وسطي المتغيرات	الربع الأول	الثاني	الثالث	الرابع
الهيبسيدين	1.37±0.3	2.37±0.3	5.73±2.1	52.23±85.87
الخضاب الأولي	8.5±0.58	9.6±0.28	10.44±0.25	11.15±0.27
الخضاب بعد المعالجة	10.1±0.53	11.17±0.21	11.77±0.19	12.52±0.36
تحسن الخضاب	1.6	1.57	1.33	1.27
حديد المصل	12.57±4.14	23.56±3.31	38.62±4.53	76.01±22.42
السعة الرابطة للحديد	561.8±48.3	472.7±16.6	427.6±17.42	324.15±52.9
نسبة الإشباع	2.6±0.9	5.53±1.1	8.74±1.51	17.46±3.05
الفيريتين	7.1±2	13.57±1.35	18±1.56	52.71±56.83

يظهر في (الجدول 3) أن هيبسيدين المصل في الربع الرابع أعلى مقارنة بالربع الأول، إضافة لمستويات أعلى من الفيريتين والحديد ونسب الإشباع. لم يحقق مرضى الربع الرابع الزيادة التي حققها مرضى الربع الأول في مستويات الخضاب متوافقاً مع صحة أن مستوى الهيبسيدين المرتفع يعيق امتصاص الحديد.

#### 4. هل يمكن للهيبسيدين أن يتنبأ بعدم الاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي؟

تمت دراسة تأثير الهيبسيدين في عدم الاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي (نعم /لا) وبالتالي دراسة إمكانية تنبؤ الهيبسيدين باحتمالية عدم الاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي باستخدام تحليل الانحدار اللوجستي ( Logistic Regression analysis) كما يظهر (الجدول 4) . تبين أن الهيبسيدين يتنبأ بعدم الاستجابة للحديد الفموي وبشكل هام إحصائياً ( $P=0.016$ ). وقد تنبأ النموذج السابق أن كل زيادة مقدارها 1 وحدة من الهيبسيدين يقابلها احتمال نقص تحسن الخضاب بمقدار 0.039 غ/د.ل  $=1-0.961$ ).

(الجدول 4): من تحليل الانحدار اللوجستي للهيبسيدين

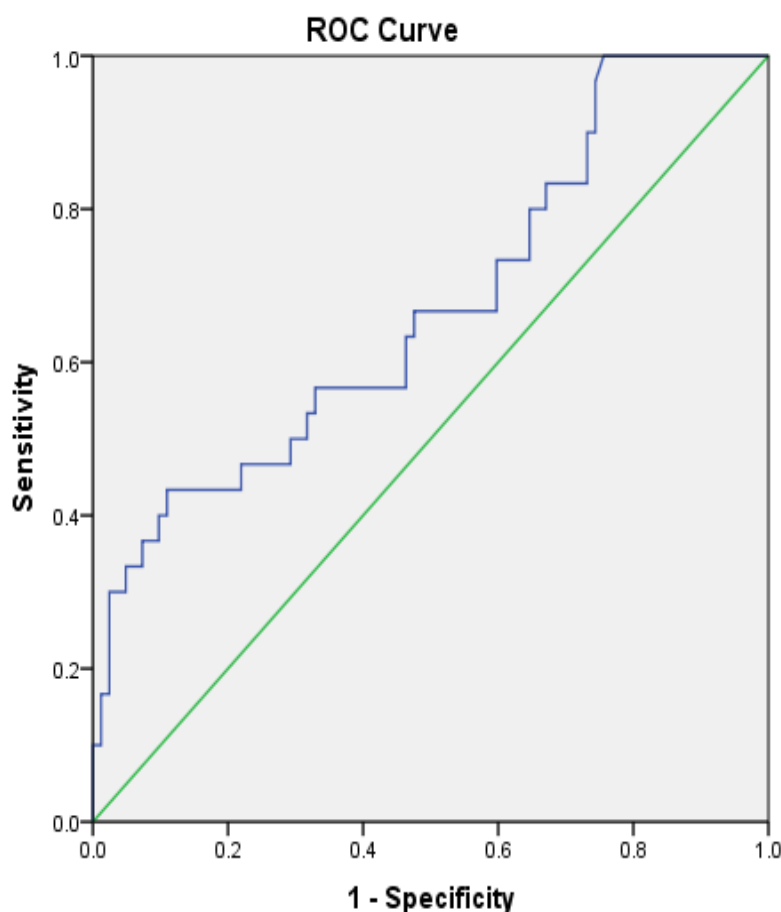
		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 <sup>a</sup>	HEP	-.040	.017	5.812	1	.016	.961
	Constant	1.481	.278	28.287	1	.000	4.397

a. Variable(s) entered on step 1: HEP.

#### منحني خاصية المشغل المتلقي (Receiver Operator Characteristic curve)

لمزيد من البحث في القدرة التنبؤية للهيبسيدين تم رسم منحني خاصية المشغل المتلقي ROC، وهو مخطط من الإيجابيات الكاذبة مقابل الإيجابيات الحقيقية لكل القيم الحدية. (علماً أن المساحة تحت المنحني للاختبار المثالي هي 1 ولاختبار غير مفيد هي 0.5، وقياس المساحة تحت المنحني  $AUC_{ROC}$  هي قياس كلي مفيد لمضبوطية الاختبار). في دراستنا بلغت المساحة تحت المنحني للهيبسيدين  $AUC_{ROC} (0.671) (P= 0.006 < 0.05)$  وبنسبة 95% يكون مجال القيمة هو [0.554, 0.788] (الشكل 1). إذاً فالهيبسيدين منبئ بعدم الاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي ولكنه منبئ ضعيف (المساحة تحت المنحني  $> 0.7$ ). وقد تفوق الهيبسيدين على كل من الفيريتين ونسبة الإشباع حيث جاءت قيمة المساحة تحت المنحني للفيريتين (0.594) ولنسبة الإشباع (0.562).





Diagonal segments are produced by ties.

(الشكل 1) يوضح المساحة تحت المنحني للهيبيديين

من منحني ROC تم حساب القيمة الحدية الهيبيديين التي تحدد عدم الاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي وكانت القيمة المثالية 14.3 نغ/مل بحساسية 40% ونوعية 90.2% وقيمة تنبؤية إيجابية 60% وقيمة تنبؤية سلبية 80%.

من 30 مريض ممن لم يستجيبوا للمعالجة بالحديد الفموي فإن قيمة الهيبيديين (14.3) نغ/مل: كشفت 12 مريضاً (40%) إيجابي حقيقي وفشلت في كشف 18 مريضاً (60%) سلبى كاذب.  
من 82 مريض ممن استجابوا للمعالجة بالحديد الفموي فإن قيمة الهيبيديين (14.3) نغ/مل: كشفت 74 مريضاً (90.2%) سلبى حقيقي وفشلت بكشف 8 مريضاً (9.8%) إيجابي كاذب.  
وبحساب نسبة الأرجحية التشخيصية (Diagnostic odds ratio) وهو مصطلح يستعمل للإشارة إلى جدوى الاختبارات (نسبة الأرجحية = الحساسية/1-النوعية)، إذا كانت هذه النسبة < 1 فهذا يعني أن الاختبار مميز بشكل صحيح وهذا مفضل. بلغت هذه النسبة عند قيمة 14.3 نغ/مل (4.081) ما يعني أن الهيبيديين أكثر احتمالاً (رجحاناً) 4.081 مرة للتنبؤ بعدم الاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي نسبة لعدم قدرته على التنبؤ.

## المناقشة:

كانت قيم الهيسيدين أعلى وبشكل هام إحصائياً عند غير المستجيبين منها عند المستجيبين ( $p = 0.041$ ). كما كانت الزيادة في مستوى الخضاب ( $\Delta Hb \leq 1$  غ/دل) أكبر عند المستجيبين مقابل غير المستجيبين بعد 14 يوم من المعالجة بالحديد الفموي ( $p=0.000$ ). وجدنا أن القيم الأولية الهيسيدين-25 التي تنبئ بعدم الاستجابة كانت  $< 14.3$  نغ/مل (الحساسية 40% والنوعية 90.2% والقيمة التنبؤية الإيجابية 60%)، وقد تفوق الهيسيدين على كل من الفيريتين ونسبة الإشباع حسب منحنيات ROC. توصلت دراسة أمريكية [21] شملت 240 مصاب بفقر الدم بعوز الحديد مع قيم للفيريتين تصل إلى 100 نغ/مل إلى نتائج متماثلة وكانت القيمة  $< 20$  نغ/مل للهيسيدين 25 منبئة بعدم الاستجابة للحديد الفموي (الحساسية 41.3% والنوعية 84.4% والقيمة التنبؤية الإيجابية 81.6%). في حين بينت دراسة يابانية [22] شملت مرضى للتحال الدموي المعالجين بمكملات الحديد أن قيمة الهيسيدين  $< 12.5$  نغ/مل (الحساسية 81.3% والنوعية 61.8%) هي القيمة المثالية للتنبؤ بالاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي.

في دراسة الارتباط بين الهيسيدينوواسمات حالة الحديد تم توثيق ارتباط إيجابي بين الهيسيدين والفيريتين في دراستنا ( $R=0.285, P=0.002$ ) وفي دراسات عديدة سابقة [21, 23]، وارتباط إيجابي بين الهيسيدين ونسبة الإشباع ( $R=0.62, P=0.00$ ) كما في دراسات سابقة [21] [24, 25].

تنبأ الهيسيدين بعدم الاستجابة للحديد الفموي وبشكل هام إحصائياً ( $P=0.016$ ). وقد تنبأ نموذج الانحدار اللوجستي أن كل زيادة مقدارها 1 وحدة من الهيسيدين يقابلها احتمال نقص تحسن الخضاب بمقدار 0.039 غ/دل (0.961-1). مقارنةً بمقدار 0.028 غ/دل (0.972-1) حسب دراسة باكستانية [26].

**الهيسيدين منبئ بعدم الاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي ولكنه منبئ ضعيف (poor) حسب قيمة  $AUC_{ROC}$  حيث المساحة تحت المنحني ( $0.67$ )  $> 0.7$  حسب دراستنا، وهذا يتفق مع الدراسة الأمريكية حيث بلغت المساحة تحت المنحني للهيسيدين ( $0.69$ ) بالمقارنة مع دراسة باكستانية [26] أوضحت أن الهيسيدين المصلي هو منبئ حيوي متواضع (moderate) للاستجابة للمعالجة بالحديد الفموي حيث بلغت المساحة تحت المنحني ( $0.73$ )، وتمائل قيمتها في الدراسة اليابانية حيث المساحة تحت المنحني ( $0.728$ ). وفي دراسة على أطفال أفارقة تبيّن أن الهيسيدين هو المنبئ الأهم للاستخدام الفعال للحديد المُحدّد باندخال الحديد ضمن الكرية الحمراء ورغم الإشارات التنافسية (فقر الدم وعوز الحديد والخمج) فالهيسيدين يضبط بقوة استخدام الحديد من الغذاء حسب الدراسة [27]. وفي جمهرة مختلفة ضمت 129 مريض مصاب بالقصور الكلوي المزمن في دراسة بريطانية تم تأكيد أن الهيسيدين 25 يتنبئ بمقدار تحسن الخضاب التالي للمعالجة ببيروتوكولات تسريب الحديد الوريدي [24].**

إذاً الجهود المستقبلية فيما يخص الهيسيدين قد تتضمن إدخاله في تصميم نظم علاجية فعالة باستخدام الحديد .

## الاستنتاجات والتوصيات:

- إن تحسن الخضاب بعد تناول الحديد الفموي بجرعات منخفضة من غلوكونات الحديد (المعتمدة في دراستنا) ولمدة 14 يوماً كان أفضل عند المرضى ذوي الهيسيدين المنخفض مقارنة بذوي الهيسيدين المرتفع.
- يمكن لقيم الهيسيدين-25 الأولية أن تنبئ بالمرضى الذين لن يستجيبوا للمعالجة بالحديد الفموي، ما يجعل المعالجة بالحديد الفموي أمر غير مرغوب وغير ضروري عند هؤلاء المرضى المصابين بفقر الدم بعوز الحديد ويوجه المعالجة لاستخدام مستحضرات الحديد الوريدية دون إبطاء .

لذلك نوصي:

1. باعتماد قياس الهيسيدين المصلي كاختبار ما قبل المعالجة بالحديد .
2. إجراء المزيد من الدراسات وبأعداد أكبر من المرضى للمقارنة مع ما توصلنا إليه من نتائج وإثبات أن الهيسيدين قد يكون مفيد لتدبير اضطرابات الحديد بشكل فعال.

### المراجع:

1. ZIMMERMANN, M.B. and R.F. HURRELL. Nutritional iron deficiency. *The Lancet*, 370(9586), 2007, p. 511-520.
2. CLARK, S.F. Iron deficiency anemia: diagnosis and management. *Current opinion in gastroenterology*, 25(2), 2009, p. 122-128.
3. KASSEBAUM, N.J., et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood*, 123(5), 2014, p. 615-624.
4. CAMASCHELLA, C. Iron-deficiency anemia. *N Engl J Med*, 2015(372), 2015, p. 1832-1843.
5. JOHNSON-WIMBLEY, T.D. and D.Y. GRAHAM, Diagnosis and management of iron deficiency anemia in the 21st century. *Therapeutic advances in Gastroenterology*, 2011: p. 1756283X11398736.
6. PASRICHA, S.-R., et al. Diagnosis and management of iron deficiency anaemia: a clinical update. *Med J Aust*, 193(9), 2010, p. 525-32.
7. MAST, A.E., et al. Clinical utility of the soluble transferrin receptor and comparison with serum ferritin in several populations. *Clinical chemistry*, 44(1), 1998, p. 45-51.
8. THOMAS, D.W., et al. Guideline for the laboratory diagnosis of functional iron deficiency. *British journal of haematology*, 161(5), 2013, p. 639-648.
9. IOLASCON, A., L. De FALCO, and C. BEAUMONT. Molecular basis of inherited microcytic anemia due to defects in iron acquisition or heme synthesis. *haematologica*, 94(3), 2009, p. 395-408.
10. CAMASCHELLA, C. Iron and hepcidin: a story of recycling and balance. *ASH Education Program Book*, 2013(1), 2013, p. 1-8.
11. KEMNA, E.H., et al. Hepcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica*, 93(1), 2008, p. 90-97.
12. RISHI, G., D.F. WALLACE, and V.N. SUBRAMANIAM. Hepcidin: regulation of the master iron regulator. *Bioscience reports*, 35(3), 2015, p. e00192.
13. GANZ, T. Systemic iron homeostasis. *Physiological reviews*, 93(4), 2013, p. 1721-1741.
14. ZHAO, N., A.-S. ZHANG, and C.A. ENNS. Iron regulation by hepcidin. *The Journal of clinical investigation*, 123(6), 2013, p. 2337-2343.
15. LEMOS, A.d.R., et al. Hepcidin as a biochemical parameter for the assessment of iron deficiency anemia. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 56(5), 2010, p. 596-599.
16. WISH, J.B. Assessing iron status: beyond serum ferritin and transferrin saturation. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 1(Supplement 1), 2006, p. S4-S8.

17. VANSANTEN, S., et al. Heparidin and hemoglobin content parameters in the diagnosis of iron deficiency in rheumatoid arthritis patients with anemia. *Arthritis & Rheumatism*, 63(12),2011, p. 3672-3680.
18. BERGAMASCHI, G., et al. Intestinal expression of genes implicated in iron absorption and their regulation by hepcidin. *Clinical Nutrition*, 2016.
19. YOUNG, M.F., et al. Serum hepcidin is significantly associated with iron absorption from food and supplemental sources in healthy young women. *The American journal of clinical nutrition*, 89(2), 2009, p. 533-538.
20. REDDI, C. Next-generation nutritional biomarkers to guide better health care. *European Journal of Histochemistry: EJH*, 60(2),2016.
21. BREGMAN, D.B., et al. Heparidin levels predict nonresponsiveness to oral iron therapy in patients with iron deficiency anemia. *American journal of hematology*, 88(2), 2013, p. 97-101.
22. TAKASAWA, K., et al. Heparidin-25, mean corpuscular volume, and ferritin as predictors of response to oral iron supplementation in hemodialysis patients. *Nutrients*, 7(1),2014, p. 103-118.
23. ASHBY, D.R., et al. Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney international*, 75(9),2009, p. 976-981.
24. CHAND, S., et al. Serum hepcidin-25 and response to intravenous iron in patients with non-dialysis chronic kidney disease. *Journal of nephrology*, 28(1),2015, p. 81-88.
25. EGUCHI, A., et al. Serum hepcidin levels and reticulocyte hemoglobin concentrations as indicators of the iron status of peritoneal dialysis patients. *International journal of nephrology*, 2012,2012.
26. FARRUKH, G.M., et al. Serum hepcidin-25: A predictor of response to oral therapy. *Pakistan journal of medicine and dentistry*, 5(3),2016, p. 21-26.
27. PRENTICE, A.M., et al. Heparidin is the major predictor of erythrocyte iron incorporation in anemic African children. *Blood*, 119(8), 2012, p. 1922-1928.