



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الطب البشري

قسم الأورام

عنوان الرسالة:

علاقة التعدد الشكلي لجين NUDT15 بعدم تحمل جرعات 6-Mercaptopurine عند

المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد

أطروحة مقدمة لنيل درجة الدكتوراه في طب الأورام

إعداد طالب الدكتوراه:

محمد محمد

بإشراف:

المشرف: أ.م. د. ماهر سيفو

أستاذ مساعد في كلية الطب البشري بجامعة دمشق

المشرف المشارك: أ.م. د. مجد الجمالي

أستاذ مساعد في كلية الصيدلة بجامعة دمشق

العام الميلادي: 2022م

Approval Page قرار لجنة الحكم

تصريح:

أصرح بأن البحث الموصوف في الأطروحة بعنوان (علاقة التعدد الشكلي لجين NUDT15 بعدم تحمل جرعات Mercaptopurine-6 عند المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد) لا يحتوي أي جزء أُخذَ بالكامل من عمل آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في هذه الجامعة أو جامعة أخرى أو أي معهد تعليمي وأن كافة الأعمال والنتائج المذكورة هي نتيجة مجهود شخصي وبتوجيه من الأستاذ المشرف، وأن أية معلومات أو نتائج أخرى ذكرت قد نسبت إلى مصادرها ومؤلفيها في النص وفي قائمة المراجع.

الفهرس:

6.....	فهارس الوسائل الإيضاحية والإجرائية في البحث
11.....	ملخص الدراسة
13.....	الجزء التمهيدي:
	• المقدمة • الإشكالية البحثية • التساؤلات • الفرضيات والمسلمات • أهداف البحث • أهمية ومبررات البحث • حدود البحث • الدراسات السابقة • مناهج البحث وأدواته • مكونات البحث
	الجزء الأول: القسم النظري
23.....	الفصل الأول: الالبيضاخ اللمفاوي الحاد
23.....	• لمحة تاريخية وتعريف
24.....	• الوبائيات
25.....	• الآلية الإمراضية
26.....	• عوامل الخطورة
27.....	• الإمراضية الجزئية
28.....	• التظاهرات السريرية
33.....	• التشخيص
37.....	• الشذوذات المخبرية
38.....	• متلازمة الانحلال الورمي
42.....	• التنميط المناعي
45.....	• العوامل الإنذارية
50.....	• التدبير
62.....	الفصل الثاني: دواء الميركابتوبورين 6-mercaptopurine
64.....	• علم الجينات الدوائي فيما يتعلق باستقلاب الميركابتوبورين:

71..... الفصل الثالث: إنزيم وجين NUDT15

73..... • تأثير التعدد الشكلي لجين NUDT15 على عدم تحمل الميركاتوبورين

77..... • اختلاف نسب التعدد الشكلي لجين NUDT15 بين الأعراق

78..... الفصل الرابع: الدراسات المحلية والعالمية

الجزء الثاني: القسم العملي

الفصل الأول:

82..... • خلفية البحث وأهميته

82..... • أهداف البحث

83..... • تصميم البحث وطرائقه

84..... • طريقة العمل

88..... • تحليل البيانات

88..... • تعاريف عملية

90..... • الاعتبارات الأخلاقية

90..... • الموارد المتاحة

الفصل الثاني:

النتائج:

91..... • صفات المرضى والتعدد الشكلي للجين المدروسة

99..... • دراسة العلاقة بين التعدد الشكلي لجين NUDT15 وسمية الميركاتوبورين

101..... • العلاقة بين التعدد الشكلي لجين NUDT15 والحساسية لمركبات البورين 6-MP

103..... المناقشة

106..... تأطير الإضافة العلمية وتقييمها

الخاتمة:

106..... • مقارنة بين نتائج دراستنا ونتائج الدراسات المحلية والعالمية

110..... • محددات الدراسة

110..... • الاستنتاجات

111..... • التوصيات

112..... المراجع

117..... الملاحق

فهارس الوسائل الإيضاحية والإجرائية في البحث:

قائمة الجداول		
رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
1	تصنيف الأعراض عند مرضى الابيضاض الذين لديهم فرط كريات بيض	35
2	أهم أصناف الابيضاض للمفاوي الحاد وذلك بحسب التتميط المناعي	42
3	أهم المستضدات (الواسمات المناعية) الموجودة بخلايا الابيضاض للمفاوي الحاد	43
4	أهم الازفاءات والشذوذات الجينية الجزيئية في الابيضاض للمفاوي الحاد	44
5	تصنيف FAB للابيضاض للمفاوي الحاد	44
6	ربط الشذوذات الصبغية مع إنذارية المرض	48
7	ربط تعداد الصبغيات مع إنذارية المرض	49
8	تصنيف المرضى الأطفال المصابين بالابيضاض للمفاوي الحاد حسب عوامل الخطورة	50
9	أهم التعدادات الشكلية للجينات المرتبطة بسميات مركبات البورين في علاج الابيضاض للمفاوي الحاد عند الأطفال	68
10	الجينات التي أخذت موافقة لإجرائها من مستوى 1-2 من قبل PharmGKB	71
11	يوضح تكرار الأليل في دراسة كورية	73
12	يوضح نسب انتشار الأليلين في الدراسة الكورية	74
13	نسب السمية الدوائية عند مختلف نماذج الأليلات للطفرة 3*NUDT15	74
14	الاختلاف في تواتر الأليل الطافر بين مختلف الأعراق	78
15	نسب توزيع مرضى الدراسة بحسب النمط الجيني لجين NUDT15	91
16	نسب توزيع مرضى الدراسة بحسب الجنس	92
17	متوسط أعمار المرضى بحسب النمط الجيني لجين NUDT15	93
18	متوسط مشعر كتلة الجسم بحسب النمط الجيني لجين NUDT15	93
19	نسب توزيع مرضى الدراسة بحسب النمط المناعي للمرض	94
20	نسب توزيع مرضى الدراسة بحسب بروتوكول المعالجة المتبع	95
21	نسب توزيع مرضى الدراسة بحسب خطورة المرض	95
22	نسب توزيع مرضى الدراسة بحسب تطور نقص كريات بيض + متوسط الزمن اللازم لحدوث نقص كريات بيض	96
23	نسب توزيع مرضى الدراسة بحسب تطور نقص بالصفائح + متوسط الزمن اللازم لحدوث نقص بالصفائح	97
24	نسب توزيع مرضى الدراسة بحسب تطور سمية كبدية	97
25	نسب توزيع مرضى الدراسة بحسب تطور حاصة	97

26	نسب توزع مرضى الدراسة بحسب تطور الحرارة	98
27	نسب توزع مرضى الدراسة بحسب تطور الطفح	98
28	نسب توزع مرضى الدراسة بحسب تطور انقطاع عن المعالجة	98
29	نسب توزع مرضى الدراسة بحسب شدة جرعة المركابتوبورين	99
30	العلاقة بين النمط الجيني لجين NUDT15 وتطور نقص كريات بيض	100
31	العلاقة بين النمط الجيني لجين NUDT15 وتطور سمية كبدية	100
32	العلاقة بين النمط الجيني لجين NUDT15 وتطور انقطاع عن المعالجة	101
33	العلاقة بين النمط الجيني لجين NUDT15 وشدة جرعة المركابتوبورين	102
34	مقارنة بين دراستنا ودراسة لبنانية	106
35	مقارنة بين دراستنا ودراسة في شمال العراق	107
36	مقارنة بين دراستنا ودراسة شرق آسيوية	109
37	مقارنة بين دراستنا ودراسة أمريكية	109

قائمة الأشكال والرسوم البيانية		
رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
1	مخطط يوضح سبيل استقلاب مركبات البورين	40
2	مخطط يوضح مقارنة بالبقيا الإجمالية بين الأطفال والبالغين	47
3	مخطط يوضح استقلاب مركبات البورين بالجسم	64
4	مخطط يوضح آلية عمل إنزيم NUDT15	72
5	شكل يوضح توزع المرضى بحسب المحافظات السورية	92
6	شكل يوضح النسب المئوية لتطور تأثيرات جانبية عند مرضى الدراسة	99
7	شكل يوضح العلاقة بين التعدد الشكلي لجين NUDT15 وتطور تأثيرات جانبية عند مرضى الدراسة المستخدمين لمركبات البورين	101
8	شكل يوضح العلاقة بين التعدد الشكلي لجين NUDT15 وشدة جرعة المركابتوبورين	102

قائمة الصور		
رقم الصورة	عنوان الصورة	رقم الصفحة
1	بزل نقي عند شخص مصاب بالبيضاض لمفاوي حاد	24
2	طبقي محوري للرئة توضح الارتشاحات عند شخص مصاب بالابيضاض	31

32	طبقي محوري للدماغ توضح الارتشاح السحائي	3
34	لطاخة محيطية توضح الابيضاض اللمفاوي الحاد	4
34	بزل نقي توضح الابيضاض اللمفاوي الحاد	5
77	النماذج الطافرة على مستوى تركيب الحموض الأمينية للإنزيم NUDT15	6
87	الرحلان الكهربائي على هلام الأغاروز + السلسلة المجرة لقطع amplicon	7

List of Abbreviation (قائمة الاختصارات)	
6-MP	6-Mercaptopurine
ALL	Acute Lymphoblastic Leukemia
ARID5B	AT-rich interactive domain – containing protein 5B
AML	Acute Myeloid Leukemia
ARDS	Acute respiratory distress syndrome
AF4	All1-fused gene from chromosome 4
AMP	Adenylic acid monophosphate
ABCC4	ATp binding cassette subfamily C member 4
ALT	Alanine transaminase
AST	Aspartate transaminase
BSA	Body Surface Area
BCR	B – cell receptor
CDKN2A	Cyclin -dependent kinase inhibitor 2A
CEBPE	CCAAT/enhancer binding protein
CALLA	Common acute lymphoblastic leukemia antigen
CD	Cluster of Differentiation
CR	Complete Response
CT	Computed Tomography
DIC	Disseminated intravascular coagulation
DNA	Deoxyribonucleic acid
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
ECG	Electrocardiography
FDP	Fibrin degradation product
FAB	French - American- British
GFR	Glomerular filtration rate
GSTM1	Glutathione-S-transferase Mu 1
GNMT	Glycine-N-methyltransferase
HGPRT	Hypoxanthine – guanine Phosphoribosyl transferase
IGH	Immunoglobulin heavy
IKZF1	Ikaros family zinc finger protein 1
IL3	Interleukin 3
IMP	Inosinic acid monophosphate
ITPA	Inosine triphosphate pyrophosphate
LBL	Lymphoblastic leukemia
LDH	Lactate dehydrogenase
MLL	Mixed – lineage leukemia
MAF	Minor Allele frequency
MPAL	Mixed phenotype acute leukemia
MRD	Minimal residual disease
MRI	Magnetic resonance imaging
MRA	Magnetic resonance angiography
NUDT15	Nudix hydrolase 15
NF-KB	Nuclear factor Kappa-light-chain
NOS	Not otherwise specified
NuP214	Nucleoporin 214
OR	Odd ratio
PGx	Pharmacogenetics
PCR	Polymerase chain reaction
PIP4k2A	Phosphatidylinositol- 5 – phosphate 4- kinase type 2 alpha

PT	Prothrombin time
PTT	Partial thromboplastin time
PNPLA3	Palatin- like phospholipase domain containing protein 3
RUNX1	Runt-related transcription factor 1
SD	Standard deviation
SNP	Single nucleotide polymorphism
SLCO1B1	Solute carrier organic anion transporter family member 1B1
ScFv	Single chain variable fragment
TGMP	Thioguanosine monophosphate
TGTP	Thioguanosine triphosphate
TP53	Tumor protein p53
TEL	Translocation-Ets-leukemia
TLX1	T-cell leukemia homeobox protein 1
TAL1	T-cell acute lymphocytic leukemia protein 1
TdT	Terminal deoxynucleotidyl transferase
TLS	Tumor lysis syndrome
TCR	T-cell receptor
TKI	Tyrosine kinase inhibitor
TIMP	Thio-inosine monophosphate
TPMT	Thiopurine -S-methyltransferase
XMP	Xanthylic acid monophosphate

ملخص الدراسة:

خلفية وهدف الدراسة: يعد الابيضاض اللمفاوي الحاد من أشيع الأورام عند الأطفال، عالمياً وفي الشرق الأوسط. بالرغم من التقدم الكبير الذي حققناه في علاج مرضى الابيضاض ونسب الشفاء العالية خاصة عند الأطفال، لكن لا زلنا نعانى من السميات المتكررة خاصة النقية منها والتي تحدث بنسب متفاوتة بين الأفراد وتعزى بالأغلب لأسباب جينية. لذلك سوف يكون هدف دراستنا معرفة تأثير التعدد الشكلي لجين NUDT15 في حدوث سمية بالمركابتوبورين عند المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد، بالإضافة إلى دراسة نسبة انتشار طفرة NUDT15 عند عينة من المرضى السوريين.

مرضى وطرائق الدراسة: ضمت هذه الدراسة الراجعة كل المرضى المشخص لديهم ابيضاض لمفاوي حاد والذين وصلوا لمرحلة الصيانة من المعالجة (على الأقل 6 شهور). بدأت الدراسة من كانون الأول عام 2018 حتى آيار 2020 في ثلاثة مواقع في دمشق، سورية، حيث عالجتنا الأطفال منخفضي ومتوسطي الخطورة ببروتوكول EORTC 58951، بينما عالجتنا الأطفال عاليي الخطورة ببروتوكول St Jude Total XV. أما بالنسبة للمرضى البالغين فُعولجوا بأحد البروتوكولين التاليين: HyperCVD أو GR-ALL وذلك حسب ما يرغب الأخصائي المعالج. جُمِعت عينات دم المرضى بأنابيب EDTA المضادة لتخثر الدم، واستخدمت مرئسات خاصة لكشف جين NUDT15 وتضخيمها، حيث احتوت قطع الدنا المضخمة على 450 ثنائي من النيكليوتيدات، ثم أُجريت سَلْسَلَة للقطع السابقة لمعرفة النمط الشكلي لكل مريض من الجين المدروسة، وبالتالي معرفة نسبة تكرار كل أليل على حدة لدى المجتمع السوري. لقد أُجريت تحاليل خاصة لكشف جين NUDT15 ذات الرقم rs116855232، كما رُبط التعدد الشكلي للجين السابقة مع العوامل الآتية: شدة جرعة المركابتوبورين، نقص الكريات الباكر، السمية الكبدية، الانقطاع عن المعالجة.

نتائج الدراسة: ضمت الدراسة 107 مريض (54.21 % منخفضي الخطورة، 33.64 % متوسطي الخطورة، 12.15 % عالي الخطورة)، حيث وجد النمط الجيني TC عند 6 مريض بنسبة (5.6 %)، أما النمط الجيني TT فقد وجد عند مريض واحد بنسبة (0.93 %)، أما نسبة تكرار الألائل فكانت كالتالي: ($C = 0.962$, $T = 0.037$). كانت شدة جرعة المركابتوبورين على الشكل التالي: 82.61 %، 56.90 %، 4.99 % للنماذج الجينية CC، TC، TT على التوالي ($P = 0.0071$). لقد وجدت علاقة مهمة بين نقص المعتدلات الباكر والتعدد الشكلي لجين NUDT15 (TT أو TC) ($OR = 8.92$ (95% CI = 1.79 – 44.48) ($P = 0.012$). لم نجد أيًا من المرضى يمتلك تعددًا شكليًا طافرًا ولديه ارتفاع في خمائر الكبد.

الاستنتاج: إن نسب حدوث التعدد الشكلي لجين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 لدى المجتمع السوري مختلف وبشكل أعلى للشكل الطافر عن المجتمعات المجاورة. لقد أكدت دراستنا علاقة التعدد الشكلي لجين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 مع السمية الدموية المحرصة بالمركابتوبورين، كما أكدت الدراسة عدم وجود علاقة مع السمية الكبدية في عينة من مرضى المجتمع السوري المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد.

الكلمات المفتاحية: التعدد الشكلي لجين NUDT15، الابيضاض اللمفاوي الحاد، سمية المركابتوبورين، السمية النقوية.

الجزء التمهيدي:

المقدمة:

يعد الالبيضاخ المفراوي الحاد أكثر الالبيضاخات شيوعاً عند الأطفال، وقد أسهمت التطورات العلاجية الحديثة في شفاء النسبة العظمى منهم (حيث تحققت هودة تامة مستمرة عند 85% من المرضى)، بينما كان علاج المرض عند البالغين أقل نجاحاً بتحقيق الشفاء وذلك بنسبة (25 – 40%). (Vaitkeviciene et al.,2013)

يتظاهر الالبيضاخ المفراوي الحاد عادة بشكل متروّج من خلال أعراض وعلامات تعكس الإصابة النخوية وخارج النخوية، حيث تتظاهر معظم الحالات بارتفاع كريات ببيض بدئي والذي يعد عاملاً إنذارياً مهماً في الالبيضاخ المفراوي الحاد، ويرتبط في كثير من الأحيان مع نسبة مراضة ووفيات عالية نتيجة زيادة لزوجة الدم في الأوعية وترافقها مع إضرابات استقلابية هامة. (Kong et al.,2014)

يعد العلاج الكيميائي حجر الأساس في علاج مرضى الالبيضاخ، حيث يتلقى المريض مجموعة من الأدوية الكيميائية والتي تؤثر في الخلايا السرطانية بآليات مختلفة. يتضمن العلاج ثلاث مراحل: مرحلة هجومية (Induction treatment) هدفها الدخول في هدأة، تتبعها بمرحلة أخرى لتعزيز الهودة يطلق عليها اسم المرحلة المكثفة (consolidation phase)، ثم المتابعة أخيراً بمرحلة الصيانة (maintenance phase). إن الهدف من مرحلة الصيانة القضاء على بقايا الخلايا الورمية والتي لم يُقضى عليها في المرحلتين السابقتين (المرحلة الهجومية ومرحلة التعزيز)، تتراوح مدة هذه المرحلة بين 3 سنوات عند الذكور وستين عند الإناث والبالغين. إن الأدوية التي تُستخدم في مرحلة الصيانة: العلاج الفموي اليومي بالمركابتوبورين Mercaptopurine، العلاج الفموي الأسبوعي بالميثوتريكسات Methotrexate، والعلاج الشهري الوريدي بالفنكريستين Vincristine. (Moss,2015)

تعد مركبات البورين (6-mercaptopurine) من الأدوية المضادة للاستقلاب anti-metabolite drug، وهو يقلب في الجسم إلى 6-thioguanine triphosphate (6-TGTP) والتي تندمج بدورها مع DNA

وتحرض بدورها على تدمير الحموض النووية مما يؤدي إلى توجيه الخلية نحو الموت الخلوي المبرمج. (Moriyama et al.,2017)

لوحظ وجود اختلاف في التأثيرات الجانبية وشدتها عند إعطاء دواء 6-mercaptopurine عند مرضى لديهم صفات سريرية متشابهة، ويتبعون نفس الخطة العلاجية، مما يوجه لوجود اختلاف جيني يؤثر في استقلاب الدواء.

يوجد كثير من التعدادات الشكلية لجينات معينة لها دور مهم في استقلاب مركبات البورين. كما يمكن أن تؤثر بشكل مباشر في سمية الدواء وفي الفعالية الدوائية المضادة للورم. تم التعرف على كثير من التعدادات الشكلية single nucleotide polymorphism (SNPs) لجينات تؤدي دوراً في التأثير على الفعالية الاستقلابية لإنزيمات معينة والتي تقود بدورها إلى تراكم كثير من مستقلبات thioguanine nucleotides محرضة للسمية الدموية. (Zgheib et al.,2017)(Pui et al.,2015)

تعدّ جين 15 nudix hydrolase (NUDT15) منظماً سلبياً لإنزيم nucleotide- diphosphatase، والذي يقوم بقلب TGTP إلى TGMP وهو المسؤول الأكبر عن تعطيل مستقلبات Thiopurine. (Genet,2016) أُجريت سلسلة (sequencing) لجين NUDT15 عند مرضى يتلقون العلاج ب 6-MP. إن التعداد الشكلي لجين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 (c415c>T) يقود إلى تغير الحمض الأميني أرجنين في الموقع 139 إلى سيمستئين. يؤدي التغير السابق إلى عدم استقرار على مستوى البروتين ونقصان في الفعالية الإنزيمية، مما يؤدي إلى تجمع في مركبات thioguanine. (Yinet al.,2017) (Genet,2016)

ذكر وجود ألائل متجانسة (homozygous alleles) ومتخالفة اللواقحة (heterozygous alleles) لطفرة جين $NUDT15^{R139C}$ حيث يقود وجود الألائل السابقة إلى سمية شديدة عند استعمال 6-MP، حيث يرفع وجود الألائل غير المتجانسة احتمالية تطور تأثيرات جانبية إلى 13.4 ضعف، كما يرفع وجود الألائل المتجانسة الاحتمال السابق إلى 807 ضعف. (Kakuta et al.,2018) (Tatsumi et al.,2020)

تختلف نسبة تكرار التعدد الشكلي الطافر لجين NUDT15 بين الشعوب، حيث تشكل 10% عند مجتمعات شرق آسيا 7% عند مجتمعات جنوب آسيا واللاتينيين، وأقل من 1% عند الأوروبيين والأفارقة. (Ann L Coker, 2017)

الإشكالية البحثية:

لازال الكثير من المرضى يعانون من السميات الناتجة عن الأدوية والتي قد تجبرنا إلى تخفيض جرعات الأدوية أو إيقافها مما يعرض المرضى لخطر النكس. من أهم التأثيرات الجانبية للأدوية والتي يمكن أن تحدث في أثناء المعالجة: السمية النقية والسمية الكبدية. لوحظ وجود اختلاف في التأثيرات الجانبية وشدها عند إعطاء دواء 6-mercaptopurine عند مرضى لديهم صفات سريرية متشابهة، ويتبعون نفس الخطة العلاجية، مما وجّه لوجود اختلاف جيني يؤثر في استقلاب الدواء.

التساؤلات:

- ما تأثير التعدّد الشكلي لجين NUDT15 في حدوث سميّة بالمركابتوبورين عند المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد؟
- ما هي نسبة انتشار طفرة جين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 في المجتمع السوري؟
الفرضيات والمسلمات:
- إنّ التعدّد الشكليّ لجين NUDT15 له علاقة بحدوث سمية بالمركابتوبورين عند المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد.
- تختلف نسبة انتشار طفرة جين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 عند مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد في المجتمع السوري عن نسبة الانتشار في المجتمعات المجاورة بشكل خاص وعن الأعراق الأخرى بشكل عام.

أهداف البحث:

- معرفة تأثير التعدّد الشكليّ لجين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 في حدوث سميّة بالمركابتوبورين عند المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد
- معرفة نسبة انتشار طفرة NUDT15 ذات الرقم rs116855232 في المجتمع السوري
- حساب وسطي شدة الجرعة (dose intensity) وذلك بالاعتماد على النمط الجيني لجين NUDT15 المدروسة.

أهمية ومبررات البحث:

إنّ الابيضاض اللمفاوي الحاد هو أشيع سرطان عند الأطفال، وما زال السرطان المسؤول عن أعلى نسبة مَوَاته بسبب السرطان عند هذه الفئة عالمياً. ويُعدّ الابيضاض اللمفاوي مرضاً شافياً حيث تصل نسب الشفاء حتى (80%) في بعض المراكز، لذلك يعدّ الحفاظ على حياة المريض وحمايته من اختلاطات المعالجة من أهمّ الأهداف التي يسعى الطبيب لتحقيقها. ولكن نلاحظ وجود اختلاف في التأثيرات الضّارة للمعالجة بين مريض وآخر. توجد دراسات قليلة عن علم المورثات الدوائي في سورية وعن انتشار التعدّد الشكليّ لجين NUDT15 في سورية بشكل خاص وفي دول البحر المتوسط بشكل عام.

إنّ معرفة وجود هذه العلاقة بين وجود SNPs لهذه الجين والسميّة سيعطينا مشعراً لاستبعاد المرضى الذين قد يطورون سميّاتٍ شديدةً على المعالجة، كما يساعدنا في اختيار الجرعات المناسبة لمركبات 6-MP عند مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد، وأيضاً سيخفّف من تكاليف صرف الدواء للمريض وتكاليف قبول المريض في المشفى نتيجة لاختلاطات المعالجة. ومن هنا تأتي أهميّة إجراء هذه الدّراسة. وهذا مثال وتطبيق عملي لاستخدام علم المورثات الدوائي في علاج الأورام الدقيق والذي يطبق لكل شخص على حدا.

حدود البحث:

من الواجب علينا التأكيد على بعض الأمور: حيث أُجريت الدراسة في مركز وحيد وهو مشفى البيروني الجامعي بدمشق، وذلك لم يعكس نسبة انتشار الطفرة بالشكل الأمثل. كما استخدم أكثر من بروتوكول علاجي، يمكن أن يكون ذلك قد أثر في بعض نتائج الدراسة مع العلم أن كل البروتوكولات المستخدمة هي بروتوكولات معتمدة عالمياً لعلاج الابيضاض اللمفاوي الحاد. لا بد من التنويه أيضاً بأننا أدخلنا عدداً من المرضى البالغين إلى جانب عينة الأطفال حتى نستطيع تحقيق حجم العينة المطلوب.

من ناحية أخرى شملت دراستنا فقط المرضى المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد بدون وجود عينة من أشخاص أصحاء وبالتالي عكسنا نسبة انتشار الطفرة عند المرضى وليس عند كامل المجتمع السوري.

الدراسات السابقة:

الدراسات المحلية:

- الدراسة الأولى (دراسة لبنانية): في عام 2017 أُجريت دراسة راجعة على عينة من مرضى مشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد قيد العلاج ببروتوكول SJCRH XV حيث شملت الدراسة 136 مريضاً، وتم حساب وسطي شدة الجرعة في هذه الدراسة حيث كان 77.39. كما طور 82 مريضاً (65.1% من مجمل المرضى) حمى نقص عدلات بعد استعمال مركبات 6-MP. كما طور 12 مريضاً (9.8% من مجمل المرضى) سمية كبدية. أما بالنسبة للتعدد الشكلي لجين NUDT15 فكان توزع المرضى كالتالي: 135 مريضاً (أي 99.3%) من مجمل المرضى من النمط CC، و1 مريض (أي 0.7%) من النمط CT وهو عراقي الجنسية. ولم يوجد أي مريض من النمط TT. (Zgheib et al., 2017).

- الدراسة الثانية (دراسة في شمال العراق): في عام 2019 أُجريت دراسة راجعة على عينة من مرضى مشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد قيد العلاج ببروتوكول COG حيث شملت الدراسة 74 مريضاً، تم

حساب وسطي شدة الجرعة في هذه الدراسة حيث كان 95.38. كما طور 16 مريضاً (21.6% من مجمل المرضى) حمى نقص عدلات بعد استعمال مركبات 6-MP. كما طور 9 مرضى (12.2% من مجمل المرضى) سمية كبدية. أما بالنسبة للتعدد الشكلي لجين NUDT15 فكان توزيع المرضى كالتالي: 74 مريضاً (أي 100%) من مجمل المرضى من النمط CC، ولم يوجد أي مريض يحمل طفرة في جين NUDT15 (Moradveisi et al., 2019).

الدراسات العالمية:

- الدراسة الأولى (دراسة شرق آسيوية): في عام 2015 أجريت دراسة من قبل J.J. Yang وزملائه على عينة من مرضى مشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد قيد العلاج ب 6-MP في مرحلة الصيانة. حيث شملت الدراسة 657 مريضاً كان توزيع المرضى على الشكل التالي: 624 مريضاً من النمط CC لجين NUDT15، 31 مريضاً من النمط غير المتجانس CT، 2 مريض من النمط المتجانس TT لطفرة جين NUDT15 ذات الرقم 116855232. كان وسطي شدة جرعة 6-MP وذلك بناءً على النمط الجيني لجين NUDT15 كالتالي: حيث تحمل مرضى النمط الجيني CC 83.5% من الجرعة المقررة بالبروتوكول، بينما تحمل مرضى النمط الجيني CT 63% من الجرعة. أما مرضى النمط الجيني TT فقد تحملوا فقط 8.3% من الجرعة. (J.J. Yang et al., 2015).
- الدراسة الثانية (دراسة أمريكية): في عام 2017 أجريت دراسة من قبل Moriyama وزملائها على عينة من مرضى مشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد قيد العلاج ب 6-MP في مرحلة الصيانة. حيث شملت الدراسة 371 مريضاً كان توزيع المرضى على الشكل التالي: 362 مريضاً من النمط CC لجين NUDT15، 9 مرضى من النمط غير المتجانس CT، 0 مريض من النمط المتجانس TT لطفرة جين NUDT15 ذات الرقم 116855232. كان وسطي شدة جرعة 6-MP وذلك بناءً على النمط الجيني لجين NUDT15 كالتالي: حيث تحمل مرضى النمط الجيني CC 80.1% من الجرعة المقررة بالبروتوكول، بينما تحمل مرضى النمط الجيني CT 62.5% من الجرعة. (Moriyama et al., 2017).

مناهج البحث وأدواته:

دراستنا هي دراسة حشدية (Cohort study)، ستشمل مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد المشخصين باستخدام تقنية flowcytometry، والمراجعين لمشفى البيروني الجامعي في وحدة أمراض الدم ووحدة بسمه لعلاج أورام الأطفال

تم أخذ المعلومات الشخصية كالوزن والطول ومشعر كتلة الجسم والعمر عند التشخيص وعند بداية مرحلة الصيانة وبشكل دوري في كل مراجعة في الأشهر الست الأولى من مرحلة الصيانة، كما حُسبت جرعة 6-MP في كل مراجعة، كما سُجل تعداد الكريات البيض والخضاب والصفائح والخمائر الكبدية من خلال تحاليل مخبرية، تم راقبنا ظهور تأثيرات جانبية للدواء وتسجيلها في الاستمارة الخاصة بكل مريض من خلال الاستجواب والفحص السريري.

جُمع 3 مل من الدم الوريدي على أنبوب يحوي مضاد تخثر EDTA وحُفظت مجمدة لحين إجراء عزل الدنا. ثم تحرينا التعدد الشكلي لجين NUDT15 المدروسة من خلال تفاعل ال PCR في مختبرات الهيئة العامة للتقانة الحيوية، ثم أُجري تفاعل السلسلة.

ثم قسمنا المرضى بحسب النمط الجيني لجين NUDT15 إلى ثلاث مجموعات أساسية: النمط الشائع (wild type)، النمط متخالف اللواقح (heterozygous) للطفرة، النمط المتجانس (homozygous) للطفرة. ثم ربطنا البيانات السابقة مع التأثيرات الجانبية لدواء 6-MP.

تمت المقارنة بين المرضى وذلك باستخدام اختبار كاي-مربع للمتغيرات الفئوية والعناصر الكمية التي كانت تظهر التوزع طبيعياً باستخدام اختبار t، وفي حال كان التوزع بعيداً عن التوزع الطبيعي يُستخدم اختبار Mann-Whitney وحساب قيمة P إذا كانت أصغر من 0.05 فلها أهمية إحصائية.

مكونات البحث:

يتكون البحث من جزأين:

الجزء الأول: وهو جزء يتحدث عن الإطار النظري لموضوع دراستنا وعن التعريفات الأساسية ليكون لدى القارئ الإلمام الكامل بكل المصطلحات الواردة في الدراسة العملية، يتكون هذا الجزء من ثلاثة فصول هي:

- الفصل الأول: تحدثنا في هذا الفصل بإسهاب عن الابيضاض اللمفاوي الحاد، عن تعريفه ووبائياته وآلياته المرضية وعوامل خطورته والإمراضية الجزيئية وعن تشخيصه والشذوذات المخبرية وتنميته المناعي وعن عوامله الإنذارية وكيفية تدبيره.
- الفصل الثاني: تحدثنا عن استقلاب دواء المركابتوبورين، وأهم الجينات التي تؤدي دوراً في استقلابه تمهيداً للحديث عن موضوع دراستنا بشكل خاص وهو جين NUDT15.
- الفصل الثالث: تحدثنا في هذا الفصل عن إنزيم وجين NUDT15 بشكل خاص، وهو موضوع دراستنا حيث فصلنا في تأثير التعدد الشكلي للجين السابقة على عدم تحمل جرعات الميركايتوبورين، كما تحدثنا عن اختلاف نسب التعدد الشكلي لجين NUDT15 بين الأعراق.
- الفصل الرابع: سوف نراجع أهم أربع دراسات علمية في موضوع بحثنا نشرت بأوقات مختلفة، دراستان محليتان وأخريان عالميتان، وننظر للدراسات السابقة نظرة ناقدة لتقادي الأخطاء والبناء عليها في دراستنا.

الجزء الثاني: وهو الإطار العملي لدراستنا والخطط التي اتبعناها خلال مدة الدراسة للوصول إلى النتائج

الماثلة أمامكم وهو يتكون من فصلين:

- الفصل الأول: تحدثنا باختصار عن خلفية البحث وأهميته وأهداف البحث، كما ذكرنا طريقة تصميم الدراسة وطريقة العمل وكيفية تحليل البيانات للوصول إلى النتائج. كما ذكرنا بعض

التعاريف العملية المهمة في الدراسة والاعتبارات الأخلاقية، وبالنهاية تم تعديد الموارد المتاحة بالدراسة.

- الفصل الثاني: في هذا الجزء عرضنا النتائج بأسلوب علمي عن طريق جداول ومخططات بيانية، حيث في البداية عرضنا صفات مرضى الدراسة، ثم درسنا العلاقة بين التعدد الشكلي لجين NUDT15 وسمية الميركابتوبورين، وأخيراً ربطنا بين التعدد الشكلي السابق والحساسية على مركبات البورين (الربط مع شدة جرعة الميركابتوبورين)، في نهاية هذا الجزء أجرينا مناقشة لنتائج الدراسة كما أطرنا الإضافة العلمية وقيمناها.

الخاتمة: وتمثلت هذه الخاتمة بذكر محددات الدراسة، ثم قارنا بين نتائج دراستنا ونتائج دراسات محلية وعالمية للوصول في النهاية إلى الاستنتاجات والتوصيات النهائية التي تحقق المطلوب من هذه الدراسة.

القسم النظري:

الفصل الأول: الالبيضاى اللفاوى الءاء

لمءة ءارىءة وءءرف:(History and Definition)

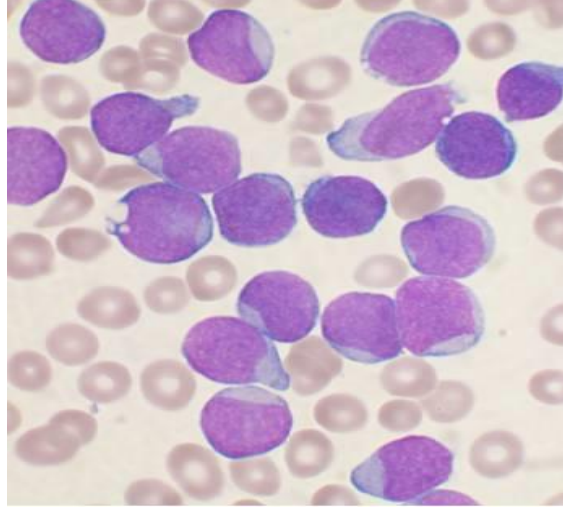
اكءشف مرض اللوكىمىا قبل ءوالى 200 سنة. ففى عام 1811م عرف بىءر ءولن Peter Cullen المرض بأنة ءالة من ءءهاب الطءال الءاء مع اضطراب فى مءونات الدم. قام الطبىب الفرنسى ألفرد فىلبىو Alfred Velpeau فى القرن ءاسع عشر بءءرىء ءئة رءل يعانى من الءمى والضعف والآلام الءىكلية ءىء لاءظ وءوء طءال عرطل يزى ءوالى 4.5 ءغ، ولأءظ وءوء لون أبىض فى الدم وأطلق ءلىه اسم الدم المءقء (pus-filled blood). [1]

اكءشف الطبىب الفرنسى ألفرد ءونىه Alfred Donne فى عام 1844 م أن هذا اللون القىءى للءم يعوء إلى وءوء أءءاء ءبىرة من ءرىاء البىض.

لأءظ الطبىب الأءمانى روءولف فىرشو Rudolf Virchow فى العام ءالى ءرسب وءءمع الأءءاء ءبىرة من ءرىاء البىض فى أنابىب المءبر معطىة لونا أبىض فأطلق مصءلءاً ءءىءاً لهذه الءالة باءم (White Blood) أى (ءم أبىض) للءالة ءلى زىاءة ءرىاء البىض. وءان هذا المصءلء مقءمة لءءمىة ابىضاى الدم باللوكىمىا (Leukemia) والءى ءاءء من (Leuko= white) (hemia=blood) ءىء اعءمءء هذه ءءمىة منذ عام 1847. [1]

اكءشف طبىب ألمانى آءر بول اىرلىء Paul Ehrlich فى عام 1890م أن هذه ءرىاء البىض ءءءلف فىزىولوءىاً عن ءرىاء الطبعىة الءاضءة. وهءذا ءان ارءفاع ءءء ءرىاء البىض عىء مرضى الالبىضاى بءاءة فهم واكءشاف هذا المرض.

لذلك وبناءً على الكلام السابق فإن الالبيضااض اللمفاوي الحاد بالتعريف: سرطان يصيب خلايا الدم من النمط اللمفاوي، حيث يحدث تكاثر بعدد كبير من الخلايا اللمفاوية غير الناضجة.



صورة رقم 1: بزل نقي عظم عند شخص مصاب بالبيضااض لمفاوي حاد من النمط (Precursor B -cell) (يوضح الشكل أرومات لمفاوية)

(مقتبس من https://en.wikipedia.org/wiki/Acute_lymphoblastic_leukemia#/media/File:Acute_leukemia-ALL.jpg)

الوبائيات:

أصاب الالبيضااض اللمفاوي الحاد 876 ألف شخص وأدى إلى وفاة 111 ألف شخص حول العالم في 2015. إن معدل الإصابة بالالبيضااض اللمفاوي الحاد حوالي 1.5 / 100000 بين البيض و 0.8 / 100000 بين السود. نسبة إصابة الذكور للإناث 1.4 مقابل 1.0. [2] يصيب الالبيضااض اللمفاوي الحاد كلا البالغين والأطفال، لكنه أكثر شيوعاً عند الأطفال خاصة بين 3 - 7 من العمر وينخفض معدل الوقوع تدريجياً بعد الذروة الأولى بعمر الطفولة الأصغر من 5 سنوات. يقدر عدد الاصابات بحالة من كل 1500 طفل، لكن هناك ارتفاعاً بسيطاً بعد عمر 35 سنة ووصولاً لذروة أخرى لكنها أصغر بالمجموعة العمرية بين 80 - 84 سنة. إذاً خلاصة، يشكل الالبيضااض اللمفاوي الحاد 20% من الالبيضااضات التي تصيب البالغين [3]، بمقابل 80% عند الأطفال، مما يجعله أشيع سرطان يصيب الأطفال. بالرغم أن 80-90 % من الأطفال المصابين يحققون استجابة دموية

كاملة، لكن لا يزال الابيضاض اللمفاوي الحاد يشكل السبب الأشيع للوفاة عند الأطفال المصابين بالسرطان. كما لازالت نسب البقيا منخفضة عند المواليد الجدد بنسبة حوالي 50%، وعند البالغين بنسبة تقارب 35% فقط.[4]

الآلية المرضية:

إن سبب حدوث الابيضاض اللمفاوي الحاد غير معروف تماماً. يبدأ الابيضاض اللمفاوي الحاد عندما تكتسب الخلية الأرومية اللمفاوية طفرة في جينات معينة مسؤولة عن تطور خلايا الدم وتمايزها. تكتسب الجينات السابقة مع الزمن طفرات جديدة تساهم في تطور المرض. يمكن للوراثة والاستعداد الجيني أن تفسر الابيضاض اللمفاوي الحاد عند الأطفال ولكن إلى حد أقل بكثير عند الكبار. يوجد كثير من عوامل الخطورة الجينية من أهمها: متلازمة داون، متلازمة بلوم، العوز المناعي المكتسب أو الوراثي، البيلة اللنتيائية الليلية وغيرها الكثير من الأسباب الجينية، [5] كما توجد عوامل خطورة بيئية تساهم في خلق طفرات في الجينات السابقة مما يساهم بحدوث المرض. يشكل التعرض المهني للإشعاع المؤين عند عمال المفاعلات النووية في الولايات المتحدة الأمريكية وأوروبا أيضاً واحداً من عوامل الخطورة [5]. ومن عوامل الخطورة الأخرى التعرض المهني للبنزين، التدخين، العلاج الكيميائي الذي قد يسبب ابيضاضات ثانوية تكون عادة نقوية وبحالات نادرة تكون ابيضاضات لمفاوية. إن الأدلة التي تدعم الكلام السابق، أن حوالي (10-15 %) فقط من التوائم المتطابقة جينياً يتطور لديهم ابيضاض لمفاوي حاد مما يدعم فرضية تورط العوامل البيئية في المرض. إن التبدل على مستوى جين KMT2A (تدعى سابقاً MLL gene) من أشيع التبديلات التي تحدث عند الأجنة قبل الولادة. ليس للعوامل البيئية لها دور في تطور الابيضاض اللمفاوي الحاد بهذه الفئة العمرية.

عوامل الخطورة:

*العوامل الجينية:

من أشيع الطفرات على مستوى الجينات GATA3، IKZF1، CEBPE، CDKN2A/2B، ARID5B، وبنسبة أندر TP53. إن معظم الطفرات السابقة عندما تأتي بشكل مفرد لها خطورة منخفضة لتطور الابيضاض اللمفاوي الحاد. لكن الخطورة تزداد عندما تجتمع عوامل الخطورة الجينية بعضها مع بعض. يوجد كثير من المتلازمات الجينية والتي تحمل خطورة عالية للإصابة بالابيضاض اللمفاوي الحاد. إن عوامل الخطورة تتضمن متلازمة داون، فقر الدم لفانكوني، متلازمة بلوم، نقص الغلوبولين غاما المرتبط بالصبغي X، عوز المناعة المختلط الخطير، متلازمة دياموند - شفامان، متلازمة كوستمان، الورم الليفي العصبي من النمط الأول، متلازمة الرنح والتوسع الشعري، متلازمة البيلة الخضابية الانتيايية الليلية، متلازمة لي فراومني، إن أقل من 5% من الحالات مرتبطة بمتلازمات جينية معروفة. يوجد طفرتان نادرتان في الجين ETV6 و PAX5 مرتبطتين مع نمط عائلي من الابيضاض اللمفاوي الحاد من النمط الجسدي السائد. [5]

*العوامل البيئية:

إن وجود عوامل بيئية تساهم في تطور الابيضاض اللمفاوي الحاد لا زال موضوعاً مثيراً للجدل. إن التعرض لمستويات عالية من الأشعة من نفايات نووية تعد عامل خطورة معروف لتطور الابيضاض. إن الأدلة على تطور ابيضاض لمفاوي بعد التعرض لمستويات أشعة أقل مثل X-ray أثناء الحمل لازال موضوعاً غير محسوم. كما أن التعرض لحقول كهربائية مغناطيسية شعاعية عالية من خطوط التوتر العالي مرتبط مع زيادة بسيطة لخطورة تطور ابيضاض لمفاوي حاد. إن وزن الولادة العالي (أكبر من 4000 غ) يعتبر عامل خطورة بسيطاً. توجد أدلة على تطور ابيضاض ثانوي تالي لتلقي أنواع معينة من العلاج الكيماوي من نمط

[3]. cyclophosphamide و epipodophyllotoxins

*العوامل الخمجية:

يوجد كثير من الأدلة التي تدعم نظرية أن الانفلونزا تعزز بشكل غير مباشر ظهور الالتهاب المزمن للمفاوي الحاد تشرح نظرية الإنتان المتأخر إن الاستجابة المناعية الشاذة للإنتان عند الأشخاص المتأهبين جينياً تؤدي لظهور المرض السابق.

الإمراضية الجزيئية:

تتضمن الآلية الإمراضية العديد من التغيرات الجينية التي تقود لتشكيل أرومات لمفاوية. تتضمن هذه التغيرات إزفاءً بين الصبغيات، تغيرات داخل الصبغيات أو تغيرات في عدد الصبغيات نفسها أو حتى طفرات في الجينات والتي تؤدي إلى انقسام سريع للخلايا للمفاوية غير الناضجة، والتي بدورها تغزو نقي العظم حيث تؤثر في الإنتاج الطبيعي لكريات الدم الحمر والبيض والصفائح.

يتضمن الإزفاء بين الصبغيات انتقال جزء كبير من DNA من صبغي لآخر وما يتضمن ذلك من نقل جين من صبغي يعزز انقسام الخلايا لآخر يعزز النسخ الجيني. فتكون النتيجة انقسام أكثر فعالية بكثير. مثال عن الكلام السابق إزفاء الجين C-MYC (وهي جين ترمز ل عوامل النسخ Transcription factor) لجوار جين أخرى مثل الجينات التي ترمز السلاسل الخفيفة والثقيلة للغلوبولينات المناعية (heavy and light chain) مما يؤدي ذلك لزيادة تعبير جين C-MYC وبالتالي انقسام سريع للخلايا التي تحتوي الجين السابقة [6].

من التغيرات الكبيرة التي تحدث تغير في بنية الصبغي والتي تكون نتيجة توضع جينات بعضها بجانب بعض، والتي تؤدي لتشكيل بروتين جديد الذي يعزز بدوره تطور الورم. إن التفعيل البنيوي المكتسب للبروتين كيناز (ABL) من خلال إعادة الترتيب مع الجين (BCR) هي مثال للطفرات التي تؤدي لميل التوازن الخلوي للتكاثر، وهذا الجين هو نتيجة للتبادل الصبغي (9,22) t (q34,q11) الذي هو أشيع الاضطرابات الصبغية عند البالغين. يفعل الالتحام الجيني الأخير بشكل دائم (tyrosine kinase) حتى بغياب عوامل النمو والتي تنتج خلايا ذات انقسام سريع.

تؤدي أشكال أخرى من إعادة الترتيب الجيني إلى كسب أو فقد للوظيفة تشمل عوامل ترميز ضرورية لعملية تكوين الدم بشكل طبيعي مثل (p13,q22) (12,21) t، مما يؤدي لتجاوز TEL مع AML1، إن الاضطراب الصبغي السابق هو من أشيع الاضطرابات الصبغية في الابيضاض اللمفاوي الحاد عند الأطفال.

هناك شكل آخر من آليات تطور الابيضاض اللمفاوي هو إبطال الجينات المثبطة للأورام، كمثال عليها

RB. p53, p15(INK4B), p16(INK4A)

حديثاً، رُبط التعبير الشاذ ل NOTCH1 بتطور الابيضاض اللمفاوي الحاد، حيث تشفر الجين السابقة مستقبلاً عبر الغشاء الخلوي، الذي ينظم بدوره تطور الخلايا التائية، وتعتبر آلية عمله غير مفهومة تماماً، لكن هناك بعض الدلائل التي تشير إلى مساهمته في تثبيط الجينات الكابحة للأورام p53، NF-KB.

من التغيرات الجينية التي يمكن أن تحدث في الابيضاض اللمفاوي من النمط B تغير في عدد الصبغيات، حيث يمكن أن تكتسب الخلية أكثر من 5 صبغيات إضافية يطلق عليها اسم hyper diploidy، كما يمكن أن تخسر الخلايا صبغيات يطلق عليها اسم hypodiploidy وذلك مرتبط مع إنذار سيئ.

من الطفرات التي يمكن أن تحدث في الابيضاض اللمفاوي من النمط B PAX5، IKZF1، أما الابيضاض من النمط T فتحدث فيها تغيرات على مستوى الجينات التالية : TLX1، TAL1، LYL1، TLX3 [6].

التظاهرات السريرية:

بالرغم من أن التظاهرات السريرية يمكن أن تكون مخاتلة، لكن يشخص الابيضاض اللمفاوي الحاد عادة عند مرضى يعانون من أعراض لفترة أسابيع قليلة، يتظاهر نصف المرضى بحمى أو تطور لأعراض إنتانية. أما النزف الغزير فنادر عادة، وتكون النزوف نتيجة لنقص الصفيحات وتنتشر غالباً بشكل رعاف أو كدمات ونمشات بينما تكون النزوف الهضمية أقل شيوعاً. إن تمدد النقي بالأرومات المتكاثرة يسبب ألماً عظميةً ومفصلياً ويمكن أن يسبب نخرًا عظميةً بنسبة قليلة عند البالغين مقارنة مع الأطفال.

غالباً ما يشكو مرضى الالبيضاخ اللمفاوي الحاد من زلة تنفسية يكون سببها فقر الدم في أغلب الأحيان.

إن ما يقارب من نصف المرضى لديهم ضخامة طحال أو كبد أو ضخامة لعقدة لمفية، أما ضخامة العقد

المنصفية فتكون عند مرضى الالبيضاخ تائي الخلايا، والذين يتظاهرون بانصباب جنب وألم بجدار الصدر.

كخلاصة عن الكلام السابق، إن حوالي 50% من الأطفال المشخص لهم ابيضاخ يتظاهرون بواحد أو أكثر من

المظاهر الخمس التالية: 1- يمكنهم الشعور بالكبد ب 64% من الحالات 2- يمكنهم الشعور بالطحال ب 61%

من الحالات 3- شحوب 54% 4- حرارة 53% من الحالات 5- كدمات 52% من الحالات. [7]

إن حوالي 10% من المرضى البالغين وأقل من 5% من الأطفال المصابين بالالبيضاخ اللمفاوي الحاد

يكون لديهم إصابة بالجملة العصبية المركزية متمثلة باعتلالات أعصاب قحفية ناتجة عن ارتشاحات سحائية، لكن

لا يتظاهرون دوماً بأعراض وعلامات موجهة مثل الصداع، الإقياء، صلابة النقرة، تغير الحالة العقلية. تتظاهر

الأعراض العصبية خاصة عند المرضى المشخص لديهم ابيضاخ لمفاوي حاد بخلايا B ناضجة (بوركييت

لوكيميا). [7]

تشمل الأماكن الأخرى للإصابة خارج النقي الخصيتين، الشبكية، الجلد ويمكن لأي عضو أن يصاب في

سياق المرض. كما يمكن أن يتظاهر المرض بتطور لأعراض عامة (B symptoms) مثل الحرارة، التعرق الليلي

نقص الوزن.

كما يمكن أن يتظاهر المرض بحالة سريرية طارئة قد تكون مهددة للحياة وتحتاج للتدخل الفوري وهي

متلازمة فرط الكريات البيض (Hyperleukocytosis) والتي هي عبارة عن شذوذ مخبري يعرف عموماً بتعداد

كريات بيض أكثر من $10^9 \times 100$ / لتر، رغم أن بعض الدراسات ما زالت تشمل المرضى مع تعداد بيض أكثر

من $10^9 \times 50$ / لتر. كثير من المرضى يكونون لا عرضيين لكن بعضهم يأتون بأعراض سريرية سببها ركودة

الأعداد الكبيرة من الكريات البيض في الأوعية الدقيقة واستهلاكها للأوكسجين المحلي، وبالتالي إحداث نقص في

الأكسجة النسيجية إضافة إلى إنتاج السيروتوكينات التي تؤدي إلى أذية البطانة الوعائية وتؤهب لحدوث الخثار والنزف الثانوي والوذمة في الأنسجة المصابة وهذا ما يسمى بال (leukostasis) أي ركودة الكريات البيض.

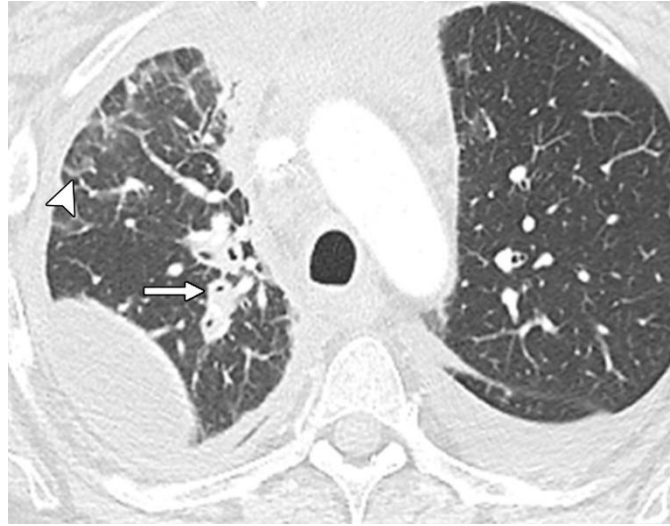
هنالك عدد كبير من الأعراض السريرية التي ترافق الالبيضاخ للمفاوي الحاد، وقد تتطور هذه الأعراض بشكل مفاجئ وسريع سواء قبل أو بعد تطبيق العلاج. بالمقابل، يكون كثير من مرضى الالبيضاخ غير عرضيين لذلك قد يتطور لدى بعض مرضى الالبيضاخ أعراض ناتجة عن ركودة الكريات البيض (leukostasis) والتي هي عبارة عن تعبير سريري للعديد من الاختلالات التي ترافق فرط الكريات البيض، وقد أطلق عليها اسم متلازمة ركودة الكريات البيض (leukostasis syndrome)، وعرفت كحالة حرجة تترافق باعتلالات تخثرية شديدة (مثل متلازمة الخثار المنتشر داخل الأوعية DIC)، متلازمة انحلال ورمي، اضطرابات استقلابية شديدة، وأخيراً، قصور أعضاء متعدد.

تعتمد الأعراض السريرية والتي تطور بشكل حاد على الجهاز المصاب، فأى وعاء صغير معرض للانسداد، وبالتالي أي عضو معرض للأذية. وأظهرت الدراسات النسيجية عند مرضى الالبيضاخ المترافق مع فرط كريات بيض وجود خلايا أرومية متجمعة ومشكلة لخثرات تسد الأوعية الصغيرة مما يؤدي إلى أذية العديد من الأعضاء المهمة. رغم أن الجملة العصبية المركزية والجهاز التنفسي من الأعضاء الأكثر عرضة للإصابة إلا أنه أبلغ عن إصابة العديد من الأجهزة الأخرى مثل الكليتين، حليلة العصب البصري، الأصابع، العضلة القلبية (والذي يتظاهر باحتشاء عضلة قلبية، أو أعراض لقصور قلب). كما لوحظ بالفحص بعد تشريح الجثة ارتشاح واسع للخلايا الأرومية في العديد من الأعضاء منها الأوعية الرئوية، الأوعية الشبكية، الأسناخ، والنسج الضامة الرئوية، بالإضافة للأعضاء الأخرى مثل الطحال، الكبد، الدماغ، الكظر. [7]

يتعلق الأعراض السريرية الرئيسية وحدث الوفيات الباكرة بشكل أساسي بإصابة الجملة العصبية المركزية في (40%) من الحالات وإصابة الرئة في (30%) من الحالات.

الأعراض والعلامات الرئوية:

تشمل ضيق النفس، تسرع التنفس، الزرقة المحيطية والمركزية ونقص الأكسجة والتي قد يكون سببها فقر الدم أو قد يكون السبب ارتشاح سنخي أو خلالي بالخلايا الأرومية والذي قد يتظاهر على صورة الصدر، قد تتطور الحالة لنزف رئوي، ثم تتسارع باتجاه متلازمة العسرة التنفسية الحادة (ARDS) والتي تنتهي بالقصور التنفسي في بعض الأحيان. تظهر الأعراض الصدرية بعد البدء بالعلاج والسبب يعود لتحلل الخلايا الالبيضاوية المرتشحة في الرئة و إطلاق المحتوى داخل الخلية بما في ذلك الإنزيمات التي تؤدي لأذية نسيجية في الأسناخ وحدوث وذمة خلالية وهذا ما يسمى بـ (Acute lysis pneumopathy).



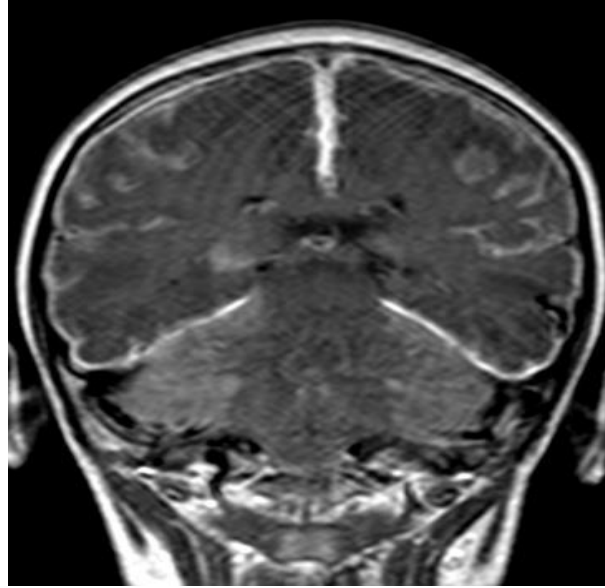
الصورة رقم 2: CT توضح ارتشاحات رئوية بخلايا أرومية عند مريض مشخص له ابيضاض لمفاوي حاد من

النمط T (مقتبس من <https://epos.myesr.org/poster/esr/ecr2020/C-14114>)

الأعراض والعلامات العصبية:

وتشمل الصداع، تشوش الرؤيا، الدوار، الرنح، الطنين، واضرابات المشية، اختلاجات، تغيرات سلوكية، شلل بالأعصاب القحفية، تبدل في الحالة الذهنية والتخليط الذهني مثل عدم التوجه للأشخاص والزمان والمكان، كما يمكن أن يتظاهر بميل للوسن والنوم وأحياناً سبات أو سكتة دماغية قد تكون ناجمة عن واحد من الأسباب

التالية: 1-ركودة الكريات البيض داخل الأوعية الدماغية 2-أو عن نزف داخل الدماغ وهو اختلاط خطير جداً ويرتبط بمعدل مرتفع للوفيات 3-ارتشاح الخلايا الأرومية بالجملة العصبية المركزية.[8]



الصورة رقم 3: طبقي محوري للدماغ توضح ارتشاح سحائي بالخلايا الأرومية (مقتبس من

<http://morancore.utah.edu/section-06-pediatric-ophthalmology-and-strabismus/leukemic-infiltration-of-the-iris-and-cranial-nerves-in-recurrent-all>)

أعراض عامة:

مثل التعب والوهن العام والآلام الهيكلية العظمية والآلام المفصالية الناتجة عن انتشار الخلايا الأرومية لسطح العظم أو للسطوح المفصالية. بالإضافة لنقص الشهية ونقص الوزن والارتفاع الحروري حيث يلاحظ أن حوالي 80% من مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد يعانون من الارتفاع الحروري والذي يفسر إما بالحدثية الالتهابية الناجمة عن الركودة أو بسبب الإنتان المرافق. ولأنه من الصعب استبعاد الإصابة الانتانية في هذه الحالة لذا يفضل معالجة الإنتان تخبرياً عند جميع هؤلاء المرضى.

أعراض وعلامات أخرى:

ضخامة لعقد لمفاوية، ضخامة كبدية، ضخامة طحالية، ضخامة بالخصية، كتلة منصفية، وذمات انطباعية بالأطراف السفلية والبطن، كدمات غالباً قد يكون السبب نقص الصفائح.

أعراض وعلامات أقل شيوعاً:

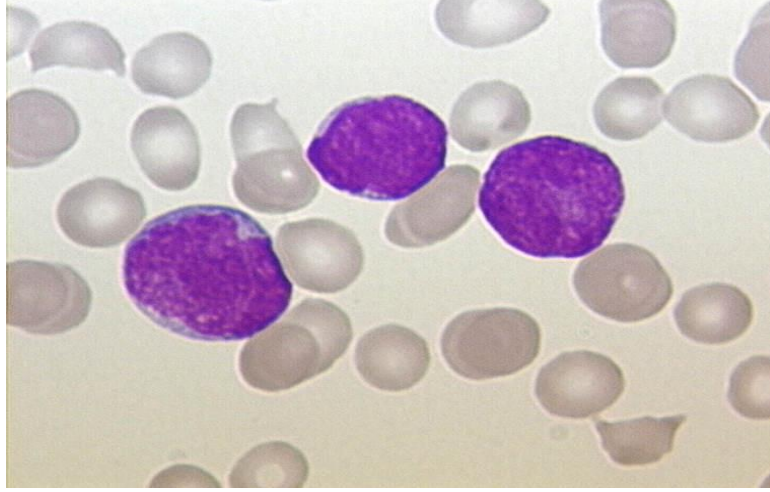
وتشمل علامات نقص التروية القلبية على تخطيط القلب الكهربائي، أو زيادة الحمل على البطين الأيمن، قصور كلوي مترقٍ، خثار الوريد الكلوي، قسوح، نزوف شبكية وضعف في القدرة البصرية، تخثر منتشر داخل الأوعية، عرج نتيجة نقص تروية حاد في الطرف، احتشاء أمعاء.

التشخيص (Diagnosis):

يبدأ تشخيص الابيضاض اللمفاوي الحاد بأخذ قصة مرضية جيدة، فحص سريري، تعداد كامل للدم، لطاخة محيطية. إن خزعة العظم تؤمن دليلاً قاطعاً على تشخيص الابيضاض اللمفاوي الحاد وخاصة عند وجود أكثر من 20% من الخلايا الأرومية اللمفاوية بالنقي. إن إجراء بزل قطني يمكن أن يحدد إصابة النخاع الشوكي والدماغ. إن الإصابة السابقة يمكن أن تؤكد بوجود خلايا أرومية في السائل الدماغي الشوكي أو عن طريق علامات أو أعراض عصبية تم توصيفها في الفقرة السابقة. يجب إجراء دراسة كاملة عند تشخيص الابيضاض اللمفاوي الحاد. تتضمن إجراء دراسة صبغية cytogenetics وخاصة البحث عن صبغي فيلادلفيا الذي يؤكد لحد ما التشخيص، [9] كما يجب إجراء تنميط مناعي immunophenotyping الذي يحدد بدقة نمط الخلايا اللمفية هل هو نقوي أم لمفاوي (B- lymphocyte أو T-lymphocyte) . إن الدراسة الصبغية وخاصة المجرة على عينات من نقي العظم يمكن أن تصنف المرض بدقة. كما يمكن أن تتنبأ بعدوانية المرض. إن التلوين المناعي الكيماوي Immunohistochemical يمكن أن يظهر بعض المستضدات على سطح الخلايا اللمفية من أمثلتها TdT أو CALLA. إن المستضد TdT هو عبارة عن بروتين يظهر على سطح الخلايا pre-B أو pre-T، أما المستضد CALLA فهو مستضد يتظاهر عند 80 % من حالات الابيضاض اللمفاوي الحاد. أما بالنسبة للدراسة الشعاعية

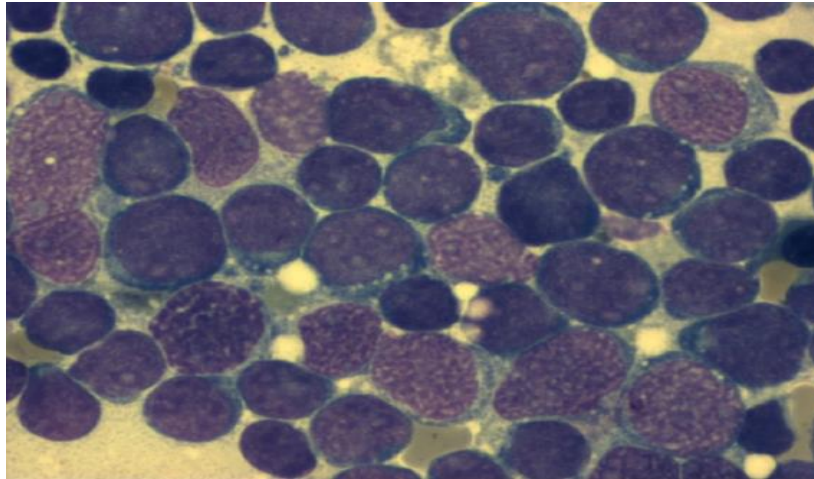
فتضمن إجراء إيكو أو طبقي محوري للأعضاء التي نشك بإصابتها مثل الرئة، الكبد، الطحال، العقد اللمفاوية،

الدماغ، الكلية. [10]



صورة رقم 4: لطاخة محيطية توضح الالبيضااض اللمفاوي الحاد (مقتبس من

(https://en.wikipedia.org/wiki/Acute_lymphoblastic_leukemia#/media/File:ALL_-_Peripheral_Blood_-_Diagnosis_-_01.jpg)



صورة رقم 5 : بزل نقي توضح الالبيضااض اللمفاوي الحاد (مقتبس من

(https://en.wikipedia.org/wiki/Acute_lymphoblastic_leukemia#/media/File:ALL-KM-2.jpg)

التقييم السريري:

كثيراً ما يُحوّل المرضى إلى المشافي بارتفاع في تعداد الكريات البيض. غالباً ما يكون المرضى لا عرضيين، بينما يأتي بعضهم بتطور لأعراض عصبية ناتجة عن ركودة الكريات البيض داخل الأوعية الدماغية يجب تقييمها بشكل جيد مثل تبدل في الحالة العقلية، وذمة حليلة العصب البصري، تشوش رؤية، صداع، اختلاج سبات، سكتة دماغية، أو بأعراض صدرية مثل تسرع التنفس، ضيق النفس، نقص الأكسجة، الزرقة، ارتشاحات على صورة الصدر تعود إلى الركودة الرئوية والنزف الرئوي الثانوي. وقد يأتي المريض بأعراض أخرى مثل القسوح والتهاب أصابع. [9]

كما يجب الانتباه إلى الأعراض الناجمة عن الاضطرابات الشاردية عند المرضى المعرضين لخطر الانحلال الورمي (TLS) وخاصة المتعلقة منها بالاضطراب بمستويات الصوديوم والبوتاسيوم مثل الخزل المعوي، الألم البطني، الإقياء، الإسهال، علامات التجفاف، آلام الظهر، كما توجد علامات متعلقة بنقص كلس الدم مثل التشنجات، والتكزز، الاختلاجات وتبدل الوعي. وعند الفحص السريري يجب الانتباه للعلامات الحيوية خاصة معدل ضربات القلب وضغط الدم، كما يجب التحري عن علامات إضافية تتعلق بانضغاط الأجوف العلوي، وارتفاع التوتر داخل القحف ووجود انصباب في الجنب أو حبن. [9]

لقد اعتمد نوفونتي وزملاؤه خوارزمية لتحديد شدة الأعراض السريرية حيث صنف المرضى إلى أربع مجموعات يعتمد التصنيف على ربط شدة الأعراض السريرية مع احتمال حدوث ركودة بالكريات البيض (leukostasis)، فالمرضى الذين لديهم أعراض رئوية أو عصبية أشد يكون لديهم خطر أعلى للوفاة.

الجدول رقم 1: تصنيف الأعراض عند مرضى الالبيضا الذين لديهم فرط كريات بيض

المجموعة	احتمالية متلازمة البيض	تطور ركودة	شدة الأعراض	الأعراض الصدرية	الأعراض العصبية	الأعراض الأخرى
0	لا يوجد احتمال	لا يوجد احتمال	لا أعراض	لا أعراض	لا أعراض	لا أعراض
1	احتمال ضعيف	خفيفة	تحدد خفيف في النشاطات اليومية	طنين، صداع. دوار معتدل الشدة	تعب متوسط	

2	من المرجح	واضحة	تحدد خفيف في النشاطات اليومية وحتى في النشاطات الأقل جهداً	تشوش رؤيا خفيف طنين ودوار وصداع شديد	تعب شديد
3	احتمال فوي	شديدة	ضيق نفس على الراحة، حاجة للأوكسجين	تشوش شديد بالرؤيا، نزف دماغي	احتشاء نخري، قسوح، احتشاء عضلة قلبية

يبدو هذا التصنيف ملائماً من الناحية النظرية، لكنه لم يتم توثيق مصداقيته بعد في الممارسة السريرية.

التقييم الشعاعي:

في حال وجود أعراض صدرية يجب إجراء صورة صدر أو طبقي محوري للبحث عن كتلة منصفية أو انصباب جنب أو ارتشاحات سنخية أو خلالية منتشرة.

عند تطور أعراض وعلامات عصبية يجب إجراء تصوير طبقي محوري للدماغ مع حقن في حال كانت وظيفة الكلية طبيعية، كما يفضل إجراء مرنان دماغ أو مرنان وعائي للأوعية الدماغية في حال الشك بوجود احتشاء دماغي.

كما يجب أن تجرى صورة للبطن في حال وجود خزل معوي لنفي الأسباب الانسدادية.

إيكو للبطن في حال وجود قصور كلوي لنفي السبب الانسدادي الذي يقلد متلازمة الانحلال الورمي والذي يسوء بإعطاء السوائل.

في حال كان مستوى البوتاسيوم في المصل أكبر من 6 mEq/L يجب إجراء تخطيط القلب الكهربائي (ECG) قد يظهر زيادة في عرض QRS أو تأنف موجات T. نقص كلس الدم يمكن أن يسبب تطاول فترة QT. في حال وجود شذوذات على التخطيط يوضع المريض على جهاز مونيتر لمراقبة نظم القلب.

التقييم المخبري:

تشمل الدراسات الأولية تعداد عام وصيغة، صوديوم، بوتاسيوم، حمض البول، فوسفور، بيكرينات، كالسيوم وفي حال كان منخفضاً نعاير الكلس المؤين والألبومين، وظائف الكلية والكبد، اختبارات التخثر FDP، Fibrinogen، PT، PTT، D-Dimer لكشف الشذوذات المخبرية والاستقلابية وتدبيرها.

الشذوذات المخبرية Laboratory Abnormalities:

في حال راجع مريض الالبيضاخ للمفاوي بفرط كريات بيض قد نجد بعض الشذوذات المخبرية تعود لوجود عدد كبير من الأرومات في الدم المحيطي مثل:

- نتيجة للنشاط الاستقلابي الزائد للخلايا الأرومية قد نجد نقص لل PaO₂ الشرياني بشكل كاذب حتى لو نقلت العينة بظروف جيدة وضمن الثلج إلى المخبر. لذلك يعتبر مقياس الأكسجة الإصبعي من الطرق الأدق لقياس نسبة إشباع الأكسجين بالدم.[11]
- ارتفاع تعداد الصفائح بشكل كاذب على العدادة الآلية وذلك لأن نتائج تخرب الأرومات قد تعد بشكل خاطئ على أنها صفائح. لذا من الأفضل التأكد من أرقام الصفائح بإجراء لطاخة محيطية والقيام بعد الصفائح بشكل يدوي.
- قد يكون ارتفاع البوتاسيوم في المصل بشكل كاذب نتيجة تحرره من داخل الخلية عند تحليلها في أثناء نقلها إلى المخبر، لذا يفضل معايرة البوتاسيوم في عينات البلازما المهيمنة وليس في المصل.[11]
- التخثر المنتشر داخل الأوعية يحدث في 40% من المرضى حيث (ترتفع نواتج تحطم الفيبرين ويرتفع D-Dimer وينخفض الفيبرينوجين) وقد تظهر هذه الحالة أو تتفاقم بعد البدء بالعلاج الكيماوي.

متلازمة الانحلال الورمي (Tumor Lysis Syndrome = TLS):

وهي متلازمة استقلابية ناتجة عن تحطم الخلايا الورمية وإطلاق محتواها النووي والسييتوبلازمي في الدوران بشكل سريع يتجاوز قدرة الكلية على الإطراح، تتميز مخبرياً باجتماع الثالوث الكلاسيكي (ارتفاع بوتاسيوم الدم + ارتفاع حمض البول + ارتفاع فوسفات الدم). إن نقص كلس الدم يكون نتيجة لفرط فوسفات الدم لأن الفوسفور يرتبط مع الكلس ويشكل فوسفات الكلس. [12]

لها معايير تشخيصية مخبرية (laboratory TLS) وسريية (clinical TLS)، أُبلغ عن حدوث (LTLS) بنسبة 25 – 50 % عند الأطفال الذين لديهم أورام ذات خطورة عالية، بينما كانت (CTLS) أقل تواتراً بنسبة 4-8%. [12]

عوامل الخطورة لحدوث هذه المتلازمة هي:

- المفومة التائية.
- فرط الكريات البيض عند مرضى الابيضاض خاصة T-cell ALL.
- وجود ضخامة عقد لمفية.
- وجود كتلة ورمية كبيرة.
- وجود كتلة منصفية كبيرة.
- وجود ضخامات حشوية عرطلة.
- وجود معدل انقسام عالي وسريع.
- ارتفاع شديد في LDH.
- حساسية الورم للعلاج الكيماوي.

على الرغم من أن خطر تطور هذه المتلازمة يكون أعلى في الساعة 12 وحتى 72 من بدء العلاج إلا

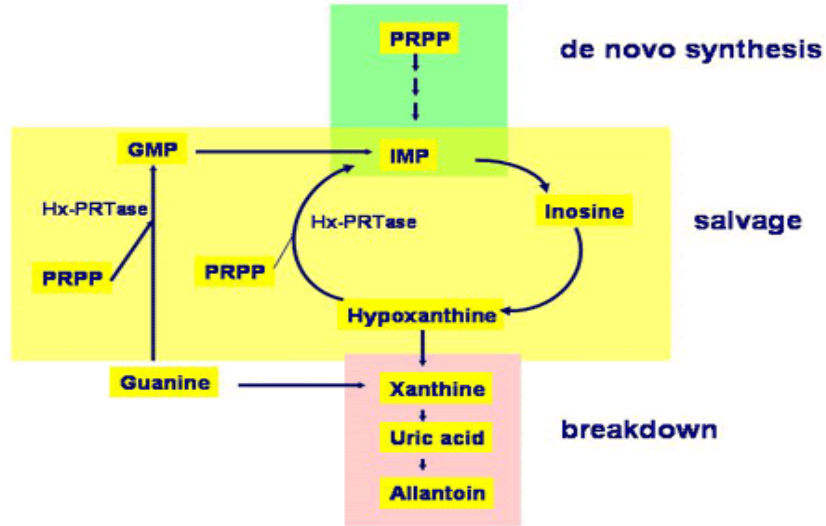
أنها قد تتطور عند التشخيص قبل إعطاء الأدوية أو خلال 7 أيام من بدء العلاج وتؤدي إلى المضاعفات الاستقلابية

التالية:

- ارتفاع البوتاسيوم: وهو يشكل السبب الأول للموت المفاجئ لأن ارتفاعه السريع يسبب لانظميات قلبية خطيرة تؤدي بدورها لتوقف القلب خلال دقائق أو ساعات. يعود ارتفاع البوتاسيوم بشكل أساسي لأنه شاردة رئيسية داخل خلوية تتحرر عند بدء الانحلال، كما أن هناك عوامل عديدة تؤدي دوراً في ارتفاعه بشكل سريع مثل الحمض الاستقلابي، القصور الكلوي، أو عند إعطاء البوتاسيوم وريدياً عن طريق الإماهة.

- ارتفاع حمض البول في الدم: يرتفع حمض البول نتيجة تحلل الحموض النووية المتحررة من داخل الخلايا وما يتبعه من استقلاب لنوكليوتيدات البيورين (الأدينوزين Adenosine و الغوانوزين Guanosine)، فحمض البول هو المنتج النهائي لعملية تترك البيورين داخلي أو خارجي المنشأ التي تتم في الكبد عن طريق أكسدة الكزاننتين إلى حمض البول بواسطة أوكسيداز الكزاننتين.[12]

حمض البول هو حمض ضعيف مع باكاف حمضية ($5.4 - 5.7 = pKa$) في التراكيز الطبيعية وفي ال PH الفيزيولوجي فإن 80% من حمض البول يكون مؤين على شكل يورات، وهذا الشكل قابل للذوبان في البول لكن عندما يوجد حمض البول بتراكيز عالية في وسط حامضي فإنه يتبلور في البرانشيم الكلوي والأنابيب البعيدة والقنوات الجامعة مما يؤدي إلى انسداد لمعة الأنابيب وشح البول. لذا في البداية يزداد إطراح حمض البول عن طريق الكلية لكن يتناقص لاحقاً بسبب ترسب بلورات حمض البول في القنوات الجامعة للأنابيب الكلوية بوجود الوسط الحامضي.[12]



الشكل رقم 1: مخطط يوضح سبيل استقلاب مركبات البورين التي تشكل جزءاً من الحمض النووي (مقتبس من

(http://www-naweb.iaea.org/nafa/aph/purine-cd/html/techdoc/html/02_4.htm)

- ارتفاع فوسفات الدم: الأرومة اللمفاوية غنية بالفوسفور بشكل خاص حيث تحتوي 4 أضعاف محتوى الخلايا اللمفاوية الطبيعية، لذا فإن تحطمها يؤدي إلى تحرر هذا المحتوى العالي من الفوسفور في الدوران وارتفاعه بشكل سريع يفوق قدرة الكلية على الاستيعاب ويؤدي إلى ارتفاع فوسفات الدم والبول وهذا الأخير قد يؤدي إلى كلاس كلوي حاد وقصور كلوي نتيجة ترسب بلورات فوسفات الكلس في الأنابيب الكلوية مما يزيد الأمر سوءاً. كما يتفاقم ارتفاع الفوسفات بوجود الحمض الاستقلابي المرافق الذي يحرك الفوسفور من داخل الخلية إلى خارجها. [12]
- نقص كلس الدم: إن ناتج جداء ضرب (Ca * P) يتراوح في الحالة الطبيعية بين 30 - 55 مغ/دل وعندما يتجاوز ال 70 مغ/دل فهناك خطر مهم لترسب فوسفات الكلس في الكلية وغيرها من الأنسجة الرخوة وهذا يؤدي بدوره إلى نقص كلس ثانوي.
- القصور الكلوي الحاد: هناك عدة آليات تفسر حدوث القصور الكلوي في TLS:

1- ترسب فوسفات الكالسيوم في الأنابيب الكلوية والأوعية الدموية الدقيقة عندما يتجاوز جداء p)

$$Ca * < 60.$$

2- زيادة مستوى الهيوكزاننتين بعد العلاج بالألوبيورينول وترسبها في البيئة القلوية عندما يتجاوز PH

البول 7.5.

3- ترسب حمض البول في الأنابيب الكلوية بوجود البيئة الحامضية.

مالم تعالج هذه الاختلالات بشكل سريع وفعال فإنها ستؤدي إلى اضطرابات في نظم القلب، اختلاجات، موت مفاجئ.

المعايير التشخيصية لمتلازمة الانحلال الورمي:

صُنفت المتلازمة حسب معايير كايرو وبشوب إلى متلازمة مخبرية ومتلازمة سريرية

المعايير المخبرية وتسمى (Laboratory TLS):

وهي وجود اثنين أو أكثر من الاضطرابات المخبرية التالية:[12]

- فوسفات الدم ≤ 2 ممول/ل أو 6.5 مع/دل
- حمض البول ≤ 8.2 مغ / دل أو 475 ميكرو مول.
- كالسيوم الدم ≥ 1.76 ممول/ل أو $7 \geq$ مغ /دل.
- بوتاسيوم الدم ≤ 6.2 ممول/ل أو $6.1 \leq$ مغ / دل.
- كرياتينين المصل < القيمة الطبيعية
- أو أي تغير 25% عن الحد الطبيعي خلال 3 أيام قبل بدء العلاج أو بعد 7 أيام من بدء العلاج.

المعايير السريرية وتسمى (Clinical TLS):

وهي وجود المعايير المخبرية (LTLS) مع واحد أو أكثر من الاختلالات التالية:

- اللانظميات القلبية

- الاختلاجات

- القصور الكلوي الحاد

- الموت المفاجئ

التنميط المناعي (Immunophenotyping):

إن علاج الابيضاض اللمفاوي الحاد يعتمد على التنميط المناعي، الذي هو عبارة عن تقنية يستخدم للتعرف على البروتينات الموجودة على سطح الخلايا. ومن هنا تأتي أهمية إجراء السابق بواسطة تقنية الفلوسايتومتري. إن تعبير المستضد TdT (terminal deoxynucleotidyl transferase) على سطح الخلية يساعد بتمييز الخلايا اللمفاوية الورمية عن الخلايا اللمفاوية الارتكاسية. إن التقنيات السابقة تساعد في تمييز مختلف تصنيفات الابيضاض اللمفاوي الحاد مثل تفريق الابيضاض اللمفاوي الحاد من نمط precursor B عن نمط precursor كما يمكن للتقنيات السابقة أن تحدد درجة تمايز الخلايا الخبيثة، وحسب تصنيف منظمة الصحة العالمية فإن ما يقارب 70% من حالات الابيضاض اللمفاوي هي (precursor B cell)، أما (precursor T cell ALL) فتشكل ما يقارب 25%، 5% من الحالات هي بوركيت (mature B cell). [9]

إن الأطفال يصابون بابيضاض ثنائي الخلايا بنسبة أقل من البالغين، كما أن هناك ارتفاعاً بنسبة المرضى الذين يبدون مستضدات نقوية عند الكبار مقارنة بالأطفال. وهناك حالات نادرة تبدي تنميطاً مشتركاً لمستضدات نقوية ولمفاوية حيث تسمى بابيضاض ثنائي النمط (Biphenotypic Leukemia) اعتماداً على معايير المجموعة الأوروبية European group، وعلى الرغم من أن السير السريري غير محدد لكن ليس هناك اتفاق على نمط العلاج لهذا المرض أهو علاج ALL أو AML أو مشاركة بين الاثنين على الرغم من أن هذه العلاجات لم تحقق هواة أكثر من 39%. [13]

الجدول رقم 2: أهم أصناف الابيضاض اللمفاوي الحاد وذلك بحسب التنميط المناعي

B-cell lineage	T-cell lineage
Pre-pre-B-All (Pro-B-All)	Precursor T-All
Common All	Mature T-cell All
Pre-B-All	

Mature -B-cell All (Burkitt leukemia FABL3)

توجد أعداد وحيدة النسيلة تستخدم للكشف عن مستضدات موجودة على سطح الخلايا يطلق عليها اسم

CD (Cluster of Differentiation)، تستخدم لتمييز أنماط الخلايا عن بعضها. [14]

الجدول رقم 3: أهم المستضدات (الواسمات المناعية) الموجودة على سطح الخلايا الورمية بالابيضاض اللمفاوي الحاد

Immunological markers	B-cell lineage	T-cell lineage
B cell lineage		
CD19, CD22, CD79a	+	-
CD10	-or + (Common All)	
Cytoplasmic Ig	- or + (pre-B-All)	
Surface Ig	-or + (mature-B-cell All)	
TdT	+	+
T-cell lineage		
CD2,CD3,CD4,CD5,CD7,CD8	-	+
TdT	+	+

الدراسة الصبغية (cytogenetics):

إن المعلومات التي تقدمها الدراسة الصبغية مهمة في التصنيف، وتستطيع بدورها أن تضع إنذارية لمختلف المرضى، إن التصنيف السابق يعتمد على عدد الصبغيات بالدرجة الأولى. إن مصطلح الخلية زائدة الصبغيات (Hyper diploid) يطلق على الخلايا التي تحتوي على أكثر من 50 صبغي. بينما يطلق مصطلح (Hypodiploid) على الخلايا التي تحتوي على أقل من 44 صبغي. إن الحالة الأولى تحمل إنذاراً جيداً، بينما الحالة الثانية فتنبأ بسوء الإنذار. كما يمكن للدراسة الصبغية أن توجه لوجود بعض الإزفاءات التي تسيئ للإنذار أو تحسن الإنذار. من الأمثلة عن الكلام السابق وجود الإزفاء (12,21) t ETV6-RUNX1 في الابيضاض اللمفاوي الحاد من النمط B.

يوضح الجدول رقم 4: تكرار أهم الازفاءات في الابيضاض اللمفاوي الحاد مع أهم الشذوذات الجينية الجزيئية في الابيضاض اللمفاوي الحاد

Cytogenetic translocation	Molecular genetic abnormality	%
Cryptic t (12;21)	TEL-AML1 fusion	25.4
t (1;19) (q23; p13)	E2A-PBX(PBX1) fusion	4.8
t (9;22) (q34; q11)	BCR-ABL Fusion (p185)	1.6
t (4;11) (q21; q23)	MLL -AF4 Fusion	1.6
t (8;14) (q24; q32)	IGH-MYC Fusion	
t (11;14) (p13; q11)	TCR-RBTN2 Fusion	

التصنيف (classification):

1-الفرنسي -الأمريكي -البريطاني (FAB :French-American-British)

يعتمد التصنيف السابق على معلومات عن شكل الخلية الورمية (الحجم-السيتوبلازما-النواة-الفجوات) [15].

الجدول رقم 5: تصنيف FAB للابيضاض اللمفاوي الحاد

FAB subtype	Cell type	Characteristics	Comments
All-L1	T-cell or pre-B cell	Small and homogenous (uniform) cells	
All-L2	T-cell or pre-B cell	Large and heterogenous (varied) cells	
All-L3	B-cell	Large and varied cells with vacuoles	Mature -B-cell All also named Burkitt leukemia typically poor prognosis with standard therapy.

2-تصنيف (world health organization):

يتم الاعتماد على هذا التصنيف من أجل وضع إنذارية للمرض، ومن أجل أخذ قرارات علاجية. صُنِّفَ المرض

بالاعتماد على التحاليل الصبغية والتحليل الجزيئية الجينية، حيث قُسمَ المرضى بالاعتماد على المواصفات

الجينية والصبغية والشكل المورفولوجي للخلايا الورمية، حيث يضم التصنيف ما يلي: [16]

B-lymphoblastic leukemia / lymphoma

- Not otherwise specified (NOS)
- With recurrent genetic abnormalities
- With t (9;22) (q34.1; q11.2), BCR-ABL1
- With t(v;11q23.3); KMT2A rearranged
- With t (12;21) (p13.2; q22.1); ETV6-RUNX1
- With t (5;14) (q31.1; q32.3) IL3-IGH
- With t (1;19) (q23; p13.3); TCF3-PBx1
- With hyper diploidy
- With hypodiploidy

T-Lymphoblastic leukemia / leukemia

Acute leukemia of ambiguous lineage

- Acute undifferentiated leukemia
- Mixed phenotype acute leukemia (MPAL) with t (9;22) (q34.1; q11.2); BCR-ABL
- MPAL with t(v,11q32.3); KMT2A rearranged
- MPAL, B/myeloid NOS
- MPAL, T/myeloid NOS

العوامل الإنذارية:

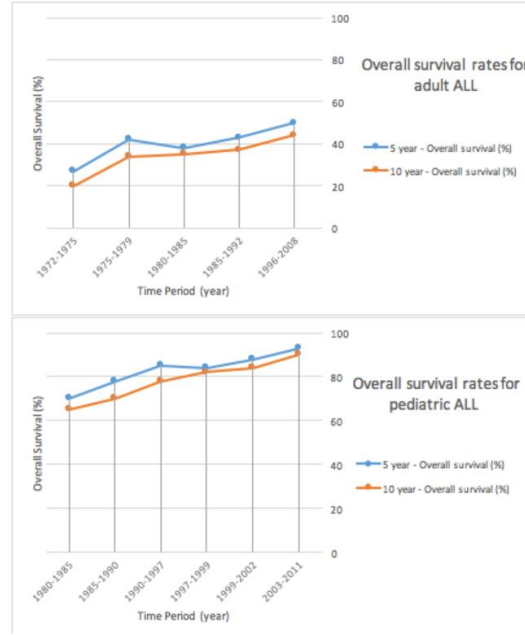
قبل اكتشاف وتطوير بروتوكولات العلاج الكيماوي وبروتوكولات زرع الخلايا الجذعية، كان وسطي فترة البقاء عند الأطفال لا تتجاوز 3 أشهر وذلك بسبب الإنتانات المتكررة والنزف. ومنذ عهد اكتشاف العلاج الكيماوي تحسنت فترة البقاء عند الأطفال المشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد. حيث إن 95% من الأطفال يحققون استجابة وهجوع كامل بعد 4 أسابيع من بدء العلاج، بينما تقدر نسبة البقاء ب 80% خلال 5 سنوات في البلدان النامية، بينما

يقدر حصول البالغين على الهجوع ب 60-80% خلال فترة 4 أسابيع. بينما تكون نسبة الشفاء حوالي 5% من البالغين الذين تجاوزت أعمارهم 70 سنة. [17]

لاتزال هناك عوامل إنذارية تحتفظ بدورها في تصنيف الالبيضاخ للمفاوي الحاد مثل العمر وتعداد الكريات البيض عند التشخيص والاستجابة للمعالجة البدئية، بينما برزت أهمية التتميط المناعي والدراسة الجينية بالإنذار. [18]

1-العوامل الشخصية:

- الجنس: الأنثى أفضل إنذاراً من الذكر.
- اختلاف الأعراق: القوقازيين يمتلكون إنذاراً أفضل من غير القوقازيين مثل (الأفارقة الأمريكيان - الآسيويين-الهيسبانيك)
- العمر عند التشخيص: الأطفال بعمر 1-10 سنة أكثر عرضة للإصابة بالالبيضاخ للمفاوي الحاد وهم الفئة الأكثر نجاحاً وقابلية للشفاء عند تلقي العلاج المناسب. إن الأشخاص الأكبر من 10 سنوات أكثر عرضة للشذوذات الصبغية (مثل وجود صبغي فيلادلفيا) مما يجعل الإنذار أسوأ وأكثر صعوبة بالعلاج. كما إن العمر المتقدم والذي يحدد بأكبر من 30-35 سنة يعد عاملاً إنذارياً مهماً حسب الدراسات المختلفة



الشكل رقم 2 مخطط يوضح مقارنة بالبقيا الإجمالية لخمس وعشر سنوات بين الأطفال والبالغين المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد (مقتبس من

(https://en.wikipedia.org/wiki/Acute_lymphoblastic_leukemia#/media/File:Overall_survival_rates_in_pediatric

- تعداد الكريات البيض عند التشخيص: إن تعداد الكريات البيض فوق 30.000 للابيضاض من النمط B و100.000 للابيضاض من النمط T تحمل إنذاراً أسوأ.
- انتشار الخلايا الخبيثة للجهاز العصبي (الدماغ والنخاع الشوكي): عند حدوث ذلك فإنه يسيء للإنذار.
- وجود الأمراض الجينية: مثل متلازمة داون -الشذوذات الصبغية (aneuploidy)- بعض الازفاءات كل العوامل السابقة تسيء للإنذار.

2-التنميط المناعي:

يعد الابيضاض اللمفاوي الحاد الناضج (Mature B cell All) من أسوأ الأنماط من ناحية الإنذار، والذي يتسم بالتعبير عن الغلوبولينات المناعية السطحية إما Kappa أو Lambda بالإضافة للواسمات المحددة للنسيلة البائية مثل CD10-CD19-CD20-CD22 حيث تكون استجابة هذا النمط للعلاج القياسي

للابيضاض اللمفاوي الحاد سيئة، بينما تحسنت الاستجابة بإعطاء أشواط مشددة أكثر ولفترة أقصر. كما يعد النمط (Early T cell ALL) من الأنماط سيئة الإنذار. [19]

3- الدراسة الصبغية:

من أهم الاضطرابات الصبغية والتي تعد ذات إنذار سيئ عند مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد: Hypodiploid Karyotype, t (9,22)، t (4,11)، t (1,19). أما تبادل المواقع translocation التي تشمل 14q11 أو الشذوذات في الذراع القصير للصبغي 12 ومن ضمنها t (12,21) تعد من الاضطرابات الصبغية جيدة الإنذار. أما الصيغ الصبغية التي تبدي إنذاراً متوسطاً فتشمل الصيغة الصبغية الطبيعية و Hypodiploidy و الشذوذات في 6q، 9p و t (8,14). [20]

الجدول رقم 6: ربط الشذوذات الصبغية مع إنذارية المرض

Cytogenetic change	Risk category
Philadelphia chromosome	Poor prognosis
t (4;11) (q21; q23)	Poor prognosis
t (8;14) (q24.1; q32)	Poor prognosis
Complex karyotype (more than 4 abnormalities)	Poor prognosis
Low hypodiploidy or triploidy	Poor prognosis
Deletion of chromosome 7	Poor prognosis
Trisomy 8	Poor prognosis
High hyper diploidy (trisomy4,10,17)	Good prognosis
Del(9p)	Good prognosis

زيادة تعداد الصبغيات (أكثر من 50 صبغي) و t(12;21) يعد عاملاً إنذارياً جيداً ويشكل 50% من حالات الابيضاض اللمفاوي عند الأطفال. [20]

الجدول رقم 7: ربط تعداد الصبغيات مع إنذارية المرض

Prognosis	Bone marrow cytogenetics
Favorable	Hyperdiploidy > 50; t (12;21)
Intermediate	Hypodiploidy 47-50; Normal (diploidy); del(6q) Rearrangement of 8q24
Unfavorable	Hypodiploidy, Near haploidy; Near tetraploidy, del(17p);t(9;22);t(11q23)

إن الابيضاض اللمفاوي غير المصنف يعتبر ذو إنذارية متوسطة.

4-المورثات الورمية Oncogenes:

يمكن استخدام تقنية Oligonucleotide Microarray لتحديد الجينات الورمية مثل HOX11 , HOX11L2 , TAL1 , LYL1 التي من الممكن أن يكون لها دور بتحديد إنذار T - cell ALL. ومن آليات حدوث الابيضاض الموصوفة حديثاً التفعيل البنيوي للتيروزين كيناز بوساطة NUP214-ABL1 fusion episome، وقد أكتشف عند 6% من مرضى T cell ALL، الكشف المبكر عن السابق يفيد في العلاج بمثبطات التيروسين كيناز مثل الایماتينیب.

5-إحداث الهدأة الباكر:

إن عدم القدرة على إحداث الهدأة Complete Response (CR) خلال 4 أسابيع من بدء العلاج يعد عامل سوء إنذار مستقل، كما يعد وجود الأرومات ما بين اليوم 7 و 21 من البدء بإحداث الهدأة مشعراً إنذارياً مهماً عند الأطفال.

6-البقيا الأصغرية للورم (MRD) Minimal Residual Disease:

وهي تشير إلى بقاء الابيضاض بعد الهدأة، حيث لا يمكن كشفها بالطرق المورفولوجية النسيجية ولكن يتم التحري عنها من خلال التتميط المناعي والدراسة الصبغية والتقنيات الجزيئية. إن الأهمية الإنذارية لـ MRD وصفت بداية في دراسات على الأطفال، حيث إن الكشف عن MRD خلال الصيانة تشكل القيمة التوقعية

الإيجابية للنكس. ساعدت الأهمية الإنذارية ل MRD للبدء بدراسات أكبر لتقييم فائدة المشعر السابق كعامل

إنذاري لاختيار المرضى لإجراء زرع نقي بعد الهدأة الأولى.

يُصنف الأطفال في بداية المعالجة وحسب بروتوكول EORTC الذي يتم تطبيقه في مشفى البيروني

الجامعي إلى منخفضي الخطورة (standard risk) أو عاليي الخطورة (intermediate / high risk) وعلى

ضوء المعايير السابقة يتم وضع خطة المعالجة.

الجدول رقم 8 : تصنيف المرضى الأطفال المصابين بالابيضاض اللمفاوي حسب عوامل الخطورة[20]

Factor	Unfavorable	Favorable
Age	<2 or >10 years	3-5 years
Sex	Male	Female
Race	Black	Caucasian
Organomegaly	Present	Absent
Mediastinal mass	Present	Absent
CNS involvement	Present	Absent
Leukocyte count	B-ALL > 30.000 mm ³ T-ALL > 100.000 mm ³	Low
Hemoglobin Concentration	>10 g / dl	<10g/ dl
Cell type	Non-Lymphoid	Lymphoid
Cell Lineage	Pre-B cell T-All	Early Pre-B cell
Karyotype	Translocation	Hypodiploidy
Response to treatment	Slow >1 week to clear blasts from blood	Rapid <1 week to clear blasts from blood
Time to remission	>4 weeks	<4weeks
Minimal residual disease	Positive at 3-6 months	Negative at 1 months (children) Or 3 months (Adult)

التدبير :MANAGEMENT

إن هدف المعالجة في الابيضاض اللمفاوي الحاد هو تحقيق هواده تدوم طويلاً، أي غياب الخلايا الخبيثة من نقي

العظم (عادة أقل من 5% من الأرومات يجب أن توجد في نقي العظم). يتكون العلاج من عدة خيارات: 1-العلاج

الكيميائي 2-العلاج الداعم 3- الكورتيزون 4-العلاج الشعاعي 5-علاج مكثف (يتضمن زرع النقي) 6-العلاج

الهدفي 7- العلاج المناعي.[21]

يعد تدبير الالبيضاخ للمفاوي الحاد عند بداية التشخيص حالة طارئة وتحدياً سريرياً لطبيب الأورام، حيث يكون الهدف في المرحلة الهجومية هو التخلص السريع من الخلايا الورمية بحيث لا يبقى في نقي العظم أقل من 5% من الأرومات، ويتوافق ذلك مع تراجع أو غياب كل الأعراض والعلامات التي تطورت عند حدوث المرض. إن من أكبر المخاوف في هذه المرحلة هو تطور متلازمة الانحلال الورمي، والتي تتطلب التدخل الفوري المناسب كونها تؤدي إلى اضطرابات استقلابية مهمة وأعراض رئوية وعصبية خفيفة إلى شديدة قد تكون مهددة للحياة. إن ركودة الكريات البيض داخل الأوعية الدموية أو ارتشاحها ضمن الأنسجة هو الذي يؤدي إلى ظهور الأعراض السريرية وارتفاع معدل الوفيات من 20 إلى 40%. وعلى الرغم من وجود العديد من خيارات العلاج جميعها مقبولة بشكل عام لكن ما يزال هناك الكثير من الغموض حول ملائمة كثير من التدخلات العلاجية، ولا توجد حتى الآن توصيات معتمدة على بروتوكول معين للتدبير. بشكل عام، يقسم العلاج إلى علاج داعم وعلاج لإنقاص تعداد الكريات البيض. [21]

العلاج الداعم Supportive care:

- 1-القلونة: إعطاء بيكربونات الصوديوم (NaHCO_3) مع السوائل الوريدية بجرعة 40-80 مك / ل، والحفاظ على PH البول بين (7 - 7.5). حيث تساعد قلونة البول على إذابة حمض البول وتسهيل طرحه. إن القلونة الزائدة قد تقاوم اعتلال الكلية فعند ($\text{PH} > 7.5$) تترسب حصيات الكزانتين والهيبيوكزانتين وعند ($\text{PH} > 8$) تترسب بلورات فوسفات الكالسيوم في الكليتين وتزيد الأمر سوءاً. يجب إيقاف القلونة عند عودة حمض البول لمستواه الطبيعي. [22]
- 2-الإمالة الجيدة: تساهم في زيادة الجريان في الدوران الكلوي وتحسين الرشح الكبي GFR. يوصى بإعطاء سوائل وريدية (ما يعادل 2-3 لتر / م² باليوم) على شكل (5% DS + 1/4 NS) أي دكستروز 5% ومحلول ملحي ربع النظامي 0.25 % بدون بوتاسيوم أو كلس أو فوسفور، يفضل الحفاظ على الصادر البولوي < 100 مل / م² سا (أو ما يعادل 3 مل / كغ / سا) وكثافة البول $\text{specific gravity} > 1.010$ وتبدأ الإمالة قبل العلاج الكيماوي ب 24 ساعة.

3-تدبير ارتفاع حمض البول: نستخدم الألوبيورينول بجرعة 300 مغ / م² / اليوم أو 10 مغ / كغ/اليوم فمويًا، الجرعة العظمى (800 مغ / اليوم). أو إعطاء الشكل الوريدي يعطى بجرعة 200 مغ / م² / اليوم والجرعة العظمى (600 مغ / اليوم).[22]

4- إعطاء المدرات: نستخدم فورسيميد بجرعة 0.5 – 1 مغ /كغ أو مانيتول بجرعة 0.5 غ / كغ خلال 15 دقيقة في حال عدم الاستجابة على الإمهاة والفورسميد. ويستطب استخدامها أحياناً في حالات نقص الصادر البولي نتيجة تراكم السوائل في الحيز الثالث لكنها لا تستخدم في حال وجود نقص حجم داخل الأوعية.[22]

5- نقل مشتقات الدم: يتم نقل الصفائح في حال كان تعداد الصفائح أقل من 20 ألف / مم³ للوقاية من حدوث النزف الدماغي، ولوحظ في دراسة للبالغين أن خطر الموت كان أكبر في فترات نقص الصفائح، يفضل تجنب نقل الكريات الحمر قدر الإمكان في حال وجود استقرار هيموديناميكي لأنها تزيد من اللزوجة.

6-المراقبة المخبرية والشعاعية: يجب مراقبة الشوارد والبولة والكرياتينين كل 4-12 ساعات حسب درجة خطورة تطور الانحلال الورمي للتدخل فوراً عند تفاقم الشذوذات الاستقلابية وتجنب الحاجة للتحال الدموي، وإجراء تعداد دم كامل 1-2 مرة باليوم، مع مراقبة تخطيط القلب في حال حدوث ارتفاع بوتاسيوم الدم أو نقص الكلس، يجب مراقبة الأعراض التنفسية وإجراء CT دماغ أو MRI في حال تطور علامات أو أعراض عصبية أو MRA عند الشك بحادث وعائي دماغي. [22]

7-تدبير الاضطرابات الشاردية:

ارتفاع البوتاسيوم:

لا يتم إعطاء البوتاسيوم مع السوائل إلا في حال النقص الشديد. في حال ارتفاع البوتاسيوم الشديد نعطي الراتنج الخالب للبوتاسيوم هو سلفونات بولي سيترين الصوديوم (Sodium Polystyrene Sulfonate)

أو ما يسمى (Kayexalate) ويستخدم بجرعة (1 غ / كغ فموي كل 6 ساعات مع 50 - 150 مل سوربيتول 50 %). [12]

كما يجب في حالات الارتفاع الشديد للبوتاسيوم مراقبة تخطيط القلب وإعطاء ما يلي:

- أنسولين سريع (0.1 وحدة / كغ) مع دكستروز 25% (2 مل / كغ) أو دكستروز 50% (1 مل / كغ) عبر وريد مركزي مع مراقبة لصيقة لسكر الدم وهذا يساعد على نقل البوتاسيوم إلى داخل الخلايا.

- غلوكونات الكالسيوم (100 - 200 مغ / كغ / الجرعة) أو كلوريد الكالسيوم (10 مغ / كغ) تسريب وريدي خلال 30 دقيقة مع مراقبة نظم القلب، تساعد على حماية العضلة القلبية من اضطرابات النظم المهددة للحياة.

- بيكربونات الصوديوم (NaHCO_3) وتسرب وريدياً بجرعة (1-2 مك / كغ) مع الانتباه لعدم تسريبها مع الكلس، تساعد في تحقيق التوازن على جانبي الغشاء الخلوي للخلية العضلة القلبية، كما تؤدي دوراً في معاكسة الحمض حيث إن كل ارتفاع 0.1 وحدة في ال PH يقابله انخفاض بالبوتاسيوم حوالي 1 مك / لتر.

في حال عدم جدوى الإجراءات السابقة في تخفيض البوتاسيوم يجب إجراء التحاليل الدموي. [12]

• ارتفاع الفوسفات:

تحتوي الأرومات اللمفاوية على 4 أضعاف كمية الفوسفات الموجودة في الخلايا اللمفاوية الطبيعية. من التدابير الوقائية والعلاجية لخفض الفوسفات ما يلي:

- الإمالة الجيدة والادرار

- الحمية ناقصة الفوسفور

-استخدام هيدروكسيد الألمنيوم كرابط للفوسفات بجرعة (150 مغ/ كغ / اليوم) أي ما يعادل (15 مل فموي كل 4-6 ساعات). إن الخالب السابق ينقص الامتصاص الهضمي للفوسفور لكن لا يؤثر في فوسفات الدم.

-هناك تقارير عن استخدام ناجح لمادة رابطة للفوسفور تدعى sevelamer hydrochloride على شكل كبسول بجرعة (120 مغ / كغ / اليوم) تعطى مع الوجبات بدلاً من هيدروكسيد الألمنيوم حيث ترتبط مع الفوسفات وتمنع ارتباطها بالكالسيوم.[12]
وفي حال فشل الإجراءات السابقة نبدأ بالتحال الدموي.

• نقص الكلس:

يعالج بغلوكونات الكالسيوم 10 % بجرعة (10 مغ / كغ كالسيوم عنصري) أي (0.5 - 1 مل / كغ) فقط في حال وجود أعراض مثل التكرز - اضطراب النظم -اختلاج لأن زيادة الكلس تزيد حاصل جداء (P*Ca) وتؤدي لترسب فوسفات الكلس في الأنابيب الكلوية.

8-التحال الدموي:

في حال فشل التداخلات الطبية لتصحيح الاضطرابات الشاردية وشح البول من الضروري إجراء تحال دموي.

استطبابات التحال الدموي هي: [12]

-ارتفاع البوتاسيوم < 6 مك / لتر معند، أو ارتفاع البوتاسيوم المستمر مع مركب QRSعريض

-فرط الحمل وانصباب الجنب أو انصباب التامور

-ارتفاع حمض البول المعند

- نقص كلس الدم الشديد العرضي المعند

-ارتفاع الفوسفات المعند <10 مغ /دل.

-الحماض الاستقلابي الشديد المعند

-ارتفاع ضغط الدم ($BP > 15/9$) مع عدم كفاية الصادر البولي بعد 10 ساعات من العلاج

-شح أو انقطاع البول غير المستجيب للإمهاء والمدرات

-انخفاض معدل الرشح الكبي ($GFR < 50\%$)

-أعراض اعتلال الدماغ اليوريميائي

-أعراض قصور القلب الاحتقاني

إنقاص عدد الخلايا الأرومية: Cyto reduction:

يتم تحقيق ذلك بطريقتين: 1 - فصادة الكريات البيض أو تبديل الدم

2- العلاج الكيماوي

1-فصادة الكريات البيض leukapheresis:

بالتعريف الإزالة السريعة للكريات البيض عن طريق الفصل الميكانيكي. لقد أصبح هذا الإجراء روتينياً في كثير من المراكز العلاجية. هناك أجهزة حديثة تقوم بفصل الكريات البيض وسلائفها عن طريق الطرد المركزي وبالتالي يمكن تقليل عدد الكريات خلال عملية فصل واحدة من 15% إلى 75%. في حال عدم توفره أو عند الرضع والأطفال ذوي الوزن > 12 كغ يمكن اللجوء لإجراء تبديل دم جزئي والتعويض بالدم مع / أو البلازما كاستراتيجية بديلة للتقليل من عدد الكريات البيض. حسب دراسات أجريت على الأطفال لوحظ انخفاض في تعداد الكريات البيض من 55% إلى 65% في حال إجراء تبديل دم ومن 50% إلى 63% في حال إجراء فصادة، لوحظ انخفاض في معدل حدوث متلازمة الانحلال الدموي عند مرضى الابيضاض اللمفاوي

الحاد مع تعداد بيض أكثر من 200 ألف / مم³ الذين خضعوا لفصادة كريات بيض مقارنة مع أولئك الذين لم يفعلوا. هناك سببان يجعلان من هذا الإجراء غير عملي بشكل كبير: [11]

السبب الأول: إن الفصادة تنقص الكريات البيض الجائلة في الدوران، لكنها لا تنقص الخلايا الأرومية الموجودة في نقي العظم والتي تشكل العبء الأكبر، والتي يمكن أن تنطلق مباشرة إلى الدوران المحيطي بعد فترة قصيرة من إجراء عملية الفصد.

السبب الثاني: بينت جميع التجارب السريرية أن الفصادة لا تؤثر في الإنذار على المدى البعيد حيث إنها لم تقلل من معدل النكس ولم تزد من نسب البقاء، كما لها دور مثير للجدل في الوقاية من المضاعفات الباكرة مثل النزف الدماغي والموت المبكر. [11]

السبب الثالث: فضلاً عن الصعوبات اللوجستية عند القيام بهذا الإجراء والتي يجب أخذها بعين الاعتبار مثل الحاجة لاستخدام مميغات الدم عند القيام بهذا الإجراء والتي تزيد من الأهبة للنزف، الحاجة لتركيب لوريد مركزي وما يحمل هذا الإجراء من مخاطر بحد ذاته خاصة عند الأطفال الصغار عدا عن الكلفة العالية للإجراء السابق. [11]

2-العلاج الكيميائي:

هو الخيار الأول ويجب البدء به عند استقرار المريض وكفاية الصادر البولي لأنه يقلل عدد الخلايا الالبيضاوية في نقي العظم. لكن بالمقابل قد يؤدي إلى التدهور السريري نتيجة تحلل الكريات البيض بشكل سريع، لذا يفضل البدء بجرعات منخفضة من البريدلون عند مرضى الالبيضاخ اللفواي الحاد مع تعداد أكثر من 300 10^9 /لتر قبل العلاج الهجومي (Induction)، والهدف هو العمل على حل الخلايا الأرومية بشكل تدريجي كمحاولة للتقليل من شدة الاضطرابات الاستقلابية المحتملة وخطر حدوث متلازمة الانحلال الورمي، ويفضل تأخير تطبيق العلاج السام للخلايا في حال وجود قصور كلوي أو اضطرابات شاردية شديدة أو تطبيقه بعد جلسة التحال الدموي وليس قبلها وتعاد الجلسة كل 12 ساعة في حال وجود متلازمة الانحلال الورمي. [19]

العلاج الكيميائي هو العلاج الوحيد الذي أثبت نجاحه في تحسين البقاء، لذا فهو الخيار الأول في العلاج، ونلجأ للفصادة في حال وجود استطباب لتأخير العلاج الكيميائي أو عند المرضى العرضيين بغض النظر عن عدد الكريات البيض، أو في حال تعداد أكثر من 300 ألف / مم³ في ALL.

هناك كثير من الخطط العلاجية الناجحة لعلاج مرضى الـ ALL جميعها تتضمن المراحل الأساسية التالية:

1- Induction العلاج الهجومي وهدفه إحداث الهوادة

إن عدم تحقيق الهوادة الدموية أو في نقي العظم خلال أسبوعين من بدء العلاج الكيميائي، مشعر يدل على خطورة نكس عالية، وعند عدم تحقق السابق يجب البدء بالعلاج المكثف. نبدأ بهذه المرحلة بإعطاء علاج كيميائي ضمن الجملة العصبية المركزية بشكل وقائي إما عن طريق الحقن ضمن السيساء أو استخدام Ommaya reservoir. كما يمكن إعطاء علاج وقائي للجملة العصبية المركزية عن طريق ما يلي: -تشجيع الدماغ والنخاع الشوكي - إعطاء Methotrexate +Cytarabine عن طريق الحقن ضمن السيساء - إعطاء Liposomal cytarabine. يتكون العلاج الكيميائي في هذه المرحلة بشكل أساسي من الأدوية التالية: * كورتيزون (بريدلون أو ديكساميثازون) * فينكرستين * أسبارجينا * داونوروبيسين.[19]

2- Consolidation المرحلة المكثفة هدفها تعزيز الهوادة

إن الهدف من هذه المرحلة هو إنقاص الخلايا الورمية للحدود الدنيا، عن طريق إعطاء جرعات عالية من الأدوية الكيميائية، تُعطى الأدوية التالية في هذه المرحلة: فينكرستين * سيكلوفوسفاميد * سيتوزار * داونوروبيسين * ايتوبوسايد * تيوغوانين * ميركابتبورين. وفي حال حدوث نكس في الجملة العصبية المركزية نعطي الأدوية الآتية حقناً ضمن السيساء (هيدروكورتيزون، ميتوتريكسات، سيتارابين). [19]

3- Maintenance مرحلة الصيانة

في النهاية يتم البدء بإعطاء مرحلة الصيانة وذلك للحفاظ على الهجوع، تستمر هذه المرحلة لمدة 3 سنوات عند الأطفال الذكور، 2 سنة عند الإناث والبالغين. والتي تتكون بشكل أساسي من إعطاء مركبات البورين (6-MP)

يشكل فموي ويومي الميتوتريكسات (MTX) بشكل فموي أسبوعي، مع استخدام بعض الأدوية الأخرى مثل فينكرستين (vincristine) والإندوكسان (Cyclophosphamide) بين الحين والآخر. في دراستنا طبقنا بروتوكولات معينة وذلك تبعاً للمراكز التي أجريت فيه الدراسة فالمرضى تحت سن 17 سنة عولجوا باستخدام واحد من البروتوكولات التالية: 1 - ECOG AR1، 2 AR2 - بروتوكول St Jude protocol total XV. أما المرضى فوق 17 سنة عولجوا بأحد البروتوكولين: 1- HyperCVAD -2 GMAI-2 protocol 84.

تختلف جرعة 6MP المستخدمة في مرحلة الصيانة تختلف باختلاف البروتوكول المتبع، يتم استخدام 50 ملغ/م² من 6MP في بروتوكول EORTC، أما في بروتوكول St Jude فيتم استخدام 75 ملغ / م². أما في البروتوكولات المستخدمة عند البالغين فيتم استخدام 60 ملغ/م². [19].

العلاج الشعاعي: (Radiation Therapy)

نبدأ بالعلاج السابق في حال وصول المرض للجذعة العصبية (الدماغ، النخاع الشوكي)، إن 10-40% من البالغين المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد لديهم إصابة بالجذعة العصبية المركزية عند التشخيص، يجب البدء بالعلاج الوقائي للجذعة العصبية المركزية، نبدأ بالعلاج السابق خلال المرحلة الهجومية، وتستمر المعالجة في مرحلة التعزيز والعلاج المكثف. إن العلاج الشعاعي كان يستخدم لتشيع كامل الدماغ والجذعة العصبية بشكل وقائي لمنع حدوث النكس في الأماكن السابقة، إن الدراسات الأخيرة أظهرت فعالية للعلاج الكيماوي المحقون داخل الجذعة العصبية تفوق التشيع الوقائي للقحف مع تأثيرات جانبية أقل، لذلك اقتصر إعطاء العلاج الشعاعي فقط على الأماكن المؤلمة من العظم، بالإضافة يتم استخدامها في البروتوكولات التحضيرية لزراعة نقي العظم حيث يتم إعطاء تشيع لكامل الجسم Total body irradiation. [19] [3]

زراعة الخلايا الجذعية: (Stem Cell Transplantation)

نلجأ لزراعة الخلايا الجذعية في حال نكس المرض بعد العلاج الكيماوي بالبروتوكولات المعتمدة المعروفة.

العلاجات الحديثة المناعية: (Immunotherapy treatment) [23]

تستخدم هذه التقنية قطعة مكونة من سلسلة مفردة متغيرة single chain variable fragment (ScFv) مصممة للتعرف على مستضد سطحي (CD19). إن CD19 هو مستضد موجود على سطح الخلايا B ويمكن أن يستخدم كوسيلة للتعرف على الخلايا البائية الخبيثة. في هذه الطريقة من المعالجة يتم حقن مستضدات CD19 في الفئران ثم ينتج أضداد anti-CD19. Hybridomas يتم تطويرها في طحال الفئران حيث يتم إنتاجها من الخلايا النقوية كمصدر لـ CDNA التي ترمز لأضداد CD19.

في 2017 أخذ دواء يطلق عليه اسم tisagenlecleucel موافقة الجمعية الأمريكية للدواء والغذاء (FDA) وهو عبارة عن علاج بـ CAR-T، يستخدم الدواء السابق في علاج الالبيضاخ للمفاوي الحاد من النمط B الناكس على عدة خطوات علاجية، إن الدواء السابق مصمم لكل شخص على حده حيث يتم أخذ الكريات البيض من النمط T من المريض نفسه، ثم تعدل جينات الكريات السابقة بإدخال تعديلات جينية عن طريق فيروسات معينة لتظهر مستضدات على سطح الخلايا التائية، حيث تهاجم الخلايا الخبيثة الالبيضاخية. [24]

العلاجات الهدافية: (Targeted treatment)

نستخدم TKI (Tyrosine Kinase Inhibitor) مثل Imatinib، حيث يعطى غالباً مع العلاج الكيميائي عند مرضى الالبيضاخ للمفاوي الحاد إيجابي صبغي فيلادلفيا (ph+) BCR-ABL، معظم المرضى السابقين يكونون معنيين على العلاجين الكيميائي والهدف، ونضطر في نهاية المطاف لإجراء زرع خلايا جذعية غيري allogenic stem cell [25].

Blinatumomab هو عبارة عن ضد وحيد النسيلة يستهدف مستضدين CD3، CD19 على سطح الخليتين T و B على التوالي حيث يحرض على تحرير سيتوكينات وبروتينات وخلايا T لقتل الخلايا B إيجابية CD19. [3]

البروتوكول الأول EORTC AR1: (موجود كاملاً في الملحق رقم 1)

Maintenance Therapy

Starts 14 days after completion of protocol II.

The first 60 weeks of maintenance therapy are subdivided in 6 periods of 10-week duration each (or 70 days). Within each of these periods, the treatment is as follows:

- 6-MP 50 mg/m²/day, p.o. in one administration, in the evening, except for weeks of prednisone
- MTX 20 mg/m², p.o. once a week, except for weeks of HD MTX or prednisone
- PRED 60 mg/m²/day every 70 days for 7 days, starting D57-63, 6 times.
- Vincristine 1.5 mg/m² (max: 2 mg) IV every 70 days on D57 and D36, 6 times
- Triple i.t. chemotherapy (MTX + Ara-C + hydrocortisone) every 70 days, starting on day 22 of maintenance, 6 times

البروتوكول الثاني EORTC AR2: (موجود كاملاً في الملحق رقم 1)

Maintenance Therapy

Starts 14 days after completion of protocol II.

The first 60 weeks of maintenance therapy are subdivided in 6 periods of 10-week duration each (or 70 days). Within each of these periods, the treatment is as follows:

- 6-MP 50 mg/m²/day, p.o. in one administration, in the evening, except for weeks of prednisone

- MTX 20 mg/m², p.o. once a week, except for weeks of HD MTX or prednisone
- PRED 60 mg/m²/day every 70 days for 7 days, starting D57-63, 6 times.
- Vincristine 1.5 mg/m² (max: 2 mg) IV every 70 days on D57 and D36, 6 times
- HD MTX 5000 mg/m² IV over 24 hours every 70 days on day 22, 6 times
- L-asparaginase 25000 units/m² IM on day 23 of each cycle, 6 times
- Triple i.t. chemotherapy (MTX + Ara-C + hydrocortisone) every 70 days, starting on day 22 of cycle, 6 times

البروتوكول الثالث: St Jude protocol total XV (موجود كاملاً في الملحق رقم 1)

البروتوكول الرابع: HyperCVAD protocol (موجود كاملاً بالملحق رقم 1)

الفصل الثاني: دواء 6-Mercaptopurine (الاسم التجاري بورينتول (Purinethol

تتضمن مركبات الثيوبورين (Thiopurines) ثلاثة مركبات أساسية: ازاثيوبرين (AZA)، المركابتوبورين (MP)، التيوغوانين (TG)، تصنف الأدوية السابقة كمركبات غير فعالة (Pro-drug) تستقلب في الجسم لتتحول لشكلها الفعال تعد حجر الأساس في علاج الكثير من أدواء المناعة الذاتية والسرطانات، لكن بالرغم من دورها الفعال في علاج الأمراض السابقة تتصف بأنها تمتلك مجالاً علاجياً ضيقاً (narrow therapeutic index) أي تتظاهر سمية الدواء بسرعة عند عدم ضبط جرعة الدواء بما يتناسب مع العضوية. [26][27]

سوف نركز في دراستنا على دواء المركابتوبورين (6-Mercaptopurine) الذي له دور كبير في علاج الابيضاض اللمفاوي الحاد، داء كرون، التهاب الكولون القرصي.

ألية عمل الدواء:

يتنافس المركابتوبورين مع مشتقات مركبات البورين (Purine) الأساسية الموجودة في الجسم (hypoxanthine guanine) عند الإنزيم (HGpRT)، ويستقلب عن طريق الإنزيم السابق إلى التيو انوزين مونوفوسفات thio- inosine monophosphate (TIMP).

يثبط المستقلب السابق العديد من التفاعلات الكيميائية داخل الجسم من أهمها قلب مستقلب الانوزينك أسيد (inosinic acid) (IMP) إلى الكزانتيليك أسيد (xanthylic acid) (XMP)، كما يثبط قلب (IMP) الى مركب الأدينيليك أسيد (adenylic acid) (AMP).

كما تتم متيلة TIMP داخل الجسم إلى (6-methylthioinosinate) (MTIMP)، يقوم المركبان المذكوران آنفاً بتنشيط إنزيم الغلوتامين 5-فوسفوريبوزيل البايروفوسفات أميدوترانسفيراز (5-glutamine phosphoribosyl pyrophosphate amidotransferase) وهو الإنزيم الأول في سلسلة تصنيع الريبونوكليوتيد من نمط البورين (purine) في سبيل (de-novo). [27]

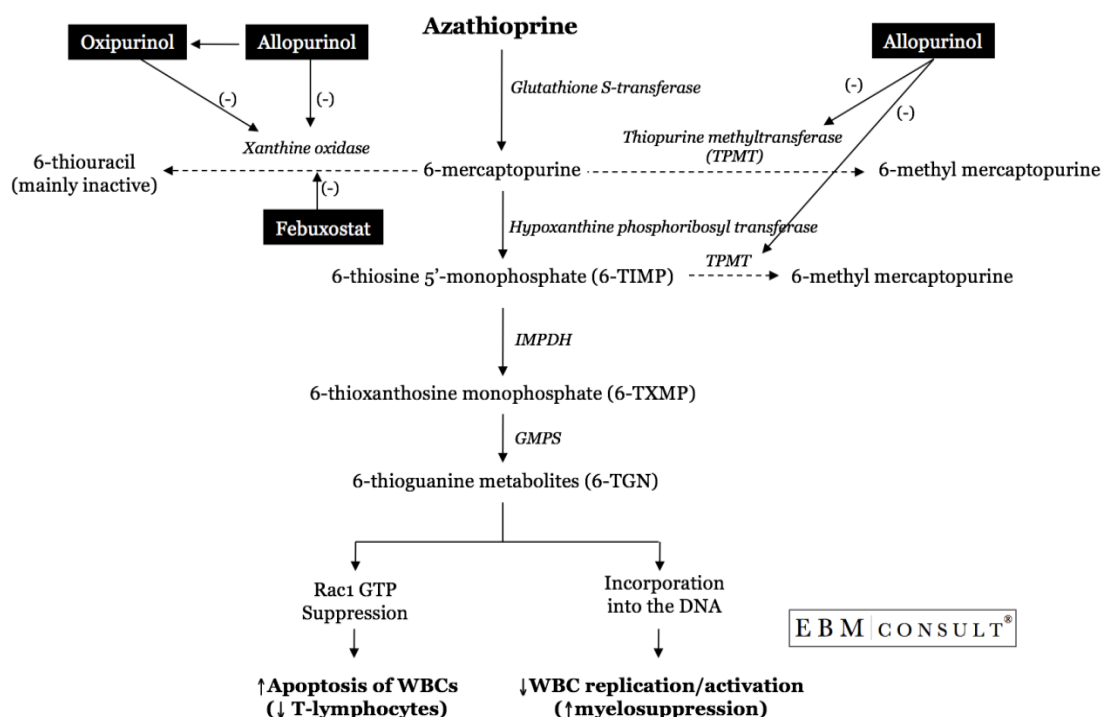
بعض الأجزاء من المركابتوبورين تتحول إلى مشتقات النكليوتيد من نمط التيوغوانين (6-thioguanine) عن طريق سلسلة من التفاعلات يقودها إنزيمين أساسين: (inosinate dehydrogenase)، (xanthylate) aminase والتي يكون نتيجتها تحويل TIMP إلى thioguanilyc acid (TGMP). [27]

إن المتيلة السابقة التي تحدثنا عنها تؤدي في النهاية إلى تشكيل اضطراب في تزواج ثنائيات نكليوتيد Me-6-thio-GT، حيث تفشل آليات الإصلاح (mismatch repair) مما يؤدي إلى ضرر في الدنا غير قابل للتعديل فتتوجه الخلية إلى الموت المبرمج (الشكل 3).

التأثيرات الجانبية:

تحدث التأثيرات الجانبية بنسبة 5-25 %، وهي تقسم بشكل عام إلى نمط تحسسي ونمط غير تحسسي، النمط الأول يحدث بالأسابيع 3-4 الأولى من العلاج وهو لا يتعلق بجرعة الدواء من ضمنها التهاب البنكرياس، الحرارة، الطفح، التعب والوهن العام، السمية الكبدية. أما النمط الثاني فيحدث متأخراً وهو لا يتعلق بالجرعات ويتضمن السمية النقوية، الانتانات والخباثات الثانوية.

من أهم التأثيرات الجانبية: التثبيط النقوي (نقص الكريات البيض بنسبة 1-3 %، نقص الصفيحات بنسبة 3-10 %)، سمية كبدية 15 %، غثيان وإقياء بنسبة 10 %، طفح جلدي بنسبة 1-3 %، حاصة 3-1 % كما يوجد بعض التأثيرات غير محددة النسبة مثل تقرحات فموية، حرارة، تكدمات، نزوف نقطية، تغير بطبيعة البول والبراز. [28][29]



الشكل رقم 3: يوضح استقلاب مركبات البورين في الجسم (مقتبس من

(<https://www.ebmconsult.com/articles/allopurinol-azathioprine-interaction-mechanism-wbc>)

علم الجينات الدوائي فيما يتعلق باستقلاب المركبات البورين:

في البداية سوف نلخص أهم الجينات المتعلقة باستقلاب المركبات البورين (mercaptopurine) مع أهم التعدادات الشكلية لهذه الجينات ثم نسب تكرار ورود التعدادات الشكلية في الجدول رقم 1، ثم بعد ذلك سوف نلخص الجينات التي ثبت تورطها بالطب المسند بالدليل، وأخيراً كيفية ادخال استخدام التحاليل التي تكشفها في بروتوكولات المعالجة.

1- السمية النقية مع عدم تحمل جرعات الأدوية:

تقوم معظم الأدوية الكيماوية بقتل الخلايا التي تتكاثر بسرعة، خاصة الخلايا الموجودة في نقي العظم، وذلك يقود إلى سمية نقوية مع عدم تحمل جرعات الأدوية. وحالياً معظم الدراسات التي لها علاقة بعلم الجينات الدوائي تركز على دوائيين هما مركبات البورين (6-MP) والميتوتريكسات لأنهما الدواءان الأساسيان اللذان يستخدمان في مرحلة الصيانة بكل بروتوكولات علاج اللابيضاض اللمفاوي الحاد.

مركبات البورين (6-MP) يتحول إلى مستقلباته الفعالة (thioguanine –thio–deoxyguanine nucleotide) حيث يحرض على السمية الخلوية عند الاندماج مع (RNA –DNA) على التوالي. معظم الجينات التي درست والتي لها علاقة بالسمية النقية هي جينات ترمز وسائط نقل (transporter) وإنزيمات نازعة للسمية (detoxifying enzymes) وإنزيمات تتدخل باستقلاب البورينات (purine). [30]

1-1- دراسة التعدد الشكلي لجين (ABCC4 Atp binding cassette) (subfamily C member 4):

تمت الدراسة عند 70 مريضاً مصرياً وقد وجد ارتباط بينها وبين السمية النقية التي سببها مركبات البورين (6-MP)، إن التغيرات التي وجدت في الأليل (rs2274407) مرتبطة بشكل مهم مع نقص الكريات البيض والصفائح ونقص المعتدلات. كما درس أليل آخر برقم (rs3765534) عند 95 يابانياً وقد ارتبط وجوده بشكل أساسي مع نقص كريات بيض شديد.

1-2- دراسة التعدد الشكلي لجين (SIC01B1):

تم دراسة أليلين بالأرقام (rs1104587 , rs4149056) عند 48 تركياً، وقد وجد عدم تحمل لجرعات مركبات البورين (6-MP) والميتوتريكسات عند هؤلاء المرضى. [31]

1-3- دراسة التعدد الشكلي لجينات إنزيمات نازعة السمية:

يوجد جين **GSTM1** (**Glutathione s-transferase Mu 1**) ترمز إنزيم مهمته نزع سمية الكثير من المواد المسرطنة والأدوية عن طريق ضمها ل (glutathione). تمت دراسة الإنزيم السابق عند 36 مريضاً إيطالياً حيث وجد أن الأشخاص الذين لديهم أليل (rs4025935) معرضون لإنتانات شديدة أكثر من غيرهم. [32]

بالمثل يوجد جين **GNMT** (**Glycine N –methyltransferase**) ترمز إنزيم كبدي مهمته نزع سمية الكثير من الأدوية، تمت دراسة الإنزيم السابق عند 308 مريض سلفويني حيث وجد أن التعدد الشكلي للجين بالرقم (

rs10948059 مرتبط بسمية دموية عالية خاصة للمرضى الذين يملكون تبديلاً على مستوى النكليوتيد (TT) (CT) مقارنة مع النموذج (wild type CC). [33]. أو

يوجد أيضاً جينات تؤدي دوراً في استقلاب مركبات البورين (6-MP)، وإن التعدد الشكلي لهذه الجينات يؤدي دوراً مهماً في استقلاب مركبات البورين (6-MP) وقد يزيد من سميته وعدم التسامح مع جرعاته، من الأمثلة عن الجينات السابقة:

4-1 TPMT- (Thiopurine S-methyltransferase):

هو عبارة عن إنزيم يقلب مركبات البورينات (thiopurine) إلى مستقلبات غير فعالة. عند وجود أليلات طافرة للجينات التي ترمز للإنزيم السابق يؤدي ذلك إلى اضطراب على مستوى الإنزيم والذي يساهم بدوره بزيادة تراكيز أدوية مركبات البورين خاصة (6-MP) مسبباً سمية أعلى. يوجد كثير من الدراسات التي ركزت على الإنزيم السابق من الأمثلة: دراسة أجريت على 68 بلغارياً و1135 طفل بريطانياً، حيث درسوا تغير نكليوتيد وحيد على مستوى الجين يؤدي إلى تعدد شكلي (TPMT3B، TPMT3C) بأرقام (rs1800460, rs1142345) على التوالي. حيث أظهرت التعدادات الشكلية ازدياد تعرض المرضى لنقص الكريات البيضاء مقارنة مع النموذج السوي من الجين (wild type)، [34][35] مما يتطلب تعديلاً على كمية الدواء عند وجود التعدادات الشكلية السابقة. كما درس الإنزيم السابق عند 164 تركياً و203 بولندياً حيث أكدت الدراسة على أن تعداد الكريات البيض أقل، كما أن جرعات (6-MP) منخفضة عند وجود التعدادات الشكلية الطافرة مقارنة مع النموذج السوي (wild type). كما وجد أن المرضى قد تعرضوا لإنتانات من الدرجة 2 وانقطاع عن تلقي العلاج الكيماوي بشكل أكبر بالمجموعة الأولى مقارنة مع الثانية. [36][37][38]

Nucleoside diphosphate –linked moiety x-type) NUDT15 – 5-1

:(motif

إن الجين السابقة ترمز إنزيم يقلب مركبات البورينات إلى مستقبلات غير فعالة. إن التعدد الشكلي في الجين السابقة يؤدي إلى تراكم المستقبلات السامة لمركبات البورينات، إن التعدد الشكلي للجين وخاصة ذوات الأرقام (rs147390019,rs55440599,rs116855232) تؤدي لخطورة عالية لنقص الكريات البيض مع عدم تحمل جرعات مركبات البورين (6-MP)، حيث أكد الموضوع السابق في عدة دراسات على 404 صيني، 124 أورغوي، 270 طفل أسيوياً. [26][40][39]

أجريت دراسة (GWAS) على 1028 طفلاً من مختلف الأعراق حيث وجدت الدراسة أن المرضى الذين لديهم الأليل رقم (rs116855232) من النموذج (TT) كان لديهم عدم قدرة على تحمل جرعات مركبات البورين (6-MP) مقارنة مع النموذج (CC، TC). أكدت النتائج السابقة بدراسة أجريت على 371 مريضاً لديهم ابيضاض لمفاوي حاد. كما أجريت الدراسة السابقة على 105 طفل صيني حيث أكدت نفس النتائج. إن الأشخاص اليابانيين الحاملين للأليل (T) لديهم تعرض أكبر لنقص الكريات البيض أكثر من غيرهم. إن المرضى الفايلانديين الذين لديهم النموذج (TT أو CT) من جين (NUDT15) ذات الرقم (rs116855232) لديهم خطورة عالية لتطور نقص كريات بيض وخاصة في أول شهرين من تلقي مركبات البورين (6-MP). [44][43][42][41]

6-1 – ITPA (Inosine triphosphatase):

إن الجين السابقة ترمز إنزيم (ITP ase)، وهو عبارة عن إنزيم يقوم بإعادة استخدام مركبات البورين التي لديها الشكل (ITP)، دُرس الإنزيم السابق عند 19 مريضاً بريطانياً لديهم ابيضاض لمفاوي حاد حيث وجد أن المرضى الذين لديهم النموذج من الجين (rs7270101) والذي تبدل النكليوتيد في الموقع (IVS2+21) من A إلى C، مما يعرض المرضى أكثر من غيرهم لتراكيز عالية من مستقبلات سامة لمركبات (6-thioguanine) وهي مرتبطة بنقص الصفائح. [13] بالإضافة وجد أن الأطفال الذين لديهم النموذج الطافر من الجين (rs1127354) والذي

تم استبدال النكليوتيد C إلى A في الموقع 94 لديهم خطورة عالية لتطور نقص معتدلات عند استخدام مركبات البورين، حيث تم تأكيد السابق في 3 دراسات مكونة من 63 هندياً، 136 لبنانياً و 74 مريضاً من شمال العراق. [45][46]

2- السمية الكبدية (Hepatotoxicity):

تعد السمية الكبدية من أهم التأثيرات الجانبية التي تظهر عند إعطاء العلاج الكيميائي لمرضى الالتهاب الكبد المزمن الحاد بشكل عام. عند تطور السمية السابقة نضطر في كثير من الأحيان إلى إيقاف المعالجة التي تؤدي بدورها إلى زيادة نسبة النكس. يمكن أن تحدث السمية السابقة عند وجود اضطراب بجينات ليس لها علاقة باستقلاب الأدوية من الأمثلة عليها PNPLA3 (palatin-like phospholipase domain containing protein3) ، كما يمكن أن تحدث السمية بجينات لها علاقة باستقلاب الأدوية الكيميائية مثل جين (ITPA) أجرت (GWAS) دراسة على 715 طفلاً بمركز (St. Jude) مشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد تلقوا علاجاً بمركبات البورين (6MP) أظهرت الدراسة أن المرضى الذين لديهم تعدداً شكلياً ببعض الجينات أكثر عرضة لارتفاع خمائر الكبد (ALT) بعد العلاج الهجومي. [47] تم إجراء الدراسة السابقة على 2285 طفلاً في مجموعة علاج أورام الأطفال (Children Oncology Group COG) ، كما أجريت دراسة من نمط (Cohort) على 63 طفلاً شرق آسيوي مشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد حيث تلقوا العلاج بمرحلة الصيانة. حيث وجد أن التعدد الشكلي بجين (ITPA) ذات رقم (rs1127354) والتي تتوافق مع تغير النكليوتيد من (C) إلى (A) بالموقع 94 مرتبطة مع زيادة خطورة السمية الكبدية. [48]

جدول رقم 9: أهم التعدادات الشكلية للجينات المرتبطة بسميات مركبات البورين في علاج الالتهاب الكبد المزمن الحاد عند الأطفال					رقم (rs)	الجين	التأثير الجانبي
نسبة الانتشار لمختلف الألائل بين الأعراق				التبديل على النكليوتيد			
عالميا	أوروبا	أفريقيا	شرق آسيوي				
0.07	0.07	0.05	0.16	C > A, G	1127354	ITPA	التثبيط النقوي
0.10	0.12	0.06	0.00	A > C	7270101		التأثير عالي

0.09	0.001	0.002	0.003	C > T	116855232	NUDT15	
0.000	0.000	0.000	0.000	G > A	147390019		
1.3	0.1	0.3	-	insGGAGTC	55440599		
0.48	0.15	0.16	0.16	T > C	11045879	SLCO1B1	
0.16	0.04	0.15	0.14	T > C	4149056		
0.01	0.05	0.04	0.04	T > C, G	1142345	TPMT	
0.000	0.009	0.03	0.03	C > T	1800460		
							السمية الكبدية التأثير عالي
0.16	0.05	0.07	0.07	C > A, G	1127354	ITPA	

علم الجينات الدوائي والتي تم إدخال استخدامها في بروتوكولات المعالجة:

بالرغم من وجود عدد كبير من دراسات الحرائك الدوائية المتعلقة بالجينات والتي ركزت على الابيضاض اللمفاوي الحاد عند الأطفال، وبالرغم من النتائج المهمة لدراسات قامت بالتركيز على التعدد الشكلي للعديد من الجينات والتي ثبت تورطها في العديد من السميات لأدوية كيماوية. إلا أن العديد من التعدادات الشكلية لم تأخذ بعد الموافقات من المستوى 1-2 وفق معايير (PharmGKB) جدول رقم 3

ان الجينات المتعلقة باستقلاب مركبات البورين (6-MP) هي الجينات الوحيدة التي أخذت موافقة لإجراء تعدد شكلي لها من قبل منظمات ووكالات صحية عالمية منها (الوكالة الطبية الأوروبية، ووكالة الصحة الكندية Health Canada Sante، الوكالة الطبية السويسرية Swiss medic) بالإضافة لوكالة الغذاء والدواء الأمريكية (US Food and Drug Administration).

كما أوصت بعض مجموعات العمل التي تقوم بدراسة علم الجينات الدوائي منها المجموعات الألمانية ومجموعة (CPIC) بإجراء تعديل جرعة مركبات البورين (6-MP) بناءً على وجود تعددات شكلية معينة لكل من جين (TPMT,NUDT15).

إن إنزيم (TPMT) هو من أشيع الإنزيمات المدروسة والتي لها علاقة باستقلاب دواء (6-MP). أُبلغ عن الإنزيم السابق من قبل (sladek, weinshilloum) حيث تم دراسة الفعالية الإنزيمية عند القوقاز. وقد لزم أكثر من عقد من الزمن لتأكيد وجود إنزيم (TPMT) منخفض الفعالية الاستقلابية وهو مرتبط بسمية دموية عالية، وعند وجودها يتطلب ذلك تعديلاً كبيراً على جرعة مركبات البورين عند مرضى الالبيضاخ اللغاوي الحاد [49][50].

يوجد 4 تعددات شكلية لجين (TPMT) نموذج 2 (rs1800584)، نموذج 3B (rs1800460)، نموذج 3C (rs1142345) ونموذج 3A وأخيراً نموذج 4 (rs1800584)، درست التعددات الشكلية للجين السابقة بشكل موسع عند أطفال مصابين بالالبيضاخ اللغاوي الحاد يتلقون بروتوكولات مختلفة في بلدان مختلفة. وقد أظهرت نتائج الدراسات السابقة وجود فعالية إنزيمية ناقصة مما يزيد السمية النقية. تم إدخال إجراء التعددات الشكلية ضمن بروتوكولات (CPIC). إن التعددات الشكلية المختلفة لجين (TPMT) غير شائعة حيث لا تتجاوز نسبتها 5% عند البيض، السود والآسيويين. وهنا دعت الحاجة للبحث عن جينات أخرى متورطة في السمية المرتبطة باستعمال مركبات البورين (6-MP) [51][52][53].

حيث كُشف عن تعدد شكلي برقم (rs116855232) لجين (NUDT15) في 2014 من قبل (GWAS) لأشخاص كوريين مصابين بأمراض الأمعاء الالتهابية. ثم أُجريت عند الأطفال المصابين بالالبيضاخ اللغاوي الحاد. في عام 2018 ظهرت توصيات جديدة ل (CPIC) بتعديل جرعات مركبات البورين (6-MP) بالاعتماد على النموذج الجيني ل (NUDT15 , TPMT) كما طُبقت التوصيات السابقة من قبل جمعيات أمريكية و أوروبية و سويسرية [27][54].

تعرفنا على تعددات شكلية إضافية لجين (NUDT15) (rs74607156) (rs186364861,rs554405994) والتي تبين تأثيرها على جرعات تحمل مركبات البورين (6-MP) وتؤدي إلى سمية نقوية، لكن لم تُدخل بعد بالتوصيات.

إن التعدادات الشكلية لجين (NUDT15) شائعة عند الآسيويين فقط لذلك دعت الحاجة مرة أخرى لكشف تعددات لجينات أخرى ومنها (ITPA)، (rs1127354 rs7270101).

جدول رقم 10: الجينات التي أخذت موافقة لإجرائها من مستوى 1-2 من قبل (PharmGKB) في أثناء علاج الابيضاض اللمفاوي الحاد			
الدواء	السمية	مستوى (A1)	مستوى (2B)
مركبات البورين (6-MP)	التثبيط النقوي	TPMT 2, 3A, 3B, 3C, 4 NUDT15 (rs 116855232)	NUDT15 2, 3, 4, 5, 6

بالخلاصة: إن سمية المركبات البورين تتعلق بشكل أساسي بالتعدد الشكلي الجيني للإنزيمات التي تدخل في استقلاب الدواء، من أهمها: (thiopurine s-methyltransferase) (TPMT)، (nudix hydrolase 15)، (NuDT15)، (inosine triphosphate pyrophosphate) (ITPA). يبدي بعض الأشخاص أليات طافرة محددة تتطلب تعديلاً في جرعات الدواء وخاصة الأنماط المتجانسة منها (Homozygous).

يوجد تفاوت كبير في توزع الأنماط السابقة للإنزيمات الطافرة بين الأعراق، وهذا الأمر يجب أن يؤخذ بالحسبان في الممارسة السريرية.

الفصل الثالث: إنزيم وجين NUDT15

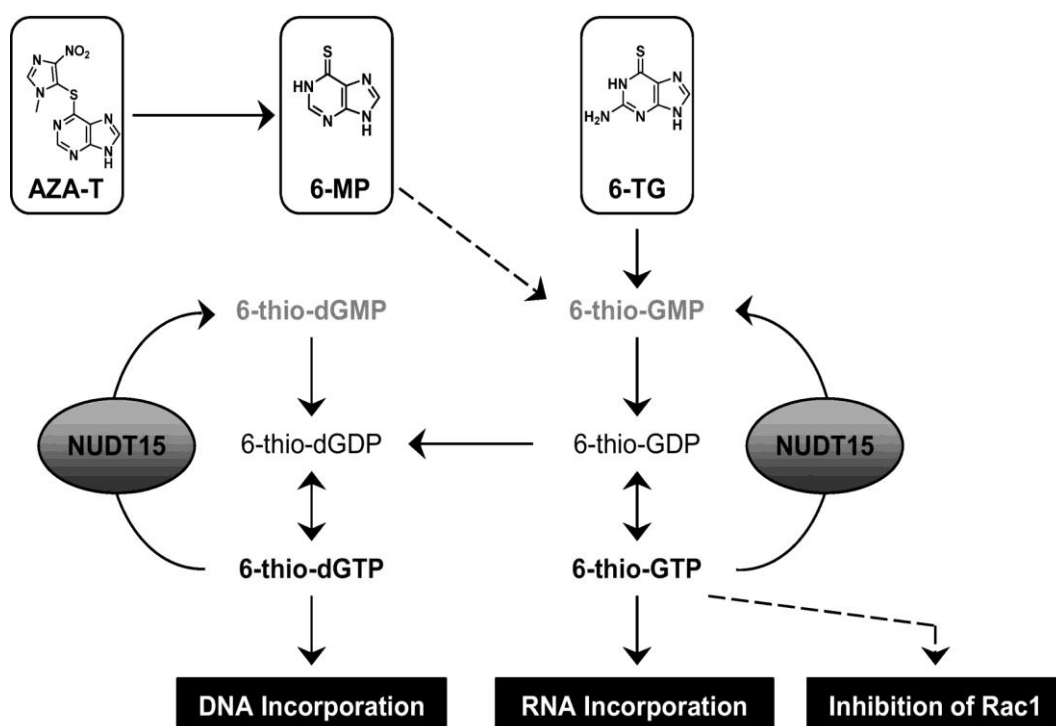
تتوضع جين NUDT15 على الذراع الطويل للصبغي 13 (13q14.2) وترمز إنزيم ينتمي لعائلة نوديكس هيدرولاز (Nudix hydrolase) أو نكليوزيد ثنائي الفوسفاتاز (nucleoside diphosphatase) أو (MTH2)، هو عبارة عن بروتين مكون من 164 حمض أميني، تستقلب هذه العائلة (hydrolysis) مركبات النكليوزيد ثنائية الفوسفات ومن أمثلتها (8-oxo-dGTP) وهي نتيجة لأذيات فرط الأكسجة (oxidative) والتي تعرض بدورها ارتباطاً شاذاً لثنائيات الدنا مسببة ما يسمى بالانقلاب (transversion). [42]

إن الإنزيم السابق منظم سلبي (negative regulator) لمركبات التيوبورين وسميتها في الحالة الطبيعية فهو مسؤول عن إبطال تفعيل مستقبلات مركبات البورين وبالتالي إنقاص سمية المركبات السابقة، تؤدي الطفرة في

جين NUDT15 الى استقلاب ضعيف لمركبات الثيوبورين (thiopurines) وبالتالي مستويات مرتفعة من مستقبلات مركبات البورين وذلك يؤدي بدوره إلى ارتفاع مستوى السميات الناتجة عن الأدوية التي تحتوي على مركبات البورين والذي يحرض بدوره نقص بعدد الكريات البيض (leukopenia). [55]

ذكرت الباحثة مريام وزملاؤها (Moriyam et al) نظرية تتحدث عن أن إنزيم NUDT15 يمنع (-6) TGN) وهو المركب الفعال الثيوبورين (thiopurine) من الاندماج مع الدنا، فعند وجود نسبة عالية لـ TGTP/ ratio في الخلية، فإن ذلك يعكس نسبة عالية للثيوغوانين المرتبط مع الدنا والتي تشير بشكل مباشر إلى تعطل جين NUDT15.

على النقيض من الكلام السابق لم يوجد اختلاف في مستويات مستقبلات مركبات البورين وخاصة 6TGN بين النموذج السائد الطبيعي وبين النموذج الطافر من جين NUDT15 ذات الرقم C415c>T (rs116855232) ([56].)



الشكل رقم 4: آلية عمل إنزيم NUDT15 (مقتبس من

تأثير التعدد الشكلي في جين NUDT15 على عدم تحمل جرعات المركابتوبورين

Mercaptopurine

قامت دراسة كورية بدراسة النمط الجيني لجين NUDT15 (NUDT15 genotype) على 258 مريضاً، وعند دراسة الجين على مستوى الصبغيين (NUDT15 diplotype)، كان 190 مريضاً من النموذج الطبيعي السائد (wild type) ما يشكل (73.6%) من مجمل المرضى، 61 مريضاً لديهم اضطراب على مستوى أليل واحد ما يشكل (23.6%) من المرضى، 7 من المرضى لديهم اضطراب على مستوى الأليلين (2.7%).

وكان تواتر وجود الجين الطبيعية (NUDT15*1) (85.5%) بغض النظر عن تواتر الأليلات، يتبعها النموذج (NUDT15*3) بنسبة (7.9%) ثم النموذج (NUDT15*2) بنسبة (5.2%).

وعند مراعاة وجود الأليلات فإن النمط الطافر الأشيع هو (NUDT15*1/*3) بنسبة (12.8%)، يتبعه

النموذج (NUDT15*1/*2) بنسبة (8.5%) (الجدول 1 و2).

جدول رقم 11: يوضح تكرار الأليل في هذه الدراسة الكورية

Allele Frequency in the study population			
NUDT15 allele	Genetic variant	Protein variant	Proportion (%)
*1	Wild type	Wild type	89.5
*2	C (36_37insGGAGTC; C.415C>T)	P.val18_19insGlyval/P.Arg139Cys	5.2
*3	C.415C>T	P. Arg139Cys	7.9
*4	C.416G>A	P. Arg139His	0.2
*5	C.52G>A	P. Val18Ile	0.8
*6	C36_37insGGAGTC	P. Val18_Val19insGlyVal	0.4

جدول رقم 12: يوضح نسبة انتشار الأليلين في الدراسة الكورية

Composition of NUDT15 diplotype in the study population		
Diplotype	No of patients (n=258)	Proportion (%)
1*/1*	190	73.6
1*/2*	22	8.5
1*/3*	33	12.8
1*/5*	4	1.6
1*/6*	2	0.8
2*/3*	4	1.6
2*/4*	1	0.4
3*/3*	2	0.8

وقامت دراسة أخرى بالتركيز على طفرة (NUDT15*3) (c.415C→T)، حيث وجدت الدراسة انخفاضا سريعا في تعداد الكريات البيضاء عند وجود النموذج الطافر من الأليل T (rs116855232)، يحدث التثبيط النقوي المحرض التيوبورين غالبا بالأسابيع والأشهر الأولى من العلاج. كما لوحظ أن الانخفاض في تعداد الكريات البيض والعدلات والصفائح يكون أسرع عندما يكون النموذج (T) موجودا على الصبغيين (homozygous variant alleles) حيث يحدث التثبيط النقوي خلال 4-8 أسابيع من بدء العلاج بالمركباتوبورين (الجدول 3). أكدت الموجودات السابقة في دراسة أخرى حيث وجد ارتباط شديد بين النماذج الطافرة ل NUDT15 مع ازدياد لخطورة تطور نقص الكريات البيض (OR = 15، P-value = 0.000253) ونقص المعتدلات (OR=9، P-value = 0.002). أظهرت مراجعة علمية قام بها Van Gennep وجود ارتباط بين الشكل الطافر ل NUDT15C415c>T وتطور نقص كريات بيض محرض بمركبات البورين (OR=6.9، 95% CI = 5.2 - 9.1) [41].

جدول رقم 13: نسب السمية الدوائية عند مختلف نماذج الأليلات للطفرة (NUDT15*3) (c.415C→T)

NUDT15 rs 116855232 genotype							Log-additive	Dominant-Model
	CC N=68	%	CT N=18	%	TT N=6	%	OR(95%CI) P-value	OR (95%CI) P-value
Yes	20	29.4	13	72.2	5	83.3	<0.001	<0.001

Leucopenia during first 60 days								
NO	56	82.4	13	72.2	1	16.7		3.33(1.20-9.29)
Yes	12	17.6	5	27.8	5	83.3	0.001	0.026
Hepatotoxicity (AST/ALT > 700 Iu/L)								
No	58	85.3	18	100	6	100	-	-
Yes	10	14.7	0	0	0	0	NA	NA
6-MP dose < 30mg/m ²								
No	46	67.6	7	38.9	0	0		5.08 (1.8-14.03)
Yes	32.4	32.4	11	61.1	6	100	0.001	0.002

كما وجدت دراسة شملت الشرق آسيويين أن المرضى الحاملين للنموذج الطافر TT (rs116855232) حساسين أكثر للميركابتوبورين، ولم يتحملوا سوى 8.3% ($SD=\pm 7\%$) من الجرعة المقررة في البروتوكول وذلك بمقابل 4.99% عند اللبنانيين، لكن على النقيض في دراسة صينية فإن النموذج الطافر TT حساس على جرعة 6MP بشدة جرعة 60.27%. [57]

أما النموذج TC فقد تحملوا 63% ($SD=\pm 25.4\%$) وذلك بالمقارنة مع النموذج الشائع CC حيث تحمل المرضى 83.5% ($SD=\pm 22.4\%$) من الجرعة المقررة. إن النتائج السابقة كانت متشابهة مع نتائج مجموعة COG حيث لم يتحمل المرضى سوى 62.5% و 80.1% من الجرعة عند النماذج TC و CC على التوالي. إن شدة جرعة 6MP كانت 33.33% عند اللبنانيين الحاملين للنموذج الطافر TC.

كما وجدت دراسة صينية- تايوانية أجريت على أطفال مصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد، أن جرعة تحمل دواء ال 6-MP عند مرضى الأليل السابق الطافر المتجانس (homozygotes)، والمتغاير (heterozygotes)، النموذج الشائع (wild type) كانت 9.4 mg/m²، 30.7 mg /m²، 44.1 mg/m² على التوالي. [39]

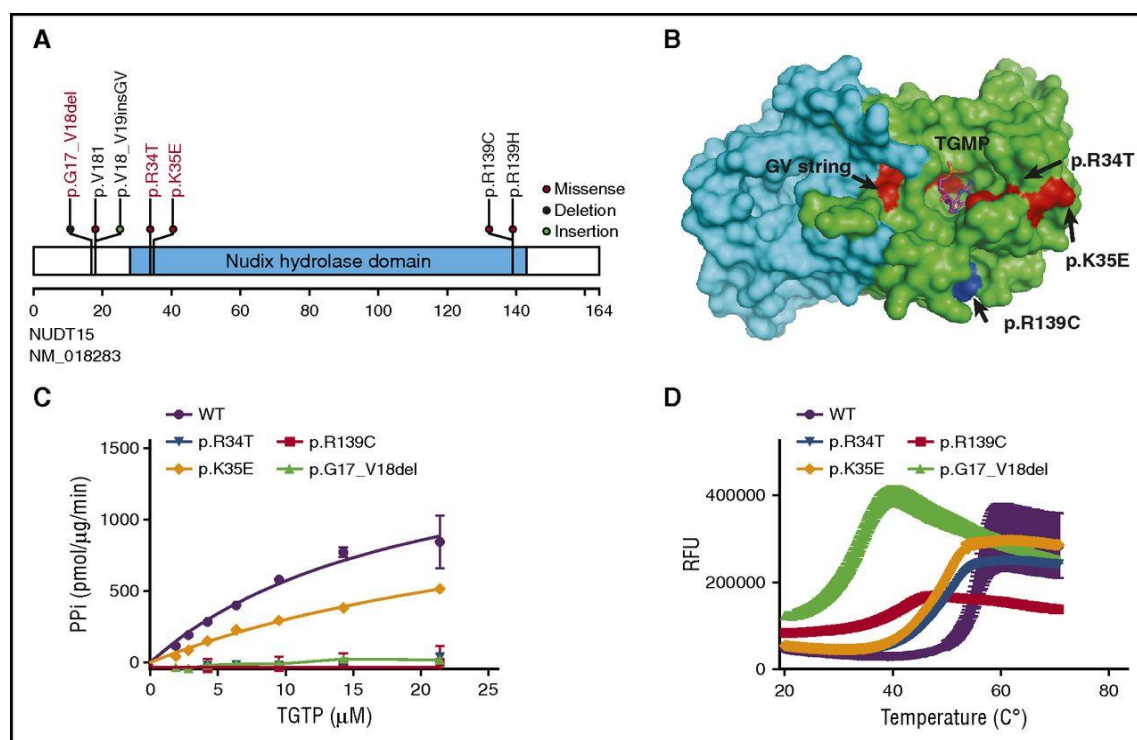
في دراسة كورية جنوبية قُسم المرضى إلى مرضى منخفضي الفعالية الإنزيمية (TT)، متوسطي الفعالية الإنزيمية (TC)، عاليي الفعالية الإنزيمية (CC). حيث كانت أطول فترة للانقطاع عن المعالجة بسبب السمية

الدوائية عند المجموعة الأولى 169 يوم بمقابل المجموعة الثانية 30 يوم، أما المجموعة الثالثة فكانت 16 يوم (P < 0.01). [56]

حيث أكدت الدراسة الكورية أن المرضى ذوي الفعالية الإنزيمية الطبيعية كان وسطي أقل مستوى للكريات البيضاء L / (3.58±0.5751) *10⁹ بمقابل (1.114±0.295) *10⁹ عند المرضى ذوي الفعالية الإنزيمية المتوسطة و (0.620±0.254) *10⁹ عند المرضى منخفضي الفعالية الإنزيمية (P<0.01). وكان وسطي أقل خضاب عند مرضى الفعالية الإنزيمية الطبيعية والمتوسطة والمنخفضة (10.1±1.1 g/dL)، (9.8±1.1 g/dL)، (7.4±1 g/dL) على الترتيب (P<0.01). بالمثل للصفحات L / (137±53) *10⁹، L / (115±43) *10⁹، L / (9±5) *10⁹ على التوالي. على النقيض وجد في دراسة يابانية أن السمية الكبدية أشيع عند مرضى النموذج CC، ولم يجدوا أي مريض مصاب عند النموذج T خلال فترة المعالجة بمرحلة الصيانة. [58][56] [59]

تؤدي الطفرة في جين NUDT15 (rs116855232) والتي تتوضع على مستوى الإكسون (exon3) إلى تغير في بنية الإنزيم حيث يتبدل الحمض الأميني أرجينين (arginine) إلى السيستين (cysteine) (P. Arg 139 Cys) والتي تؤدي بدورها إلى تغير في تسلسل الحموض الأمينية في تركيب الإنزيم. من غير الواضح حتى الآن كيف يؤثر التغير السابق في الإنزيم (على تركيبه أم على حله)، لكن توجد دراسة جديدة تتحدث عن تأثير ثباتية الإنزيم (protein stability) وذلك بسبب خسارة روابط داخل جزيئية (intramolecular bonds) وتشكل روابط ثنائية الكبريت التي تؤدي بدورها إلى تغير في بنية الإنزيم على مستوى (helix a2)، والتي تؤدي بدورها إلى تخرب سريع للإنزيم في الجسيمات الريبية (proteasomal). بالإضافة إلى الكلام السابق أكد الباحث Carter وزملائه إن الطفرة السابقة أدت إلى تغير في الجيب الذي تستقر فيه الركيزة الذي يستقبلها الإنزيم السابق.

كما يوجد طفرات أخرى تؤدي إلى تغيرات على مستوى الإنزيم لكن بشكل نادر (P. Arg139His, P. val18- val19) (الشكل 2). [29][27]



الصورة رقم 6: النماذج الطافرة على مستوى تركيب الحموض الأمينية لإنزيم NUDT15 (مقتبس من

(<https://www.haematologica.org/article/view/8533>)

اختلاف نسب التعدد الشكلي لجين NUDT15 بين الأعراق

لابد من ذكر أن توزع طفرة NUDT15 (rs 116855232) يختلف بشكل كبير بين الأعراق، يوجد الأليل الطافر بنسبة (9.8%) عند الشرق آسيويين، يتبعهم الهيسبانيك (Hispanic) بنسبة (3.9%)، وبشكل نادر جداً عند الأوروبيين بنسبة (0.2%) (الجدول 4). كما وجد في دراسة لبنانية أن الطفرة السابقة في الجين السابق غير شائعة في المجتمع اللبناني، حيث أجريت الدراسة على 121 لبنانياً مصاباً بالابيضاض اللمفاوي الحاد، ولم تكشف الطفرة إلا عند مريض واحد عراقي الجنسية وكانت من النمذج TC.

إن نسبة الانتشار الأصغرية (MAF) للأليل الطافر (T) من جين NUDT15 ذات الرقم 116855232 مختلفة بين المجتمعات، تتراوح النسبة السابقة بين 2-14%. ففي المجتمع الصيني كانت النسبة 15.7%، أما المجتمع التايواني 11.6%، إن نسبة الانتشار أقل بالمجتمعات الأخرى فهي 2% بالمجتمع الأمريكي،

8.8 % عند الأورغوايين، 5 % عند التاي. أخيراً لابد من ذكر إن نسبة الانتشار الأصغرية كانت منخفضة

جداً عند اللبنانيين بنسبة 0.4 % [39][28].

الجدول رقم 14: الاختلاف في تواتر الأليل الطافر بين مختلف الأعراق

Year	Author	Ethnicity	Sample size		Genotype counts (case)			Genotype counts (control)			AZA dose (mg)(mean+-SI normalized)	
			Case	Control	TT	CT	CC	TT	CT	CC	TT	CT
2014	Suk-kyun yang	Korean	346	632	14	133	199	0	43	589	2.335+-0.485	3.6997+-2.145
2015	Y kakuta	Japanese	34	101	5	10	19	0	13	88	NA	1.613+-0.891
2016	Ayumi Asada	Japanese	45	116	2	18	25	0	14	102	2.12(0.872)	2.26+-1.130
2016	X.zhu	Chinese Han	65	188	4	36	25	0	17	121	NA	NA

الفصل الرابع: الدراسات المرجعية

الدراسات المحلية:

- الدراسة الأولى (دراسة لبنانية): في عام 2017 أجريت دراسة ذات أثر رجعي على عينة من مرضى مشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد قيد العلاج ببروتوكول SJCRH XV حيث شملت الدراسة 136 مريضاً، كان وسطي أعمار المرضى 6.63 سنة، 77 مريضاً من الذكور (حوالي 56.6% من مجمل المرضى)، 66 مريضاً من المرضى (حوالي 48.9% من مجمل المرضى) كانوا متوسطي وعاليي الخطورة. أما بالنسبة للنمط المناعي للابيضاض اللمفاوي الحاد فكان توزع المرضى كالتالي: 107 مريض من النمط Pre-B، 22 مريضاً من النمط T-cell، 2 مريض من النمط Pre-B with AML و 1 مريض من النمط early Pre-B. حسبنا وسطي شدة الجرعة في هذه الدراسة حيث كان 77.39. كما طور 82 مريضاً

(65.1% من مجمل المرضى) حمى نقص عدلات بعد استعمال مركبات 6-MP. كما طور 12 مريضاً (9.8% من مجمل المرضى) سمية كبدية. أما بالنسبة للتعدد الشكلي لجين NUDT15 فكان توزيع المرضى كالتالي: 135 مريضاً (أي 99.3%) من مجمل المرضى من النمط CC، و1 مريض (أي 0.7%) من النمط CT وهو عراقي الجنسية. ولم يوجد أي مريض من النمط TT. [28]

- الدراسة الثانية (دراسة في شمال العراق): في عام 2019 أجريت دراسة ذات أثر رجعي على عينة من مرضى مشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد قيد العلاج ببروتوكول COG حيث شملت الدراسة 74 مريضاً، كان وسطي أعمار المرضى 6.25 سنة، 43 مريضاً من الذكور (حوالي 58.1% من مجمل المرضى)، 16 مريض من المرضى (حوالي 21.6% من مجمل المرضى) كانوا متوسطي وعاليي الخطورة. أما بالنسبة للنمط المناعي للابيضاض اللمفاوي الحاد فكان توزيع المرضى كالتالي: 70 مريضاً من نمط Pre-B، 3 مريض من النمط T-cell، 1 مريض من النمط Pre-B with AML و0 مريض من النمط early Pre-B. حسبنا وسطي شدة الجرعة في هذه الدراسة حيث كان 95.38. كما طور 16 مريضاً (21.6% من مجمل المرضى) حمى نقص عدلات بعد استعمال مركبات 6-MP. كما طور 9 مرضى (12.2% من مجمل المرضى) سمية كبدية. أما بالنسبة للتعدد الشكلي لجين NUDT15 فكان توزيع المرضى كالتالي: 74 مريضاً (أي 100%) من مجمل المرضى من النمط CC، ولم يوجد أي مريض يحمل طفرة في جين NUDT15. [52]

الدراسات العالمية:

- الدراسة الأولى (دراسة شرق آسيوية): في عام 2015 أجريت دراسة من قبل J.J. Yang وزملائه على عينة من مرضى مشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد قيد العلاج ب 6-MP في مرحلة الصيانة. حيث شملت الدراسة 657 مريضاً كان توزيع المرضى على الشكل التالي: 624 مريضاً من النمط CC لجين NUDT15، 31 مريضاً من النمط غير المتجانس CT، 2 مريض من النمط المتجانس TT لطفرة جين NUDT15 ذات الرقم 116855232. كان وسطي شدة جرعة 6-MP وذلك بناءً على النمط الجيني

لجين NUDT15 كالتالي: حيث تحمل مرضى النمط الجيني CC 83.5% من الجرعة المقررة بالبروتوكول، بينما تحمل مرضى النمط الجيني CT 63% من الجرعة. أما مرضى النمط الجيني TT فقد تحملوا فقط 8.3% من الجرعة.[41]

- الدراسة الثانية (دراسة أمريكية): في عام 2017 أجريت دراسة من قبل Moriyama وزملائها على عينة من مرضى مشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد قيد العلاج ب 6-MP في مرحلة الصيانة. حيث شملت الدراسة 371 مريضاً كان توزع المرضى على الشكل التالي: 362 مريضاً من النمط CC لجين NUDT15، 9 مرضى من النمط غير المتجانس CT، 0 مريض من النمط المتجانس TT لطفرة جين NUDT15 ذات الرقم 116855232. كان وسطي شدة جرعة 6-MP وذلك بناءً على النمط الجيني لجين NUDT15 كالتالي: حيث تحمل مرضى النمط الجيني CC 80.1% من الجرعة المقررة بالبروتوكول، بينما تحمل مرضى النمط الجيني CT 62.5% من الجرعة. [27]

القسم العملي:

الفصل الأول:

خلفية البحث وأهميته:

إنّ الالبيضاخ اللمفاوي الحاد هو أشيع سرطان عند الأطفال، وما زال السرطان المسؤول عن أعلى نسبة موأة بسبب السرطان عند هذه الفئة عالمياً. يُعدّ الالبيضاخ اللمفاوي مرضاً شافياً حيث تصل نسب الشفاء حتى (80%) في بعض المراكز، لذلك فإن الحفاظ على حياة المريض وحمايته من اختلاطات المعالعة من أهم الأهداف التي يسعى الطبيب لتحقيقها. ولكن نلاحظ وجود اختلاف في التأثيرات الصّارة للمعالعة بين مريض وآخر، وهنا يؤدي علم المورثات الدوائي دوراً مهماً في معرفة سبب هذا الاختلاف. [29]

توجد دراسات قليلة عن علم المورثات الدوائي في سورية وعن انتشار التعدّد الشكليّ لجين NUDT15 في سورية بشكل خاص وفي دول البحر المتوسط بشكل عام.

إنّ معرفة وجود هذه العلاقة بين وجود SNPs لهذه الجين والسمية سيعطينا مؤشراً لاستبعاد المرضى الذين قد يطورون سميات شديدة على المعالعة، وأيضاً سيخفّف من تكاليف صرف الدواء للمريض وتكاليف قبول المريض في المشفى نتيجة لاختلاطات المعالعة. ومن هنا تأتي أهمية إجراء هذه الدّراسة.

1. أهداف البحث

• الهدف الرئيسيّ

- معرفة تأثير التعدّد الشكليّ لجين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 في حدوث سميّة بالمركابتوبورين عند المصابين بالالبيضاخ اللمفاوي الحاد

• الأهداف الثانويّة

- معرفة أشيع التعدّات الشكليّة لجين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 في سورية
- معرفة نسبة انتشار طفرة NUDT15 ذات الرقم rs116855232 في المجتمع السوري

- معرفة معدل حدوث التأثيرات الضارة عند تلقي المركابتوبورين (وسطى انخفاض الكريات البيض والمعدلات وارتفاع الخمائر الكبدية)
- حساب وسطى شدة جرعة المركابتوبورين (dose intensity) وهي نسبة مئوية بين الجرعة التي تلقاها المريض فعلاً وبين الجرعة التي من المفترض أن يتلقاها المريض حسب البروتوكول.

2-تصميم البحث وطرائقه

2-1-تصميم الدراسة

- نوع الدراسة: دراسة ذات أثر راجع من نمط (Cohort study)

2-2-زمن الدراسة ومكانها

- مكان الدراسة: مشفى البيروني الجامعي في ثلاثة أقسام (وحدة بسمه لأورام الأطفال، وحدة الأطفال في مشفى البيروني الجامعي، وحدة الدم في مشفى البيروني الجامعي)
- زمن الدراسة: من 1/5/2019 إلى 30/4/2021.

2-3-مجموعة الدراسة

- معايير الاشتمال: يجب تحقق جميع الشروط الآتية:

☒ مريض مشخص له ابيضاض لمفاوي حاد أو لمفومة أرومية

☒ مثبت بال flow cytometry أو بخزعة عقدة لمفاوية

- معايير الاستبعاد:

☒ وجود قصور خلية كبدية

☒ وجود مرض آخر مهدد للحياة

☒ وجود ورم آخر غير الابيضاض اللمفاوي الحاد

☒ عدم القدرة على تناول الدواء فمويًا

✕ وجود مضاد استطباب للعلاج بال 6-MP

2-4- طريقة العمل

- تم معرفة مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد من خلال استجواب المرضى المراجعين لعيادة الدم والمراجعين لوحدة بسمه في مشفى البيروني الجامعي ومن خلال العودة إلى ملفات المرضى المسجلين في محفوظات المشفى في السنوات 2018-2019 تم ما يأتي:

1. أخذ معلومات ملف القبول في المشفى والمعلومات الشخصية كالوزن والطول ومشعر كتلة الجسم والعمر عند التشخيص وعند بداية مرحلة الصيانة.

2. تسجيل النمط المناعي للمرض (immunophenotype) مع تحديد العوامل الانذارية كعدد الكريات البيض والصيغة الصبغية cytogenetics عند بداية التشخيص لتصنيف المريض حسب عوامل الخطورة، ثم تحديد البروتوكول الخاص بكل مريض.

3. عُولج المرضى الذين كانت أعمارهم أقل من 17 سنة ببروتوكولات خاصة بالأطفال، إما بروتوكول ECOG أو بروتوكول St-Jude protocol total XV وذلك حسب عوامل الخطورة، فالمرضى الذين لديهم عوامل خطورة منخفضة أو متوسطة الخطورة أعطوا البروتوكول الأول، أما المرضى عالي الخطورة فتلقوا البروتوكول الثاني.

4. عُولج المرضى بأعمار فوق 17 سنة بواحد من البروتوكولين HyperCVAD أو GR-AII وذلك حسب رغبة الطبيب المعالج.

5. سُجِّلَت المعلومات الموجودة في الاضبارة للمرضى في أثناء مراجعتهم الدورية للمشفى في الأشهر الست الأولى من مرحلة الصيانة حيث أُخذ منها ما يلي:

- وزن وطول المريض ومشعر كتلة الجسم في كل مراجعة
- جرعة الدواء 6-MP المأخوذة في كل مراجعة
- تعداد الكريات البيض والمعتلات والخمائر الكبدية في كل مراجعة

- تأثيرات ضارة للدواء وخاصة تطور حاصة أم لا
 - معرفة هل يوجد قبولات لحمى نقص عدلات في أثناء المعالجة في مرحلة الصيانة
6. إن الجرعة المعيارية ل 6-MP في أثناء العلاج بمرحلة الصيانة ببروتوكول ECOG كانت 50 ملغ /م²، أما في بروتوكول St-Jude protocol فكانت 75 ملغ/م²، وفي بروتوكولات المعالجة للبالغين فكانت 60 ملغ/م².
7. إن الهدف النهائي من دراستنا هو حساب شدة الجرعة (6-MP dose intensity).
8. عُدلت جرعة 6-MP وذلك للحفاظ على الكريات البيض فوق 2000 كرية/ميكرو ليتر أو للحفاظ على الصفائح فوق 50.000/ميكرو ليتر.
9. كما عُدلت جرعة الدواء السابق عند تطور سمية دموية أو كبدية أو انقطاع عن المعالجة.
10. سُحبت عينة دموية لتحري التعدد الشكلي لجين NUDT15 وجمعنا 3 مل من الدم الوريدي على أنبوب يحوي مضاد تخثر EDTA وحُفظت بمجمدة لحين اجراء عزل الدنا.
11. أجريت مراحل العمل المخبري في قسم التقانات الحيوية الصيدلانية والمناعية في الهيئة العامة للتقانة الحيوية، وقُسم العمل إلى المراحل التالية وهي:
- ✓ عزل الدنا: عُزل الـ DNA من عينة دم محيطي باستخدام كيت عزل مخصص للغرض السابق (Jena-Bioscience Germany)، حيث اتبعنا تعليمات المصنع، ثم خزننا العينات السابقة بدرجة حرارة 20 - درجة سيلسيوس حتى استكمال الدراسة المخبرية.
- ✓ تركيز الدنا: حُدد تركيز DNA بعد الاستخلاص باستخدام (Spectrophotometer) وكان الجهاز من ماركة (Taiwan، ProMN913A، Maestro Nano، MAESTROGEN).
- ✓ تقاعل PCR: حُدد النمط الجيني لجين الـ NUDT15 ذات الرقم rs116855232 باستخدام تقنية PCR وعن طريق استخدام السلسلة بتقنية Sanger. وذلك كالتالي:

_ استخدمت بادئات (أو برايمرات) مع اتجاه سلسلة الدنا (Forward) أو معاكسة (Reverse) وكان

ترتيب النيكلوتيدات في البادئات بالشكل التالي: AAGCAAATGCAAAGCATCAC لل Forward و GGCTGAAAGAGTGGGGGATA لل Reverse.

_ إن تفاعل التضخيم بجهاز PCR بحجم (20 uL) يحتوي على ما يلي:

1. (1uL) من كل بادئ
 2. (2 uL) من عينة الدنا (التركيز مختلفة بين مريض وآخر)
 3. (6 uL) من الماء المقطر
 4. (10 uL) من الماستر ميكس ماركة (KAPABIOSYSTEM, KAPA2G, KR0374-v1123).
- ضخم التفاعل باستخدام جهاز PCR من ماركة (Germany, Lab cycler SensoQuest).

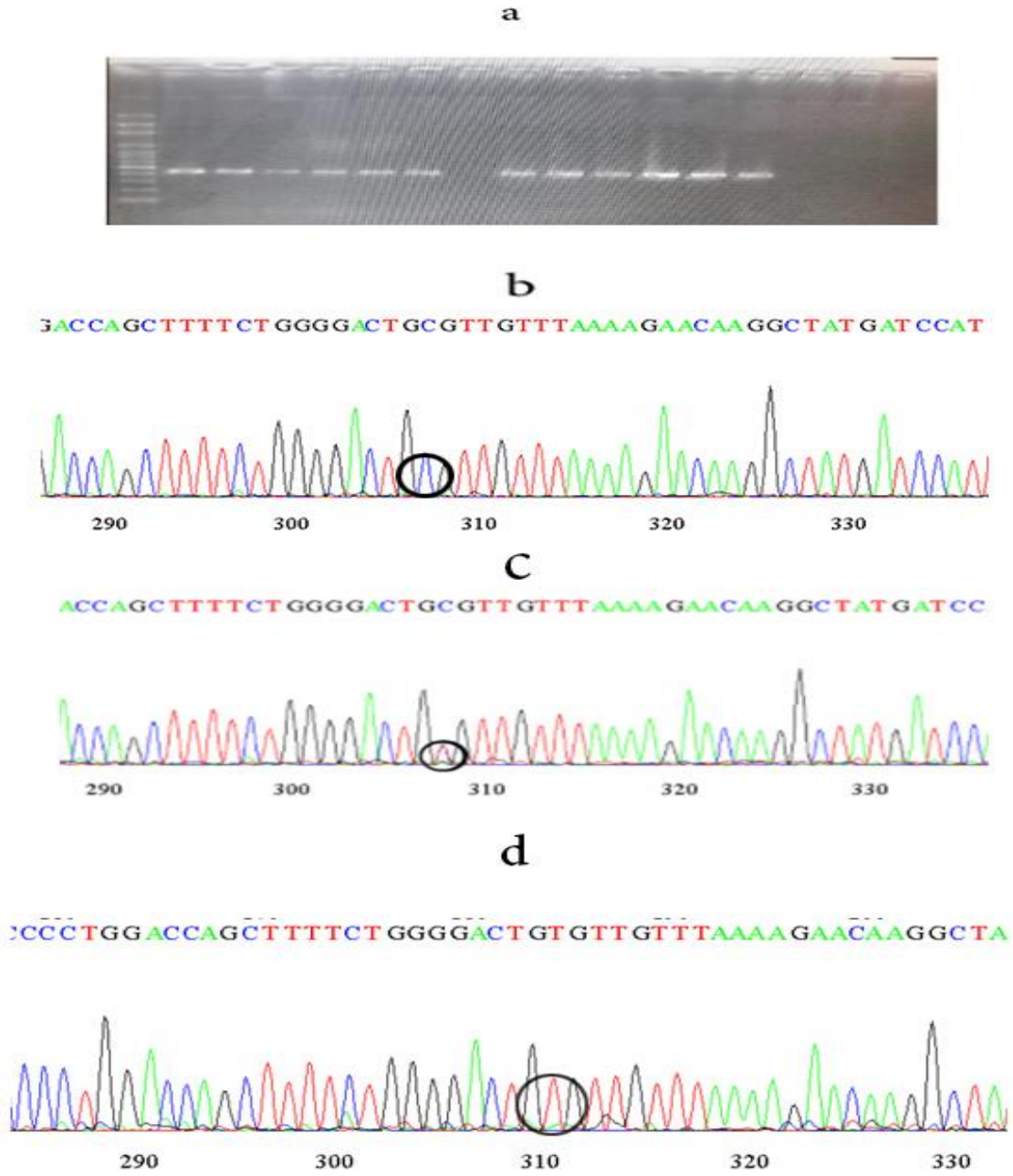
- استخدمت الشروط التالية عند التشغيل: المرحلة الأولى 95 درجة سيلسيوس لمدة 5 دقائق، ثم 35 دورة من denaturing بدرجة حرارة 95 درجة سيلسيوس لمدة 30 ثانية، ثم مرحلة annealing بدرجة حرارة 52 درجة سيلسيوس لمدة 30 ثانية، ثم extension بدرجة حرارة 72 درجة سيلسيوس لمدة 1 ثانية، ثم ما بعد مرحلة extension بدرجة حرارة 72 درجة سيلسيوس ولمدة 10 دقائق.

-في نهاية مرحلة التضخيم باستخدام جهاز PCR تم الحصول على قطع من الدنا يطلق عليها اسم amplicon بطول 450bp long والتي تحتوي على الجين المرغوب عزلها وتضخيمها rs116855232 .NUDT15

✓ إجراء رحلان على هلام الأغاروز لتحري نواتج القطع وتظهرها.

✓ حُزنت العينات السابقة بدرجة حرارة 20 - درجة، ثم أرسلت لإجراء مرحلة السلسلة بمخابر شركة

.Macrogen



الصورة رقم 7: يوضح التالي: (a) رحلان كهربائي بهلام الأغاروز ل amplicon التي تحتوي جين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 بعد إجراء PCR. 5 ميكرو ليتر من ناتج PCR وضعت في هلام الأغاروز 1.5 % وُضع صباغ Ethidium bromide. تم رؤية العصابات بعد تعريض الهلام للأشعة فوق البنفسجية. وثقنا الصور السابقة باستخدام جهاز UV (Transilluminator 365 nm) (b) (c) (d) تم إجراء سلسلة لقطع amplicon التي تحتوي على الجين المدروسة NUDT15 ذات الرقم rs116855232 وذلك للتعرف على النمط الجيني للمريض.

12. تعبئة المعلومات الشخصية والطبية في الاستمارة الخاصة بالدراسة (الملحق في نهاية الدراسة رقم 2).

2-5- تحليل البيانات:

جُمعت البيانات وعُيِّنَت على برنامج EXCEL و تم دقنا إدخال المعلومات لمرتين متتاليتين للتأكد من صحة الإدخال، كل الاختبارات الإحصائية أُجريت باستخدام برنامج (STATA version 6). إن الأهمية الإحصائية بالتعريف P-value أقل من 0.05. جُمعت البيانات ولُخصت باستخدام اختبارات توصيفيه (descriptive statistics) أظهرت النتائج على شكل وسطي (mean)، انحراف معياري (standard deviation)، متوسط (median) وذلك للمتغيرات المستمرة (continuous variable). أُستخدم اختبار mann-Whitney-u للمقارنة بين المتغيرات المستمرة. حسبت نسب تكرار كل نمط جيني باستخدام معادلة (Hardy-Weinberg) وأُظهرت باستخدام اختبار (Chi-square). صُنِفَ المرضى بالاعتماد على النمط الجيني لجين NUDT15. أُجري تحليل الانحدار (regression test) متعدد المتغيرات لتحديد القيمة التنبئية للعوامل الجينية وربطها مع العوامل السريرية بشكل مستقل. ربطنا علاقة التعدد الشكلي لجين NUDT15 مع نسبة تكرار السمية النقية (الكريات البيض أقل من 2000 / مم³). حُسبت نسب التكرار (Odd ratio) ومعامل الثقة (95% CI). كما قُيِّم الاختلاف بين مجموعات المرضى حسب تعداد الكريات البيض وشدة جرعة 6-MP باستخدام اختبار (Kruskal Wallis).

2-6- تعاريف عملية:

إن التنشؤ على حساب الأرومات اللمفية والتي يمكن أن تتظاهر كابيضاض أو لمفومة تقسم وفق WHO classification إلى مجموعتين كبيرتين:

- Precursor B-cell lymphoblastic leukemia / lymphoma, also called Precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia (Precursor B-cell ALL)
- Precursor T-cell lymphoblastic leukemia / lymphoma (Precursor T-LBL), also called precursor T-cell acute lymphoblastic leukemia (Precursor T-cell ALL)

وهذه أيضاً تقسم إلى لمفومة أرومية أو ابيضاض لمفاوي حاد:

- سريريًا تسمى الحالة لمفومة إذا كان هناك كتلة منصفية أو بمكان آخر و $> 25\%$ أرومات لمفية بالنقي.
 - بينما تسمى لوكيميا عندما تشاهد $< 25\%$ أرومات لمفية بالنقي سواء يوجد ضخامات عقدية أو لا.
- لكن تشكل هاتين الحالتين تظاهرات مختلفة لنفس المرض.

- بروتوكولي علاج الالبيضاخ اللمفاوي الحاد في وحدة بسمة التخصصية لعلاج أورام الأطفال هما: ECOG و St-Jude protocol total XV.

- بروتوكولي علاج الالبيضاخ اللمفاوي الحاد في وحدة الدم بمشفى البيروني الجامعي هما HyperCVAD و GR-ALL.

- بروتوكول علاج الالبيضاخ اللمفاوي الحاد في وحدة أورام الأطفال في مشفى البيروني الجامعي هو ECOG.

- شدة الجرعة (dose intensity) بالتعريف: نسبة جرعة 6-MP النهائية التي تلقاها المريض فعلياً للجرعة الموصوفة التي يجب أن يتلقاها حسب البروتوكول المتبع.

- الانقطاع عن المعالجة (Treatment Interruption): الانقطاع عن تقديم الأدوية الكيماوية في أثناء مرحلة الصيانة بسبب إنتان أو بسبب السمية الدموية أو بسبب السمية الكبدية.

- السمية الكبدية: ارتفاع الخماثر الكبدية AST/ ALT فوق 500 U/L في أي وقت من مرحلة الصيانة.

- السمية الدموية أو ما يسمى السمية من الدرجة الثالثة: (grade3) انخفاض الكريات البيض أقل من 2000 كرية بيضاء في كل ميكرو ليتر أو انخفاض الصفيحات أقل من 50.000 في كل ميكرو ليتر.

- نقص الكريات البيض الباكر بالتعريف: هو نقص الكريات البيض الذي يحدث خلال 60 يوم من البدء بمرحلة الصيانة.

2-7 - الاعتبارات الأخلاقية:

أُجريت الدراسة بعد أخذ الموافقات أصولاً من لجنة أخلاقيات البحث في جامعة دمشق، تم أخذ الموافقات المستنيرة من الأهل أو الأوصياء على المرضى أو من المرضى أنفسهم وذلك تبعاً لعمر المريض أو تبعاً لفهم المرضى وقدرتهم الاستيعابية.

- تم الالتزام بالسرية التامة للمعلومات.
- تم الالتزام بمبادئ إعلان هلسنكي.
- نموذج الموافقة المستنيرة (مرفق بالملاحق)

2-8 - الموارد المتاحة:

- ملفات المرضى المراجعين لشعبة الدم ووحدة بسمة ووحدة أورام الأطفال في مشفى البيروني الجامعي.
- دواء 6-MP وهو موجود في مشفى البيروني الجامعي.
- التجهيزات المكتبية والبرمجيات في مشفى البيروني الجامعي.
- عتيدة عزل الدنا وهي من ماركة (Jena-Bioscience Germany)
- الماستر ميكس ماركة (KAPABIOSYSTEM,KAPA2G,KR0374-v1123).
- بادئات أو برايمرات (Forward and Reverse).
- محاقن سعة 3 مل.
- أنابيب لجمع الدم تحتوي على EDTA كمضاد للتخثر.
- الأجهزة التالية وهي موجودة بمخبر الهيئة العامة للتقانة الحيوية:
- جهاز لتحديد تراكيز الدنا (Spectrophotometer) وهو من ماركة MAESTROGEN، (Taiwan)
- جهاز تضخيم الدنا (PCR) وهو من ماركة (Lab cycler SensoQuest، Germany).
- جهاز الرحلان الكهربائي وذلك باستخدام هلام الأغاروز.

- وثقنا الصور السابقة باستخدام جهاز (UV Transilluminator 365 nm).

الفصل الثاني:

1 - النتائج:

1-1 - صفات المرضى والتعدد الشكلي للجين:

بلغ حجم عينة الدراسة التي استوفت معايير القبول (107) مريضاً، وُزَّعوا بحسب النمط الجيني لـ NUDT15 ذات الرقم rs116855232 إلى ثلاث مجموعات على الشكل الآتي:

المجموعة الأولى: ضمت النموذج الشائع من جين الـ NUDT15 (CC)، حيث احتوت المجموعة على 100 مريض بنسبة 93.4 %.

المجموعة الثانية: ضمت النموذج غير المتجانس من الطفرة التي تصيب الجين السابقة (heterozygous) (CT)، ضمت 6 مريض بنسبة 5.6 % من مجمل المرضى.

المجموعة الثالثة: ضمت النموذج المتجانس من الطفرة التي تصيب الجين (homozygous) (TT)، ضمت هذه المجموعة مريض واحد فقط بنسبة 0.9 %.

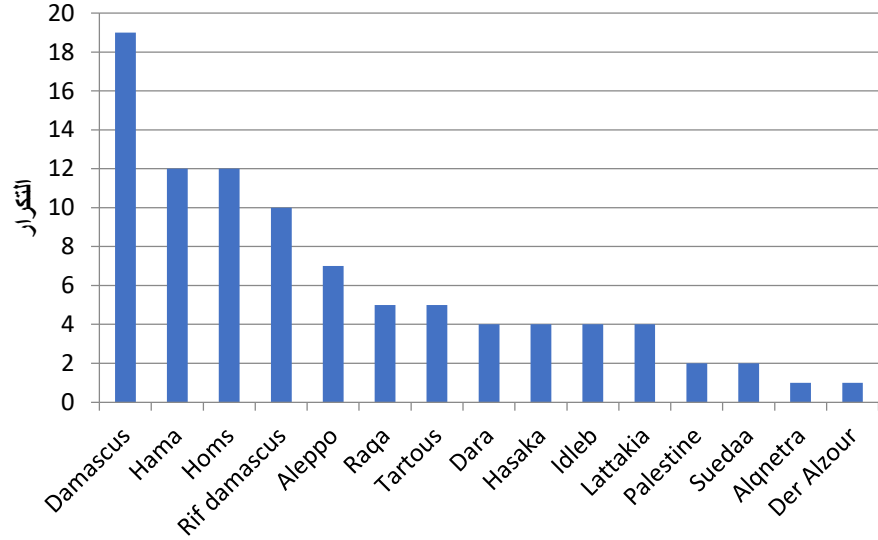
الجدول رقم 15: نسب توزع مرضى الدراسة بحسب النمط الجيني لـ NUDT15

	Total patients	NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
		CC	CT	TT
		100 (93.4%)	6(5.6%)	1 (0.9%)

• توزع المرضى حسب المحافظات السورية:

معظم الحالات التي راجعت المشفى خلال فترة الدراسة كانت من محافظة دمشق وحماة وحمص وقد يوحي ذلك بوجود عوامل بيئية واجتماعية لها دور في نسبة الحدوث.

سجلت محافظة القنيطرة ودير الزور أقل نسبة من المراجعات، قد يفسر ذلك بوجود عوامل اجتماعية تمنع المريض من الوصول للمشفى بالنسبة لمحافظة دير الزور، وقلة التعداد السكاني في محافظة القنيطرة.



الشكل رقم 5: مخطط بياني يوضح توزيع المرضى بحسب المحافظات السورية

• توزيع المرضى بحسب الجنس:

عدد الذكور الإجمالي في عينة الدراسة 64 بنسبة (59.8%)

عدد الإناث الإجمالي في عينة الدراسة 43 بنسبة (40.19%)

نسبة إصابة الذكور إلى الإناث 1:1.48

الجدول رقم 16: نسب توزيع مرضى الدراسة بحسب الجنس

		NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
		CC	CT	TT
	Total patients	100	6	1
Gender				
Female	43 (40.19%)	39	3	1
Male	64 (59.81%)	61	3	0

يبين الجدول السابق عدد الذكور والإناث بالتفصيل في كل مجموعة، حيث لوحظ أن عدد الذكور أعلى من الإناث في النموذج الشائع (CC)، أما العدد فكان متساوياً بين الذكور والإناث في النموذج (CT)، أما النموذج (TT) فيحوي مريضة واحدة أنثى.

• العمر:

بلغ متوسط العمر 9.6 سنة.

تراوحت أعمار المرضى من 0.9 حتى 56.2 سنة (حيث أُدخل عدد من البالغين المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد في دراستنا).

الجدول رقم 17: متوسط أعمار المرضى بحسب النمط الجيني لـ NUDT15

		NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
	Total patients	CC	CT	TT
		100	6	1
Age (Year)	9.6 (0.9-56.2)	9.7 (0.9-56.2)	7.5 (3.1-24.5)	5

• مشعر كتلة الجسم (BSA):

بلغ متوسط مشعر كتلة الجسم 1 م²

تراوحت مشعرات كتلة الجسم في دراستنا بين 0.52 و 2 م².

الجدول رقم 18: متوسط مشعر كتلة الجسم بحسب النمط الجيني لـ NUDT15

		NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
	Total patients	CC	CT	TT
		100	6	1
BSA.m ²	1 (0.52-2)	1 (0.52-2)	0.91 (0.6-1.75)	0.71

- توزع المرضى بحسب النمط المناعي للمرض (Immunophenotype):

نلاحظ من الجدول الآتي ما يلي:

78 من أصل 107 مريض كان لديهم النمط (Precursor B) بنسبة 72.9%.

12 من أصل 107 مريض كان لديهم النمط (T-ALL) بنسبة 11.21%.

9 من أصل 107 مريض كان لديهم النمط (B-lymphoblastic lymphoma) بنسبة 8.41%.

7 من أصل 107 مريض من النموذج (T-lymphoblastic lymphoma) بنسبة 6.54%.

أما الشكل المختلط (Bi-phenotype) فكان بنسبة قليلة جداً لا تتجاوز 0.93%.

الجدول رقم 19: نسب توزع مرضى الدراسة بحسب النمط المناعي للمرض

		NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
	Total patients	CC	CT	TT
		100	6	1
Immunologic subtype				
B-lymphoblastic lymphoma	9 (8.41%)	8	1	0
Bi-phenotype	1 (0.93%)	1	0	0
T-ALL	12 (11.21%)	12	0	0
T-lymphoblastic lymphoma	7 (6.54%)	7	0	0
Precursor B	78(72.9%)	72	5	1

- توزع المرضى بحسب بروتوكول المعالجة المتبع:

57 مريضاً (وهم بمجملهم من الأطفال) عوملوا كمنخفضي الخطورة وتلقوا بروتوكول EORTC AR1 وذلك

بنسبة 53.27%.

23 مريضاً (وهم بمجملهم من الأطفال) عوملوا كمتوسطي الخطورة وتلقوا بروتوكول EORTC AR2 وذلك

بنسبة 21.5%.

12 مريضاً (وهم بمجملهم من الأطفال) عوملوا كعاليي الخطورة وتلقوا بروتوكول St Jude VHR وذلك بنسبة 11.21%.

11 مريضاً (وهم بمجملهم من البالغين) تلقوا بروتوكول HyperCVAD وذلك بنسبة 10.28%.

3 مرضى (وهم بمجملهم من البالغين) تلقوا بروتوكول GR-ALL وذلك بنسبة 2.8%.

الجدول رقم 20: نسب توزع مرضى الدراسة بحسب بروتوكول المعالجة المتبع

		NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
		CC	CT	TT
	Total patients	100	6	1
Protocols				
EORTC AR1	57 (53.27%)	52	5	0
EORTC AR2	23 (21.5%)	23	0	0
GR-All	3 (2.8%)	3	0	0
Hyper CVAD	11 (10.28%)	10	1	0
St Jude LR	1 (0.93%)	0	0	1
St Jude VHR	12 (11.21%)	12	0	0

• توزع المرضى بحسب تصنيف الخطورة:

58 مريضاً صُنّفوا كمنخفضي الخطورة وذلك بنسبة 54.21%

36 مريضاً صُنّفوا كمتوسطي الخطورة وذلك بنسبة 33.64%

13 مريضاً صُنّفوا كعاليي الخطورة وذلك بنسبة 12.15%

الجدول رقم 21: نسب توزع مرضى الدراسة بحسب خطورة المرض

Table1: Characteristics of patients with ALL according to NUDT15 genotype				
		NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
		CC	CT	TT
	Total patients	100	6	1
Risk group				
High risk	13(12.15%)	13	0	0

Intermediate risk	36(33.64%)	35	1	0
Low risk	58(54.21%)	52	5	1

• معدل تطور التأثيرات الجانبية للميركايتوبورين في عينة الدراسة:

1- معدل تطور نقص الكريات البيض:

تطور نقص الكريات البيض عند 49 من المرضى (بنسبة 45.79% من مجمل المرضى)، إن وسطي الزمن اللازم لتطور نقص بالكريات البيض حوالي 118 يوم (حيث تراوح الزمن السابق بين 20 يوم وحتى 457 يوم).

إن وسطي الزمن السابق هو الأعلى بالنموذج CC من جين NUDT15، والأقل بالنموذج TT بحوالي 42 يوم.

الجدول رقم 22: نسب توزع مرضى الدراسة بحسب تطور نقص كريات بيض، متوسط الزمن اللازم لحدوث نقص الكريات

	Total patients	NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
		CC	CT	TT
		100	6	1
Leucopenia				
No	58(54.21%)	58	0	0
Yes	49(45.79%)	42	6	1
Days to first WBC toxicity				
Mean (min-max)	118 (20-457)	129 (20-457)	57(42-69)	42

2- معدل تطور نقص بالصفائح:

تطور نقص الصفائح عند 7 مرضى فقط من أصل 107 (أي حوالي 6.54% من مجمل المرضى)، وكان كل المرضى من النموذج CC فقط.

وسطي الزمن لتطور نقص بالصفائح كان 137 يوم (تراوح الزمن السابق بين 21 يوم وحتى 376 يوم)

الجدول رقم 23: نسب توزع مرضى الدراسة بحسب تطور نقص بالصفائح، متوسط الزمن اللازم لحدوث نقص الصفائح

		NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
	Total patients	CC	CT	TT
		100	6	1
Thrombocytopenia				
No	100 (93.46%)	93	6	1
Yes	7 (6.54%)	7	0	0
Days to first PLT toxicity				
Mean (min-max)	137(21-376)	137(21-376)	-	-

3- معدل تطور سمية كبدية (ارتفاع بخمائر الكبد $AST/ALT > 500$):

تطور سمية كبدية عند 5 مرضى (بنسبة 4.67 % من مجمل المرضى)، كان كل المرضى من النمذج CC فقط

الجدول رقم 24: نسب توزع مرضى الدراسة بحسب تطور سمية كبدية

		NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
	Total patients	CC	CT	TT
		100	6	1
AST/ALT >500				
No	102(95.33%)	95	6	0
Yes	5 (4.67%)	5	0	0

4- معدل تطور حاصة:

تطورت حاصة بسبب المركابتوبورين عند 6 مرضى بالمجمل (أي حوالي 5.61 % من المرضى)، وكان

توزعهم على الشكل الآتي: 5 مرضى عند النمذج CC، ومريض واحد فقط عند النمذج TT.

الجدول رقم 25: نسب توزع مرضى الدراسة بحسب تطور حاصة

		NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
	Total patients	CC	CT	TT
		100	6	1
Alopecia				
No	101(94.39%)	95	6	0
YES	6(5.61%)	5	0	1

5- معدل تطور حرارة:

تطورت حرارة عند 26 مريضاً من 107 مرضى (بنسبة 24.3 %)، وكان توزع المرضى 24 و 2 مريض للنمذج

CC و TC على التوالي.

الجدول رقم 26: نسب توزع مرضى الدراسة بحسب تطور الحرارة

		NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
	Total patients	CC	CT	TT
		100	6	1
Fever				
No	81(75.7%)	76	4	1
Yes	26(24.3%)	24	2	0

6- معدل تطور الطفح:

تطور الطفح عند مريض واحد فقط من 107 مرضى بنسبة (0.93%)، وكان المريض من النموذج CC

الجدول رقم 27: نسب توزع مرضى الدراسة بحسب تطور الطفح

		NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
	Total patients	CC	CT	TT
		100	6	1
Rash				
No	106(99.07%)	99	6	1
Yes	1(0.93%)	1	0	0

7- معدل تطور انقطاع عن المعالجة:

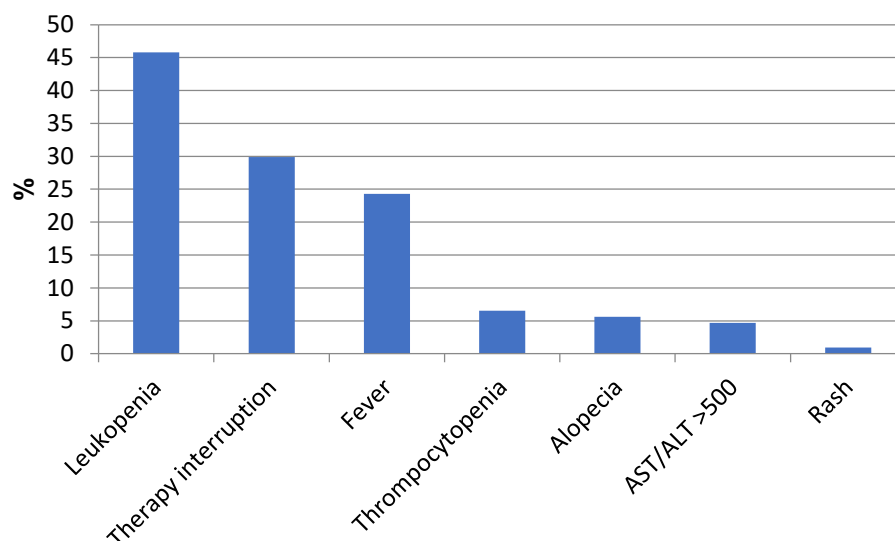
تطور انقطاع عن المعالجة عند استخدام المركابتوبورين في مرحلة الصيانة عند 32 مريضاً (بنسبة

29.91%)، انقطع المرضى السابقون عن المعالجة بسبب تطور سمية دموية أو كبدية أو إثنان. كان توزع

المرضى على الشكل التالي: 30، 2 مريض للنماذج CC، CT على التوالي.

الجدول رقم 28: نسب توزع مرضى الدراسة بحسب تطور انقطاع عن المعالجة

		NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
	Total patients	CC	CT	TT
		100	6	1
Therapy interruption				
No	75(70.09%)	70	4	1
Yes	32(29.91%)	30	2	0



الشكل رقم 6: يوضح النسب المئوية لتطور تأثيرات جانبية عند مرضى الدراسة المستخدمين لمركبات المركابتوبورين

- توزع المرضى بحسب شدة جرعة المركابتوبورين:

إن عدد المرضى الذين تم إنقاص جرعة 6-Mp لديهم لأقل من 60% حوالي 27 مريضاً (أي بنسبة 25.23%)، وكان توزعهم على الشكل التالي: 21، 5، 1 مريض للنماذج CC، CT، TT على التوالي.

الجدول رقم 29: نسب توزع مرضى الدراسة بحسب شدة جرعة المركابتوبورين

	Total patients	NUDT15 (rs116855232, C.415c> T)		
		CC	CT	TT
		100	6	1
6MP dose intensity <60%				
No	80(74.77%)	29	1	0
Yes	27(25.23%)	21	5	1

1-2-دراسة العلاقة بين التعدد الشكلي لجين NUDT15 وسمية المركابتوبورين:

- دراسة العلاقة بين التعدد الشكلي ونقص الكريات البيض:

لوحظ نقص الكريات البيض المحرض بمركبات البورين عند 49 مريض (بنسبة 45.79 %) من مجمل

المرضى، تم تشخيص نقص الكريات عند 17 مريضاً خلال 8 أسابيع الأولى من البدء بمرحلة الصيانة.

إن تكرار حدوث نقص الكريات البيض الباكر أكثر حدوثاً مع حاملي الأليل T من جين NUDT15 (CT أو TT) بالمقارنة مع النموذج الشائع من الجين CC. حيث إن نسبة الحدوث 8.92 ضعف مع الأليل T مقارنة مع النموذج الشائع.

الجدول رقم 30: العلاقة بين النمط الجيني لجين NUDT15 وتطور نقص كريات بيض

Table 2: Associations between NUDT15 and risk of leucopenia						
		NUDT15 genotype			OR	95%CI
		CC(n=100)	TC,TT(n=7)	P-value		
Leucopenia	No	58	0	0.003		
	Yes	42	7			
Early Onset Leucopenia	No	87	3	0.012	8.92	(1.79-44.48)
	Yes	13	4			

• دراسة العلاقة بين التعدد الشكلي والسمية الكبدية:

على النقيض لوحظت السمية الكبدية المحرصة بمركبات البورين 6-MP عند 5 مريض من النموذج NUDT15 CC وذلك بنسبة 4.67% من مجمل المرضى، لا يوجد أي مريض من حاملي الأليل T طور سمية كبدية خلال العلاج بمرحلة الصيانة.

الجدول رقم 31: العلاقة بين النمط الجيني لجين NUDT15 وتطور سمية كبدية

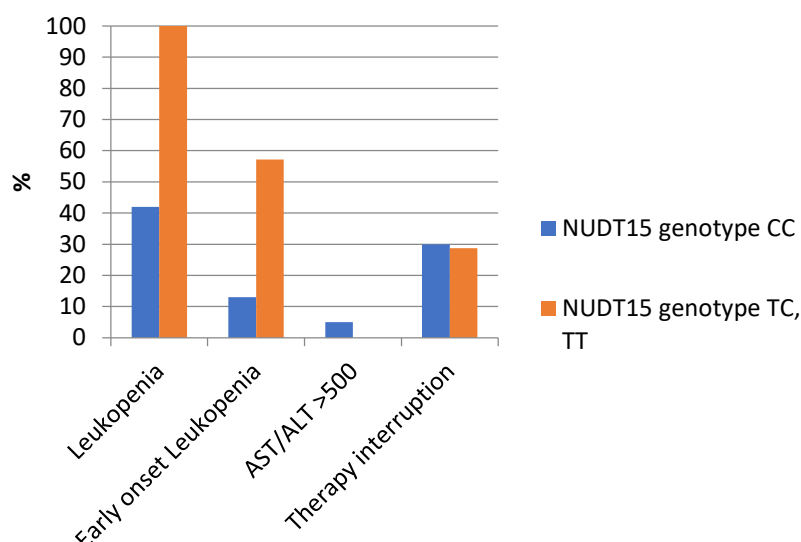
Table 2: Associations between NUDT15 and risk of hepatotoxicity						
		NUDT15 genotype			OR	95%CI
		CC(n=100)	TC,TT(n=7)	P-value		
AST/ALT>500	No	95	7	0.708		
	Yes	5	0			

• دراسة العلاقة بين التعدد الشكلي والانقطاع عن المعالجة:

احتاج حوالي 32 مريضاً (بنسبة 29.9 % من مجمل المرضى) لإيقاف المعالجة ب 6-MP بسبب إنتان خطير لكن نسبة الأرجحية لم تكن ذات أهمية إحصائية (OR = 0.93، P = 0.65، 95 CI = 0.17 - 5.08).

الجدول رقم 32: العلاقة بين النمط الجيني لـ NUDT15 وتطور انقطاع عن المعالجة

Table 2: Associations between NUDT15 and risk of therapy interruption:						
		NUDT15 genotype				
		CC(n=100)	TC,TT(n=7)	P-value	OR	95%CI
Therapy interruption	No	70	5	0.652	0.93	(0.17-5.08)
	Yes	30	2			



الشكل رقم 7: يوضح العلاقة بين التعدد الشكلي لـ NUDT15 وتطور تأثيرات جانبية عند المرضى المستخدمين لمركبات المركابتوبورين

1-3- العلاقة بين التعدد الشكلي لـ NUDT15 والحساسية لـ 6-MP :

بغض النظر عن البروتوكول المتبع، تم تعديل جرعة المركابتوبورين عند تطور سميات في أثناء العلاج بمرحلة

الصيانة. لذلك عكست الحساسية لمركبات البورين عن طريق استخدام مصطلح شدة جرعة 6-MP

(6-MP dose intensity) والتي هي عبارة عن النسبة بين جرعة 6-MP التي تلقاها المريض فعلياً إلى

جرعة 6-MP الواردة ضمن البروتوكول المتبع.

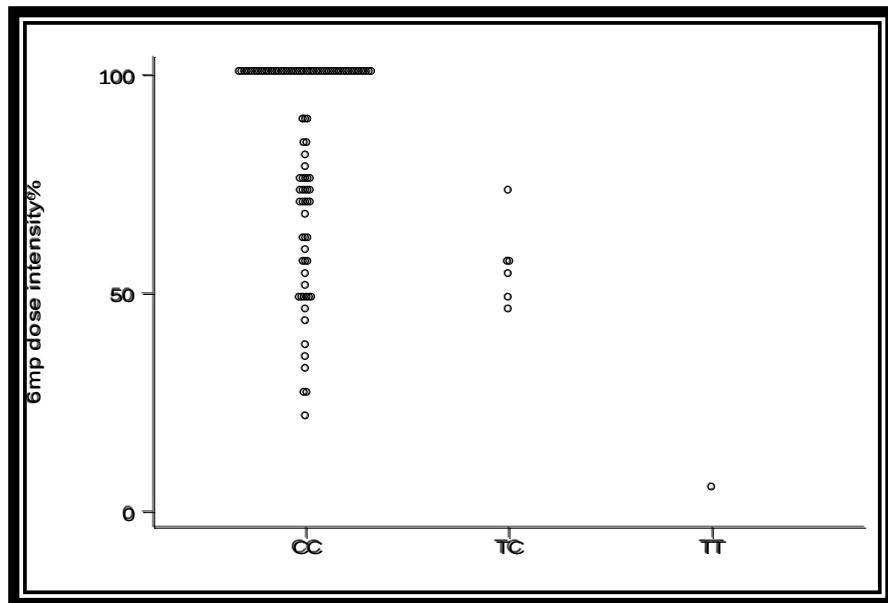
تعرفنا على مريض واحد فقط حامل للنموذج متماثل اللواقح TT homozygous من جين NUDT15،

إن المريض السابق حساس بدرجة عالية لمركبات البورين 6-MP مع شدة جرعة حوالي 4.99%.

تعرفنا على 6 مرضى حاملين النمذج متخالف اللواقح CT heterozygous بمقابل 100 مريض حامل النمذج الشائع CC، حيث كانت شدة جرعة المركابتوبورين 56.9%، 82.61% على التوالي.

الجدول رقم 33: العلاقة بين النمط الجيني لجين NUDT15 وشدة جرعة المركابتوبورين

Table3: Comparison of 6MP dose intensity % by NUDT15 genotype				
		6MP dose intensity%		
		Mean	Std. Dev.	P-value
NUDT15	CC	82.61	22.35	0.0071
	TC	56.90	9.56	
	TT	4.99	0	



الشكل رقم 8: يوضح العلاقة بين التعدد الشكلي لجين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 وشدة جرعة المركابتوبورين

2- المناقشة:

- لازال التعدد الشكلي لجين NUDT15 غير مقيم بشكل جيد في البلدان العربية. لذلك قمنا بدراسة التعدد الشكلي لجين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 C415c>T في المجتمع السوري ، حيث قُيِّم 107 مريضاً مشخصاً لهم ابيضاض لمفاوي حاد، طور جزء منهم سميات متعلقة باستخدام مركبات البورين Mercaptopurine.

لقد وجدنا في دراستنا أن نسبة انتشار الأليل الأصغرية Minor allele frequency (MAF) في مجتمعنا حوالي 3.73% وهي مختلفة عن النسبة في البلدان المجاورة وخاصة لبنان حيث كانت النسبة (MAF = 0.4%). [28]

- إن نسبة تكرار الأليل السابق مختلفة بين المجتمعات حيث تتراوح بين 2 – 14 %، كانت النسبة السابقة حوالي 15.7% في المجتمع الصيني [59]، 11.6% في المجتمع الصيني التايواني [60]، بينما كانت النسبة أقل بالمجتمعات الأخرى حيث تراوحت 2% في المجتمع الأمريكي بكل شرائحه [61]، 8.8% في المجتمع الأوروغواي [40]، 5% عند المرضى من سلالة التاي [62].

- لقد وجدنا في دراستنا 7 سوريين شخص لديهم النموذج الطافر من الجين NUDT15، حيث إن 6 مريضاً كان لديهم النموذج TC بينما مريض واحد لديه النموذج TT. إن الموجودات السابقة تختلف عن النتائج لدراسة لبنانية أجريت على مريض لديهم ابيضاض لمفاوي حاد، حيث أظهرت الدراسة السابقة إن النموذج الطافر متماثل للواقع من جين NUDT15 c415 ذات الرقم rs116855232 غير شائع، ولم يكشف عند 121 مريضاً لبنانياً، بينما كشف النموذج متخالف للواقع TC عند مريض عراقي من أصل 4 كانوا موجودين في الدراسة السابقة. [28]

- بشكل أكثر أهمية، إن النموذج متخالف للواقع من جين NUDT15 (TC) مرتبط مع شدة جرعة لمركبات البورين حوالي 56.9% في مرحلة الصيانة عند مريض الابيضاض اللمفاوي الحاد. إن النسبة السابقة

شبيهة بالنسبة التي أظهرتها دراسة SJCRH والتي كانت تساوي 63% [57]. إن نسبة دراستنا كانت مرتفعة عن النسبة التي أُبلغ عنها في الدراسة اللبنانية والتي كانت تساوي 33.33% [28].

- بالإضافة إن النموذج الطافر متماثل اللواقح من جين NUDT15 (TT) مرتبط مع رقم قليل لشدة جرعة المركابتوبورين بنسبة حوالي 4.99%، حيث كانت القيمة السابقة ذات أهمية إحصائية ($P\text{-value} = 0.0071$). لقد ذُكرت النسبة السابقة في دراسة Yang et al حيث كانت حوالي 8.3% [57]. لقد أُبلغ عن نسبة شدة جرعة المركابتوبورين عند النموذج الطافر متماثل اللواقح Homozygous (TT) لمرضى صينيين مصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد حيث كانت النسبة ذات رقم عالٍ 60.27% بالمقارنة مع دراستنا [59].

- بالتوافق مع تقارير سابقة، نحن نؤكد أن طفرة c415c>T NUDT15 مرتبطة بقوة مع نقص كريات بيض محرض ب 6-MP عند المرضى المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد. إن التعدد الشكلي السابق مرتبط بشدة مع حدوث نقص كريات بيض باكر يحدث خلال أول 60 يوم من العلاج بمرحلة الصيانة. إن نسبة الأرجحية Odd ratio = 8.92، $P\text{-value} = 0.012$ ، والتي تتوافق مع نتائج لدراسة أخرى التي أثبتت وجود علاقة بين الفعالية المنخفضة والمتوسطة لإنزيم NUDT15 وزيادة خطورة نقص الكريات البيض (OR = 15، $P\text{-value} = 0.000235$)، ونقص المعتدلات (OR = 9، $P\text{-value} = 0.002$) [61].

- كثير من الباحثين ومنهم Yang وزملاؤه، Asada وزملاؤه و Kakuta وزملاؤه، بَلَّغُوا عن وجود علاقة بين NUDT15 R139C وحدوث نقص كريات بيض باكر في مختلف المجتمعات الآسيوية.

- في مراجعة علمية أجريت مؤخراً من نمط systematic review أكد الباحث Van Gennep وزملاؤه أن المريض الحامل لطفرة من جين NUDT15 C415c>T، يحمل خطورة مهمة لتطور نقص كريات بيض محرض ب Thiopurine OR = 6.9، 95% CI = (5.2-9.1) [63].

- إن إنزيم NUDT15، المعروف باسم MTH2، هو عبارة عن بروتين مكون من 164 حمضاً أمينياً ينتمي لعائلة إنزيم nudix hydrolase، والذي يستطيع إجراء hydrolyze لمركبات من نمط nucleoside di-phosphate، حيث يقلب مركبات من 8-oxo-dGDP لـ 8-oxo-dGMP [30][64][65]
- إن جين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 متموضعة على exon3، حينما تحدث الطفرة على مستوى الإنزيم، يقلب الأرجينين للسيستين مما يؤدي بدوره لتغير على مستوى تسلسل الحموض الأمينية في البروتين المكون لإنزيم NUDT15. [63]
- لقد ثبت تأثير طفرة جين NUDT15 على السمية النقية المحرصة بمركبات البورين، وعدم التسامح مع جرعات المركبات السابقة.
- لقد صرحت Moriyama وزملاؤها أن الآلية لتطور السمية المحرصة بمركبات البورين لازالت غير معروفة بعد، لكن ثبت علمياً وجود تراكيز عالية من المستقلبات الفعالة لمركبات البورين والتي تقود إلى السمية السابقة. [27]
- على النقيض، لم يثبت أي اختلاف مهم بتراكيز 6-TGN بين النمط الشائع لجين NUDT15 والنمط غير المتجانس CT لنفس الجين وذلك حسب Sutiman و زملائه. [61]
- حسب دراسة جديدة أجرتها Valerie وزملاؤها، أظهرت أن الطفرة التي تصيب جين NUDT15 لم تؤثر في الفعالية الإنزيمية، ولكن أثرت بشكل سلبي في ثباتية البروتين وذلك بسبب خسارة للروابط داخل الجزيئية التي تدعم بنية الإنزيم مما يؤدي إلى تحلل البنية الإنزيمية بشكل سريع. [61]
- صرح الباحث Carter وزملاؤه أن الطفرة على مستوى الجين تؤدي إلى تغير على مستوى القواعد التي ترتبط مع الركائز في بنية الإنزيم.
- بناءً على نتائج الدراسات السابقة أكدنا على ضرورة تحديد النمط الجيني لـ NUDT15 وذلك بسبب الحساسية لمركبات البورين التي تتطور عند المرضى الحاملين للطفرة على مستوى الجين السابقة، قبل

البدء في علاج مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد حيث يستخدم المركابتوبورين في مختلف مراحل المعالجة الهجومية، المكثفة وأخيراً مرحلة الصيانة. [28]

3-تأطير الإضافة العلمية وتقييمها:

إن هذه الدراسة الأولى من نوعها والتي قامت بالتركيز على علم الجينات الدوائي Pharmacogenetics المتعلق بجين NUDT15، والتي درست لأول مرة في المجتمع السوري عند المرضى المشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد والذين اختبروا سمية نقوية محرضة بمركبات البورين 6MP حيث كانت السمية السابقة مهددة للحياة لدى بعضهم. إن هذه الدراسة توضح أهمية علم الجينات الدوائي في الكشف عن التعدادات الشكلية لجينات لها علاقة باستقلاب مركبات البورين وذلك قيل بدء علاج المرضى المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد. لذلك يوصى بإجراء دراسات إضافية للتعرف إلى تعددات شكلية لجينات أخرى متورطة في استقلاب مركبات البورين 6MP، حتى تكون أرضية لمعرفة الجرعات المناسبة والمدة اللازمة للعلاج الأمثل لكل مريض على حدة والذي يطلق عليه اسم شخصنة العلاج، حتى نتجنب تأثيرات جانبية ونحقق الفعالية المثلى للعلاج.

الخاتمة:

1- مقارنة بين نتائج دراستنا ونتائج الدراسات المحلية والعالمية:

أولاً: المقارنة مع دراسة لبنانية: [28]

الجدول رقم 34: مقارنة بين دراستنا ودراسة لبنانية

	Characteristics	Lebanese study	Characteristics	Our study
Number of subjects		136		107
Treatment (protocol)		SJCRH XV		Many protocols
Age	Years (means+/-SD)	6.63+-4.93	Years (means range)	9.6(0.9-56.2)
SEX	Male (N%)	77(56.6)	Male (N%)	64(59.81)
	Female (N%)	59(43.4)	Female (N%)	43(40.19)

Treatment risk group	Low/standard N%	69(51.1)	Low risk N%	58(54.21)
	Mild/high N%	66(48.9)	Intermediate risk N%	36(33.64)
			High risk N%	13(12.15)
All immunophenotype	Pre-B N%	107(81.1)	B-lymphoblastic lymphoma N%	9(8.1)
	T-cell N%	22(16.6)	Bi-phenotype N%	1(0.93)
	Pre-B with AML N%	2(1.5)	T-All N%	12(11.21)
	Early Pre-B N%	1(0.8)	T-lymphoblastic lymphoma N%	7(6.54)
			Precursor-B N%	78(27.9)
	6-MP related toxicities		6-MP related toxicities	
6-MP dose intensity %	Mean +-SD	77.39+-21.27	Mean +-SD	
Febrile neutropenia	No N%	44(34.9)	No N%	58(54.21%)
	Yes N%	82(65.1)	Yes N%	49(45.79%)
Hepatotoxicity	No N%	111(90.2)	No N%	102(95.33%)
	Yes N%	12(9.8)	Yes N%	5(4.67%)
	Genotypes		Genotypes	
NUDT15	CC N%	135(99.3%)	CC N%	100(93.4%)
	CT N%	1(0.7%)	CT N%	6(5.6%)
	TT N%	0 %	TT N%	1(0.9%)

ثانياً : بالمقارنة مع دراسة في شمال العراق[52]

الجدول رقم 35: مقارنة بين دراستنا ودراسة أجريت في شمال العراق

	Characteristics	Kurdish study	Characteristics	Our study
Number of subjects Treatment (protocol)		74 COG		107 Many protocols
Age	Years (means+-SD)	6.25+-3.07	Years (means+-SD)	9.6(0.9-56.2)
SEX	Male (N%)	43(58.1)	Male (N%)	64(59.81)

	Female (N%)	31(41.9)	Female (N%)	43(59.81)
Treatment risk group	Low/standard N%	58(78.4)	Low risk N%	58(54.21)
	Mild/high N%	16(21.6)	Intermediate risk N%	36(33.64)
			High risk N%	13(12.15)
All immunophenotype	Pre-B N%	70(94.5)	B-lymphoblastic lymphoma N%	9(8.1)
	T-cell N%	3(4.1)	Bi-phenotype N%	1(0.93)
	Pre-B with AML N%	1(1.4)	T-All N%	12(11.21)
	Early Pre-B N%	0(0)	T-lymphoblastic lymphoma N%	7(6.54)
			Precursor-B N%	78(27.9)
	6-MP related toxicities		6-MP related toxicities	
6-MP dose intensity %	Mean +-SD	95.38+-16.03	Mean +-SD	
Febrile neutropenia	No N%	58(78.4)	No N%	58(54.21%)
	Yes N%	16(21.6)	Yes N%	49(45.79%)
Hepatotoxicity	No N%	65(87.8)	No N%	102(95.33%)
	Yes N%	9(12.2)	Yes N%	5(4.67%)
	Genotypes		Genotypes	
NUDT15	CC N%	74(100%)	CC N%	100(93.4%)
	CT N%	0(0)	CT N%	6(5.6%)
	TT N%	0(0)	TT N%	1(0.9%)

ثالثاً : بالمقارنة مع دراسة شرق آسيوية: [41]

الجدول رقم 36: مقارنة بين دراستنا ودراسة شرق آسيوية

مقارنة بين شدة جرعة 6-MP بين دراستنا وبين دراسة شرق آسيوية وذلك على ضوء التعدد الشكلي لجين NUDT15 ذات الرقم rs116855232						
	نتائج الدراسة الشرق آسيوية			نتائج دراستنا		
Genotype	N= 657	6-MP dose intensity(%)	+- SD	N=107	6-MP dose intensity(%)	+- SD
TT	2	8.3	+- 7%	1	4.99	
CT	31	63	+-25.4%	6	56.9	+- 56.9%
CC	624	83.5	+-22.4%	100	82.6	+-22.35%

رابعاً : بالمقارنة مع دراسة أمريكية: [27]

الجدول رقم 37: مقارنة بين دراستنا ودراسة أمريكية

مقارنة بين شدة جرعة 6-MP بين دراستنا وبين دراسة أمريكية وذلك على ضوء التعدد الشكلي لجين NUDT15 ذات الرقم rs116855232						
	نتائج الدراسة الأمريكية			نتائج دراستنا		
Genotype	N=371	6-MP dose intensity (%)	+- SD	N=107	6-MP dose intensity (%)	+- SD
TT	0			1	4.99	
CT	9	62.5	+-14.8%	6	56.9	+- 56.9%
CC	362	80.1	+-18.9%	100	82.6	+-22.35%

2- محددات الدراسة:

- 1- إن حجم عينة الدراسة كافٍ (107 مرضى) لحد ما، لكن نتيجة للكلفة الباهظة للتحاليل ومحدودية الدعم المادي لم نتمكن من إدخال عدد أكبر من المرضى في الدراسة.
- 2- أُجريت الدراسة في مركز واحد وهو مشفى البيروني الجامعي، وذلك لم يعكس نسبة انتشار الطفرة بشكل صحيح لتشمل كامل محافظات القطر العربي السوري.
- 3- استخدم كثير من البروتوكولات وليس بروتوكول موحد، يمكن أن يكون ذلك قد أثر في بعض النتائج.
- 4- نمط الدراسة من النمط الراجع (retrospective)، وقد سُحبت عينات الدراسة بعد إعطاء 6-MP في بعض الحالات.
- 5- أُجريت الدراسة على أشيع أليل من جين NUDT15 وذلك لأسباب مادية، لم تتضمن الدراسة الألائل الأندر أو SNPs الأخرى لجينات دُرست في أبحاث محلية أو عالمية.

3- الاستنتاجات:

- أكدت دراستنا المجرة على عينة من المرضى السوريين المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد وجود علاقة بين التعدد الشكلي لجين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 و السمية الدموية للميركايتوبورين، لم نجد في دراستنا علاقة بين الجين المدروسة وبين السمية الكبدية.
- يبدو أن نسبة انتشار الطفرة التي تصيب جين NUDT15 ذات الرقم rs116855232 أعلى في المجتمع السوري منها في المجتمعات المجاورة كاللبناني أو المجتمعات في شمال العراق.

4- التوصيات:

- إجراء دراستنا على عينة من المرضى مأخوذة من أكثر من مركز على مستوى القطر العربي السوري لكي تعكس نسبة انتشار الطفرة لجين NUDT15 بالشكل الصحيح.
- يوصى بإجراء تحري عن النموذج الطافر لجين NUDT15 لكل مريض ابيضاض لمفاوي حاد عندما يطور نقص بتعداد الكريات البيض دون المستوى المطلوب بعد البدء باستخدام مركبات البورين.
- يوصى بإجراء التعدادات الشكلية الأخرى لجين الـ NUDT15 ذات الانتشار الأندر حتى يكون لدينا فكرة أشمل عن الجين السابقة.
- يوصى بإجراء التعدادات الشكلية لجينات أخرى معروفة بعلاقتها باستقلاب مركبات البورين من أمثلتها
SLCO1B1، ITPA TPMT.

المراجع:

- [1] K. R. Kampen, "The discovery and early understanding of leukemia," *Leukemia Research*, vol. Volume 36, no. Issue 1, pp. 6–13, 2012.
- [2] H. Wang *et al.*, "Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015," *The Lancet*, vol. 388, no. 10053, pp. 1459–1544, 2016, doi: 10.1016/S0140-6736(16)31012-1.
- [3] S. Paul, H. Kantarjian, and E. J. Jabbour, "Adult Acute Lymphoblastic Leukemia," *Mayo Clinic Proceedings*, vol. 91, no. 11, pp. 1645–1666, 2016, doi: 10.1016/j.mayocp.2016.09.010.
- [4] M. Hashemi, S. S. Hasani, and M. Naderi, "DROSHA rs642321 polymorphism influence susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia: A preliminary report," *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology*, vol. 38, no. 4, pp. 416–419, 2017, doi: 10.4103/ijmpo.ijmpo_4_15.
- [5] J. C. Davis and B. Wistinghausen, "Acute lymphoblastic leukemia," *Oncology*, vol. 381, no. 9881, pp. 319–331, 2019, doi: 10.1002/9781119189596.ch28.
- [6] M. M. O'Brien, A. E. Seif, and S. P. Hunger, "Acute lymphoblastic leukemia in children," *Wintrobe's Clinical Hematology: Fourteenth Edition*, pp. 4939–5015, 2018, doi: 10.1056/nejmra1400972.
- [7] R. T. Clarke, A. van den Bruel, C. Bankhead, C. D. Mitchell, B. Phillips, and M. J. Thompson, "Clinical presentation of childhood leukaemia: A systematic review and meta-analysis," *Archives of Disease in Childhood*, vol. 101, no. 10, pp. 894–901, 2016, doi: 10.1136/archdischild-2016-311251.
- [8] L. C. Ingram *et al.*, "Cranial nerve palsy in childhood acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin's lymphoma," *Cancer*, vol. 67, no. 9, pp. 2262–2268, 1991, doi: 10.1002/1097-0142(19910501)67:9<2262::AID-CNCR2820670909>3.0.CO;2-U.
- [9] K. H. Baljevic M, Jabbour E, O'Brien S, *The MD Anderson Manual of Medical Oncology* ., 3 rd. 2016.
- [10] D. Longo, *Malignancies of Lymphoid Cells". Harrison's Principles of Internal Medicine*, 18 ed. New York: McGraw-Hill Professional, 2011.
- [11] D. G. P. Philip A. Pizzo, *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, Seventh ed. 2015.
- [12] B. Coiffier, A. Altman, C. H. Pui, A. Younes, and M. S. Cairo, "Guidelines for the management of pediatric and adult tumor lysis syndrome: An evidence-based review," *Journal of Clinical Oncology*, vol. 26, no. 16, pp. 2767–2778, 2008, doi: 10.1200/JCO.2007.15.0177.
- [13] Sheean, "ETV6-RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: improved outcome with contemporary therapy," *Bone*, vol. 23, no. 1, pp. 1–7, 2013, doi: 10.1038/leu.2011.227.ETV6-RUNX1.
- [14] S. Pakakasama *et al.*, "Simple multiplex RT-PCR for identifying common fusion transcripts in childhood acute leukemia," *International Journal of Laboratory Hematology*, vol. 30, no. 4, pp. 286–291, 2008, doi: 10.1111/j.1751-553X.2007.00954.x.

- [15] J. S. Lilleyman, I. M. Hann, R. F. Stevens, B. Eden, and S. M. Richards, "French American British (FAB) morphological classification of childhood lymphoblastic leukaemia and its clinical importance On behalf of the Medical Research Council's Working Party on Leukaemia in Childhood," *J Clin Pathol*, vol. 39, no. April, pp. 998–1002, 1986, [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC500200/pdf/jclinpath00204-0066.pdf>
- [16] A. Yeoh, D. Tan, C.-K. Li, H. Hori, E. Tse, and C.-H. Pui, "Management of adult and paediatric acute lymphoblastic leukaemia in Asia: resource-stratified guidelines from the Asian Oncology Summit 2013," *Lancet Oncology*, vol. 14, no. 12, pp. 1–32, 2014, doi: 10.1016/S1470-2045(13)70452-2.Management.
- [17] R. M. K. K. M. H. B. J. R. E. Behrman, *Nelson Essentials of Pediatrics*. 2005.
- [18] P. A. H. M. A. Victor Hoffbrand, *Essential Haematology*, 6th Editio. Wiley-Blackwell, 2011.
- [19] A. V. H. P. A. H. Moss, "Hoffbrand's essential," 2016.
- [20] A. v. Moorman *et al.*, "Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): Analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial," *Blood*, vol. 109, no. 8, pp. 3189–3197, 2007, doi: 10.1182/blood-2006-10-051912.
- [21] J. F. J. L. P. Lanzkowsky, Ed., *Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology*, 6th Editio. 2016.
- [22] D. G. M. Stuart H. Orkin MD , David G. Nathan MD, *Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood*, 8th Editio. 2014.
- [23] D. M. Barrett, N. Singh, D. L. Porter, S. A. Grupp, and C. H. June, "Chimeric antigen receptor therapy for cancer," *Annual Review of Medicine*, vol. 65, pp. 333–347, 2014, doi: 10.1146/annurev-med-060512-150254.
- [24] V. Alonso-Camino *et al.*, "CARbodies: Human antibodies against cell surface tumor antigens selected from repertoires displayed on T cell chimeric antigen receptors," *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, vol. 2, no. October 2012, p. e93, 2013, doi: 10.1038/mtna.2013.19.
- [25] G. I. L. P. C. A. Vlahopoulos, "Glucocorticoid and proteasome inhibitor impact on the leukemic lymphoblast: Multiple, diverse signals converging on a few key downstream regulators," *Molecular and cellular Endocrinology*, vol. 351, pp. 142–151, 2012.
- [26] N. Genet, "NUDT15 Polymorphisms Alter Thiopurine Metabolism and Hematopoietic Toxicity HHS Public Access Author manuscript," vol. 48, no. 4, pp. 367–373, 2016, doi: 10.1038/ng.3508.NUDT15.
- [27] T. Moriyama *et al.*, "Novel variants in NUDT15 and thiopurine intolerance in children with acute lymphoblastic leukemia from diverse ancestry," *Blood*, vol. 130, no. 10, pp. 1209–1212, 2017, doi: 10.1182/blood-2017-05-782383.
- [28] N. K. Zgheib *et al.*, "NUDT15 and TPMT genetic polymorphisms are related to 6-mercaptopurine intolerance in children treated for acute lymphoblastic leukemia at the Children's Cancer Center of Lebanon," *Pediatric Blood and Cancer*, vol. 64, no. 1, pp. 146–150, 2017, doi: 10.1002/pbc.26189.

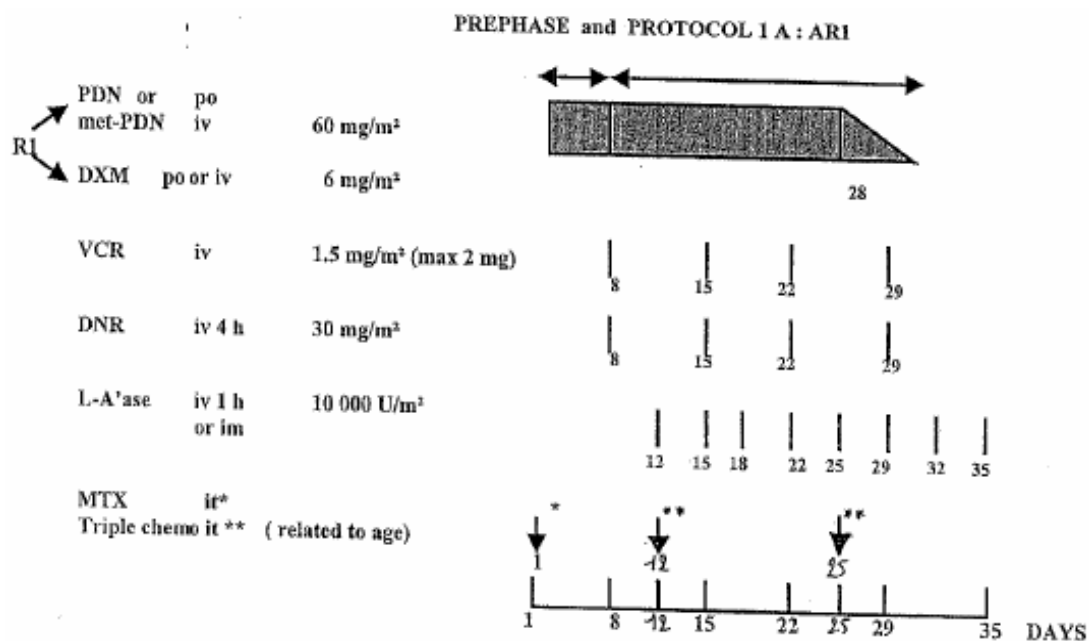
- [29] D. Yin *et al.*, "Impact of NUDT15 polymorphisms on thiopurines-induced myelotoxicity and thiopurines tolerance dose," *Oncotarget*, vol. 8, no. 8, pp. 13575–13585, 2017, doi: 10.18632/oncotarget.14594.
- [30] D. E. H. R. C. J. Loscalzo, "Thiopurine Pathway Pharmacogenet Genomics NIH Public Access," *Bone*, vol. 23, no. 1, pp. 1–7, 2011, doi: 10.1097/FPC.0b013e328334338f.Thiopurine.
- [31] D. Ms. Eldem, İrem MD*; Yavuz, "SLCO1B1 Polymorphisms are Associated With Drug Intolerance in Childhood Leukemia Maintenance Therapy," *pediatric Hematology and Oncology*, vol. 40, no. 5, pp. e289–e294, 2018.
- [32] P. T. M. Sara Marino PharmD, Federico Verzegnassi MD, "Response to glucocorticoids and toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia: Role of polymorphisms of genes involved in glucocorticoid response," *Pediatric Blood and Cancer*, vol. 53, no. 6, pp. 984–991, 2009.
- [33] A. Smid, N. Karas-Kuzelicki, J. Jazbec, and I. Mlinaric-Rascan, "PACSIN2 polymorphism is associated with thiopurine-induced hematological toxicity in children with acute lymphoblastic leukaemia undergoing maintenance therapy," *Scientific Reports*, vol. 6, no. February, pp. 1–10, 2016, doi: 10.1038/srep30244.
- [34] L. Lennard, C. S. Cartwright, R. Wade, and A. Vora, "Thiopurine dose intensity and treatment outcome in childhood lymphoblastic leukaemia: The influence of thiopurine methyltransferase pharmacogenetics," *British Journal of Haematology*, vol. 169, no. 2, pp. 228–240, 2015, doi: 10.1111/bjh.13240.
- [35] G. Milosevic *et al.*, "Variants in TPMT, ITPA, ABCC4 and ABCB1 Genes as Predictors of 6-Mercaptopurine Induced Toxicity in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia," *Journal of Medical Biochemistry*, vol. 37, no. 3, pp. 320–327, 2018, doi: 10.1515/jomb-2017-0060.
- [36] M. Albayrak, "Thiopurine methyltransferase polymorphisms and mercaptopurine tolerance in Turkish children with acute lymphoblastic leukemia," *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, vol. 68, pp. pages1155–1159, 2011.
- [37] T. B. Tumer, G. Ulusoy, O. Adali, G. Sahin, S. Gozdasoglu, and E. Arinç, "The low frequency of defective TPMT alleles in Turkish population: A study on pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia," *American Journal of Hematology*, vol. 82, no. 10, pp. 906–910, 2007, doi: 10.1002/ajh.20947.
- [38] P. Jarosław Peregud-Pogorzelski MD, "Thiopurine S-methyltransferase (TPMT) polymorphisms in children with acute lymphoblastic leukemia, and the need for reduction or cessation of 6-mercaptopurine doses during maintenance therapy: The Polish multicenter analysis," *Pediatric Blood and Cancer*, vol. 57, no. 4, pp. 578–582, 2011.
- [39] D. C. Liang *et al.*, "NUDT15 gene polymorphism related to mercaptopurine intolerance in Taiwan Chinese children with acute lymphoblastic leukemia," *Pharmacogenomics Journal*, vol. 16, no. 6, pp. 536–539, 2016, doi: 10.1038/tpj.2015.75.
- [40] A. M. Soler *et al.*, "TPMT and NUDT15 genes are both related to mercaptopurine intolerance in acute lymphoblastic leukaemia patients from Uruguay," *British Journal of Haematology*, vol. 181, no. 2, pp. 252–255, 2018, doi: 10.1111/bjh.14532.

- [41] J. J. Yang *et al.*, "Inherited NUDT15 variant is a genetic determinant of mercaptopurine intolerance in children with acute lymphoblastic leukemia," *Journal of Clinical Oncology*, vol. 33, no. 11, pp. 1235–1242, 2015, doi: 10.1200/JCO.2014.59.4671.
- [42] Y. Tanaka *et al.*, "Susceptibility to 6-MP toxicity conferred by a NUDT15 variant in Japanese children with acute lymphoblastic leukaemia," *British Journal of Haematology*, vol. 171, no. 1, pp. 109–115, 2015, doi: 10.1111/bjh.13518.
- [43] R. Article, "Association of NUDT15 c . 415C > T allele and thiopurine-induced leukocytopenia in Asians : a systematic review and meta- analysis Compliance with ethical standards," no. Ci, pp. 1–11, 2019.
- [44] K. Chao *et al.*, "Combined Detection of NUDT15 Variants Could Highly Predict Thiopurine-induced Leukopenia in Chinese Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Multicenter Analysis," *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 23, no. 9, pp. 1592–1599, 2017, doi: 10.1097/MIB.0000000000001148.
- [45] A. F. Hawwa *et al.*, "Pharmacogenomic studies of the anticancer and immunosuppressive thiopurines mercaptopurine and azathioprine," *British Journal of Clinical Pharmacology*, vol. 66, no. 4, pp. 517–528, 2008, doi: 10.1111/j.1365-2125.2008.03248.x.
- [46] S. Khera, "Prevalence of TPMT, ITPA and NUDT 15 genetic polymorphisms and their relation to 6MP toxicity in north Indian children with acute lymphoblastic leukemia," *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, vol. 83, pp. 341–348, 2019.
- [47] J. A. W. Hunger, Stephen P. Mignon L.Loh, "Children Oncology Groups 2013 Blueprint for Research : Acute Lymphoblastic Leukemia NIH Public Access," *Bone*, vol. 23, no. 1, pp. 1–7, 2011, doi: 10.1002/pbc.24420.Children.
- [48] W. R. W. R. Bs. (Hons), "Polymorphism of ITPA 94C>A and risk of adverse effects among patients with acute lymphoblastic leukaemia treated with 6-mercaptopurine," *journal of clinical pharmacy and Therapeutics*, vol. 37, no. 2, 2011.
- [49] C. S. J Brandt Andersen, "Pharmacokinetics, dose adjustments, and 6-mercaptopurine/ methotrexate drug interactions in two patients with thiopurine methyltransferase deficiency," *ACTA paediatrica*, vol. 87, no. 1, pp. 108–111, 2007.
- [50] E. Y. Krynetski, J. D. Schuetz, A. J. Galpin, C. H. Pui, M. v. Relling, and W. E. Evans, "A single point mutation leading to loss of catalytic activity in human thiopurine S-methyltransferase," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 92, no. 4, pp. 949–953, 1995, doi: 10.1073/pnas.92.4.949.
- [51] T. Adam de Beaumais *et al.*, "Determinants of mercaptopurine toxicity in paediatric acute lymphoblastic leukemia maintenance therapy," *British Journal of Clinical Pharmacology*, vol. 71, no. 4, pp. 575–584, 2011, doi: 10.1111/j.1365-2125.2010.03867.x.
- [52] B. Moradveisi, S. Muwakkit, F. Zamani, E. Ghaderi, E. Mohammadi, and N. K. Zgheib, "ITPA, TPMT, and NUDT15 genetic polymorphisms predict 6-mercaptopurine toxicity in Middle Eastern children with acute lymphoblastic leukemia," *Frontiers in Pharmacology*, vol. 10, no. JULY, pp. 1–8, 2019, doi: 10.3389/fphar.2019.00916.

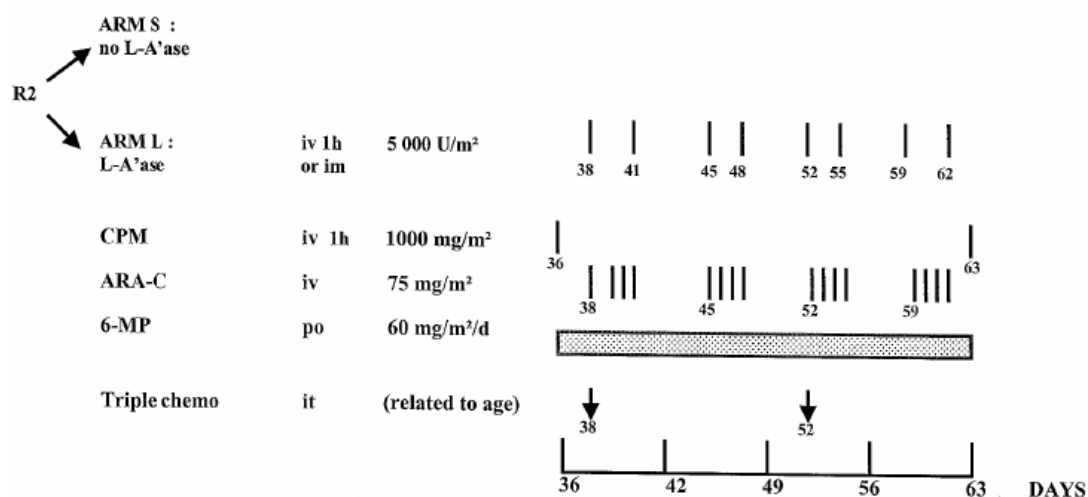
- [53] H. Mohimani, "Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for thiopurine dosing based on TPMT and NUDT15 genotypes: 2018 update," *Physiology & behavior*, vol. 176, no. 3, pp. 139–148, 2017, doi: 10.1002/cpt.1304.Clinical.
- [54] S. A, "Diagnostic accuracy of NUDT15 gene variants for thiopurine-induced leukopenia: a systematic review and meta-analysis," *Pharmacological Research*, vol. 135, pp. 102–111, 2018.
- [55] N. C. K. Valerie *et al.*, "NUDT15 hydrolyzes 6-thio-deoxyGTP to mediate the anticancer efficacy of 6-thioguanine," *Cancer Research*, vol. 76, no. 18, pp. 5501–5511, 2016, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0584.
- [56] E. S. Yi *et al.*, "NUDT15 variants cause hematopoietic toxicity with low 6-TGN levels in children with acute lymphoblastic leukemia," *Cancer Research and Treatment*, vol. 50, no. 3, pp. 872–882, 2018, doi: 10.4143/crt.2017.283.
- [57] J. J. Yang *et al.*, "Inherited NUDT15 variant is a genetic determinant of mercaptopurine intolerance in children with acute lymphoblastic leukemia," *Journal of Clinical Oncology*, vol. 33, no. 11, pp. 1235–1242, 2015, doi: 10.1200/JCO.2014.59.4671.
- [58] G. Tatsumi *et al.*, "Thiopurine-mediated impairment of hematopoietic stem and leukemia cells in Nudt15 R138C knock-in mice," *Leukemia*, vol. 34, no. 3, pp. 882–894, 2020, doi: 10.1038/s41375-019-0583-9.
- [59] H. Zhou *et al.*, "Optimal predictor for 6-mercaptopurine intolerance in Chinese children with acute lymphoblastic leukemia: NUDT15, TPMT, or ITPA genetic variants?," *BMC Cancer*, vol. 18, no. 1, pp. 2018–2019, 2018, doi: 10.1186/s12885-018-4398-2.
- [60] D. Yin *et al.*, "Impact of NUDT15 polymorphisms on thiopurines-induced myelotoxicity and thiopurines tolerance dose," *Oncotarget*, vol. 8, no. 8, pp. 13575–13585, 2017, doi: 10.18632/oncotarget.14594.
- [61] N. Sutiman *et al.*, "Predictive role of NUDT15 variants on thiopurine-induced myelotoxicity in Asian inflammatory bowel disease patients," *Pharmacogenomics*, vol. 19, no. 1, pp. 31–43, 2018, doi: 10.2217/pgs-2017-0147.
- [62] A. Puangpetch *et al.*, "NUDT15 genetic variants are related to thiopurine-induced neutropenia in Thai children with acute lymphoblastic leukemia," *Pharmacogenomics*, vol. 21, no. 6, pp. 403–410, 2020, doi: 10.2217/pgs-2019-0177.
- [63] S.-K. Yang *et al.*, "A common missense variant in NUDT15 confers susceptibility to thiopurine-induced leukopenia," *Nat Genet*, vol. 46, no. 9, pp. 1017–1020, 2014, doi: 10.1038/ng.3060.A.
- [64] Y. Takagi, D. Setoyama, R. Ito, H. Kamiya, Y. Yamagata, and M. Sekiguchi, "Human MTH3 (NUDT18) protein hydrolyzes oxidized forms of guanosine and deoxyguanosine diphosphates: Comparison with MTH1 and MTH2," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 287, no. 25, pp. 21541–21549, 2012, doi: 10.1074/jbc.M112.363010.
- [65] N. C. K. Valerie *et al.*, "NUDT15 hydrolyzes 6-thio-deoxyGTP to mediate the anticancer efficacy of 6-thioguanine," *Cancer Research*, vol. 76, no. 18, pp. 5501–5511, 2016, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0584.

الملاحق:

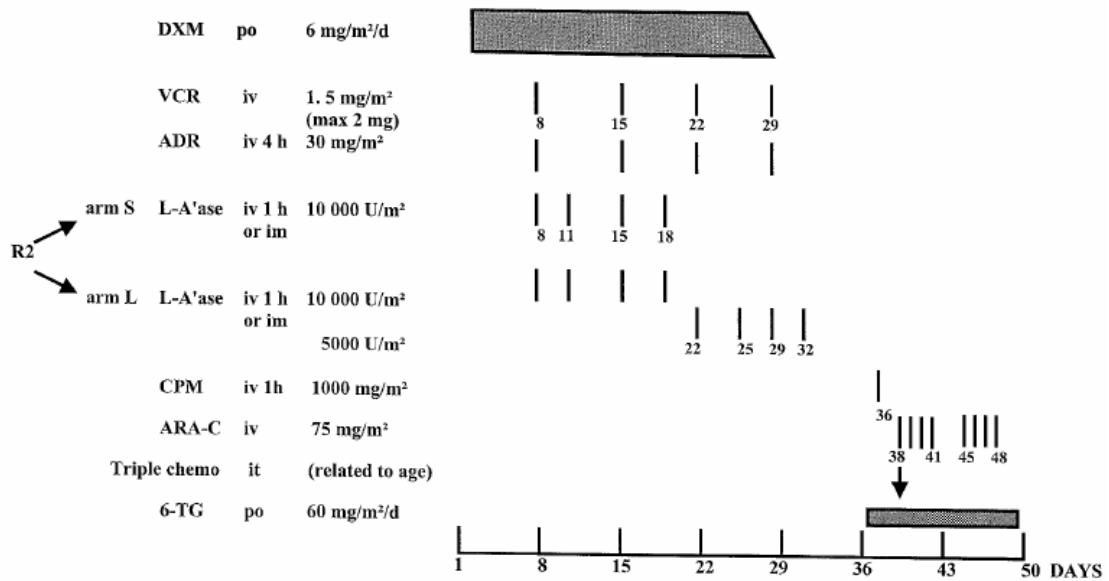
الملحق رقم 1 (بروتوكولات المعالجة):



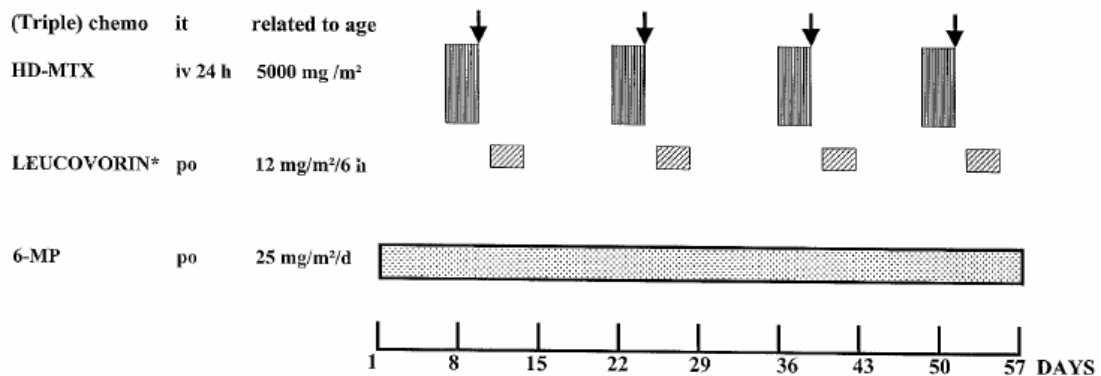
Triple chemo it	MTX	ARA-C	Hydrocort.
X < 1 y	6	15	7.5
1 y ≤ X < 2 y	8	20	10
2 y ≤ X < 3 y	10	25	12.5
X ≥ 3 y	12	30	15.0

PROTOCOLE 1 B : AR1, AR2

Triple chemo it	MTX	ARA-C	Hydrocort.
X < 1 y	6	15	7.5
1 y ≤ X < 2 y	8	20	10
2 y ≤ X < 3 y	10	25	12.5
X ≥ 3 y	12	30	15.0

PROTOCOL II A and II B : AR1, AR2


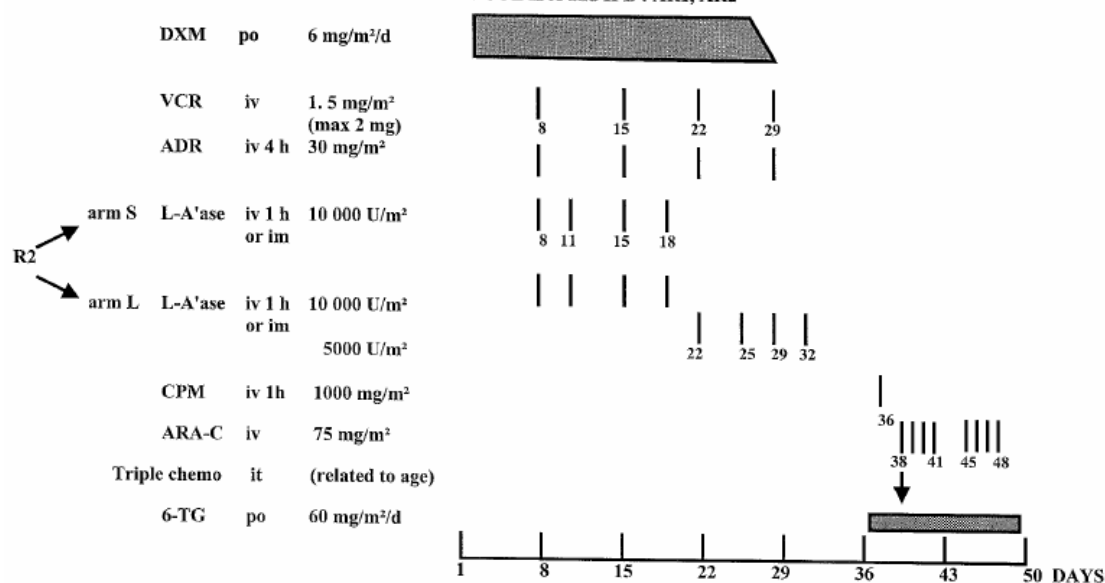
Triple chemo it	MTX	ARA-C	Hydrocort.
X < 1 y	6	15	7.5
1 y ≤ X < 2 y	8	20	10
2 y ≤ X < 3 y	10	25	12.5
X ≥ 3 y	12	30	15.0

INTERVAL THERAPY : VLR, AR1, AR2


- first dose H36 after start of HD- MTX – Until H72 or MTX < 2 x 10⁻⁷ M

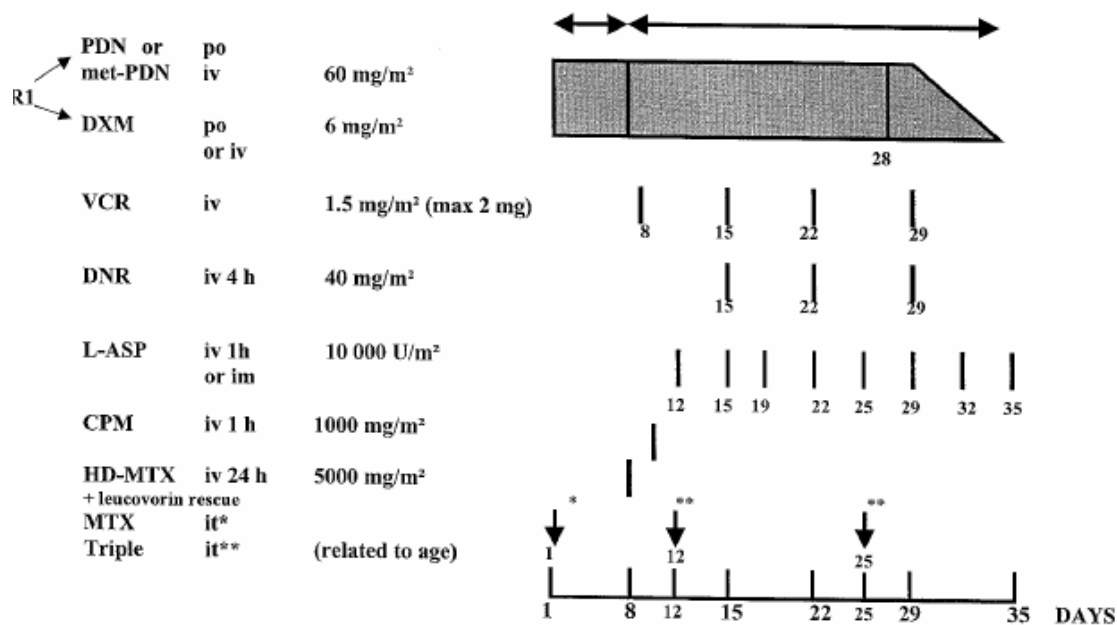
For AR1, AR2 patients				For VLR patients	
Triple chemo it	MTX	ARA-C	Hydrocort.	Chemo it	MTX
X < 1 y	6	15	7.5	X < 1 y	6
1 y ≤ X < 2 y	8	20	10	1 y ≤ X < 2 y	8
2 y ≤ X < 3 y	10	25	12.5	2 y ≤ X < 3 y	10
X ≥ 3 y	12	30	15.0	X ≥ 3 y	12

PROTOCOL II A and II B : AR1, AR2



Triple chemo it	MTX	ARA-C	Hydrocort.
X < 1 y	6	15	7.5
1 y ≤ X < 2 y	8	20	10
2 y ≤ X < 3 y	10	25	12.5
X ≥ 3 y	12	30	15.0

PREPHASE and PROTOCOL 1 A : AR2 and VHR



Triple chemo it	MTX	ARA-C	Hydrocort.
X < 1 y	6	15	7.5
1 y ≤ X < 2 y	8	20	10
2 y ≤ X < 3 y	10	25	12.5
X ≥ 3 y	12	30	15.0

REMISSION INDUCTION

Day 1 LP, ITMHA, LV rescue PRED VCR DAUNO§ TMP-SMZ <i>PE,CBCD ,Chem9,</i> <i>Glucose, LDH, Uric</i> <i>Acid, SGPT, , Bili,</i> <i>Albumin, Alk Phos,</i>	Day 2 PRED ASP TMP-SMZ <i>PE, CBCD,</i> <i>Uric Acid,</i> <i>lytes, Ca, P,</i> <i>Mg, TG,</i> <i>Amylase,</i> <i>Glucose</i>	Day 3 PRED TMP-SMZ <i>PE, CBCD,</i> <i>Uric Acid,</i> <i>lytes, Ca, P,</i> <i>Mg</i>	Day 4 PRED ASP <i>PE,CBCD,</i> <i>Uric Acid,</i> <i>lytes, Ca, P,</i> <i>Mg</i>	Day 5 PRED <i>PE,CBCD,UR</i> <i>A, lytes, Ca,</i> <i>P, Mg</i> <i>Bili, SGPT</i>	Day 6 PRED ASP <i>PE, CBCD,</i> <i>URA, lytes,</i> <i>Ca, P, Mg</i>	Day 7 PRED <i>CBCD, URA,</i> <i>lytes, Ca, P, Mg</i>
Day 8 PRED VCR DAUNO § ASP TMP-SMZ <i>CBCD, SGPT,</i> <i>Bilirubin, TG,</i> <i>Amylase, Glucose</i> (*)CSF Studies (*)ITMHA, (*)Leucovorin	Day 9 PRED TMP-SMZ	Day 10 PRED ASP TMP-SMZ	Day 11 PRED	Day 12 PRED ASP <i>CBCD</i>	Day 13 PRED	Day 14 PRED
Day 15 LP, ITMHA, Leucovorin rescue †BM PRED VCR TMP-SMZ <i>CBCD, SGPT,</i> <i>Bilirubin</i> <i>MRD</i> <i>CSF Studies</i>	Day 16 PRED TMP-SMZ (ASP)** (TG, <i>Amylase,</i> <i>Glucose)</i>	Day 17 PRED TMP-SMZ	Day 18 PRED (ASP)	Day 19 PRED <i>CBCD</i>	Day 20 PRED (ASP)	Day 21 PRED

Day 22 PRED VCR CYCLO 6MP <i>CBCD, SGPT,</i> <i>Bilirubin, chem9</i> TMP-SMZ (†) BM (*)CSF Studies (*)ITMHA, (*) Leucovorin Rescue	Day 23 PRED ARA-C 6MP TMP-SMZ	Day 24 PRED ARA-C 6MP TMP-SMZ	Day 25 PRED ARA-C 6MP	Day 26 PRED ARA-C 6MP <i>CBCD</i>	Day 27 PRED 6MP	Day 28 PRED 6MP
Day 29 Stop Prednisone 6MP TMP-SMZ <i>CBCD, SGPT,</i> <i>Bil</i>	Day 30 ARA-C 6MP TMP-SMZ	Day 31 ARA-C 6MP TMP-SMZ	Day 32 ARA-C 6MP	Day 33 ARA-C 6MP	Day 34 6MP	Day 35 6MP
Day 36 TMP-SMZ <i>CBCD</i>	Day 37 TMP-SMZ	Day 38 TMP-SMZ	Day 39	Day 40	Day 41	Day 42 †BM (see consolidation calendar) <i>MRD</i>

CONSOLIDATION

Day 1 *IT (TIT) <i>CBCD, chem9, sgpt,</i> <i>bilirubin</i> HDMTX #1, 6MP	Day 2 6MP	Day 3 6MP	Day 4 6MP	Day 5 6MP	Day 6 6MP	Day 7 6MP
Day 8 <i>CBCD</i> 6MP	Day 9 6MP	Day 10 6MP	Day 11 6MP	Day 12 6MP	Day 13 6MP	Day 14 6MP

Day 15 *IT (TIT) CBCD, chem9, sgpt, bilirubinHDMTX #2, 6MP	Day 16 6MP	Day 17 6MP	Day 18 6MP	Day 19 6MP	Day 20 6MP	Day 21 6MP
Day 22 CBCD 6MP	Day 23 6MP	Day 24 6MP	Day 25 6MP	Day 26 6MP	Day 27 6MP	Day 28 6MP
Day 29 *IT (TIT) CBCD, chem9, sgpt, bilirubin HDMTX #3, 6MP	Day 30 6MP	Day 31 6MP	Day 32 6MP	Day 33 6MP	Day 34 6MP	Day 35 6MP
Day 36 CBCD 6MP	Day 37 6MP	Day 38 6MP	Day 39 6MP	Day 40 6MP	Day 41 6MP	Day 42 6MP
Day 43 * IT (TIT) CBCD, chem9, sgpt, bilirubin HDMTX #4, 6MP	Day 44 6MP	Day 45 6MP	Day 46 6MP	Day 47 6MP	Day 48 6MP	Day 49 6MP
Day 50 CBCD 6MP	Day 51 6MP	Day 52 6MP	Day 53 6MP	Day 54 6MP	Day 55 6MP	Day 56 6MP

MAINTENANCE THERAPY

	Intermediate risk/High risk		Low risk	
Week		Special studies		Special studies
1	DEX + DOX + VCR + 6MP + ASP		6MP + DEX + VCR	
2	6MP + ASP		6MP + MTX	
3	(*) 6MP + ASP		(*) 6MP + MTX	
4	DEX + DOX + VCR + 6MP + ASP		6MP + DEX + VCR	
5	6MP + ASP		6MP + MTX	
6	6MP + ASP		6MP + MTX	
7	†*Reinduction I DEX + DOX + VCR + ASP		†*Reinduction I DEX + DOX + VCR + ASP X 3	
8	Reinduction I DOX + VCR + ASP		Reinduction I VCR + ASP X 3	
9	Reinduction I DEX + ASP + VCR		Reinduction I DEX + VCR + ASP X 3	
10	6MP + ASP		6MP + MTX	

11	DOX + VCR + 6MP + ASP		6MP + MTX	
12	*6MP + ASP		*6MP + MTX	
13	6MP + ASP		6MP + MTX	
14	DEX + DOX + VCR + 6MP + ASP		6MP + DEX + VCR	
15	6MP + ASP		6MP + MTX	
16	6MP + ASP		6MP + MTX	
17	*Reinduction II DEX+ VCR + ASP		*Reinduction II DEX + VCR + ASP X3	
18	Reinduction II VCR + ASP		Reinduction II VCR + ASP X3	
19	Reinduction II DEX+ VCR + HD-Ara- C + ASP		Reinduction II DEX + VCR + ASP X3	
20	No chemotherapy		6MP + MTX	
21	6MP + MTX		6MP + MTX	
22	6MP + MTX		6MP + MTX	
23	6MP + MTX		6MP + MTX	
24	Cyclo + Ara-C		6MP + MTX	
25	*Dex+ VCR		*6MP + Dex + VCR	
26	6MP + MTX		6MP + MTX	
27	6MP + MTX		6MP + MTX	
28	Cyclo + Ara-C		6MP + MTX	
29	*Dex + VCR		(*) 6MP + Dex + VCR	
30	6MP + MTX		6MP + MTX	
	Intermediate/High risk		Low risk	
Week		Special studies		Special studies
31	6MP + MTX		6MP + MTX	
32	Cyclo + Ara-C		6MP + MTX	
33	*DEX + VCR		*6MP + DEX + VCR	
34	6MP + MTX		6MP + MTX	
35	6MP + MTX		6MP + MTX	
36	Cyclo + Ara-C		6MP + MTX	
37	*DEX + VCR		(*)6MP + Dex + VCR	
38	6MP + MTX		6MP + MTX	
39	6MP + MTX		6MP + MTX	
40	Cyclo + Ara-C		6MP + MTX	
41	*DEX + VCR		*6MP + Dex + VCR	
42	6MP + MTX		6MP + MTX	
43	6MP + MTX		6MP + MTX	
44	Cyclo + Ara-C		6MP + MTX	

45	*DEX + VCR		(*)6MP + Dex + VCR	
46	6MP + MTX		6MP + MTX	
47	6MP + MTX		6MP + MTX	
48	Cyclo + Ara-C		6MP + MTX	
49	*DEX + VCR		*6MP + Dex + VCR	
50	6MP + MTX		6MP + MTX	
51	6MP + MTX		6MP + MTX	
52	Cyclo + Ara-C		6MP + MTX	
53	(**)DEX + VCR		(**)6MP + Dex + VCR	
54	6MP + MTX		6MP + MTX	
55	6MP + MTX		6MP + MTX	
56	Cyclo+Ara-C		6MP + MTX	
57	(*)Dex+ VCR		(**)6MP + Dex + VCR	
58	6MP + MTX		6MP + MTX	
59	6MP + MTX		6MP + MTX	
60	Cyclo + Ara-C		6MP + MTX	
61	(**)Dex + VCR		6MP + Dex+ VCR	
62	6MP + MTX		6MP + MTX	
63	6MP + MTX		6MP + MTX	
64	Cyclo + Ara-C		6MP + MTX	
65	(*)Dex+ VCR		6MP + Dex+ VCR	
66	6MP + MTX		6MP + MTX	
67	6MP + MTX		6MP + MTX	
68	Cyclo + Ara-C		6MP + MTX	
69	Dex+ VCR		6MP + Dex + VCR	
70	6MP + MTX		6MP + MTX	
71	6MP + MTX		6MP + MTX	
72	6MP + MTX		6MP + MTX	
73	(*)6MP +MTX		6MP + MTX	
74	6MP + MTX		6MP + MTX	

DRUG REGIMEN

R-Hyper-CVAD - Cycles 1, 3, 5, 7:	
Day 0	METHOTREXATE 12 mg INTRATHECAL.

Day 1	Pre-med with Chlorphenamine 10 mg IV, paracetamol 1 g 30 minutes before rituximab. Give day 1 dexamethasone at least 30 minutes prior to rituximab. RITUXIMAB 375 mg/m² IV infusion daily in 500 mL sodium chloride 0.9%.
Days 1 to 3	MESNA 600 mg/m² per day IV continuous infusion in 1000 mL sodium chloride 0.9% over 24 hours (to begin 1 hour before cyclophosphamide and stopping 12 hours after final dose).
Days 1 to 3	CYCLOPHOSPHAMIDE 300 mg/m² twice a day IV infusion in 250 mL sodium chloride 0.9% over 2 hours for 6 doses.
Days 1 to 4	DEXAMETHASONE 40 mg PO/IV daily (2 mg tablets).
Day 4	DOXORUBICIN 50 mg/m² IV infusion daily in 100 mL sodium chloride 0.9% over 2 hours.
Day 4	VINCRIStINE 1.4 mg/m² (maximum 2 mg) IV infusion in 50 mL sodium chloride 0.9% over 10 minutes. Consider capping at 1 mg in the over 70 year old age group.
Day 5	G-CSF as per local policy. Continue until neutrophils >1.0 x 10⁹/L for 3 consecutive days.
Day 7	CYTARABINE 100 mg INTRATHECAL.
Days 8 to 11	DEXAMETHASONE 40 mg PO/IV daily (2 mg tablets).
Day 11	VINCRIStINE 1.4 mg/m² (maximum 2 mg) IV infusion in 50 mL sodium chloride 0.9% over 10 minutes.

	Consider capping at 1 mg in the over 70 year old age group
R-MA - Cycles 2, 4, 6, 8:	
Day 0	Hydration / Alkalinisation - Pre methotrexate (starting T=-12 hours). Refer to sections below.
Day 1	RITUXIMAB 375 mg/m ² IV infusion daily in 500 mL sodium chloride 0.9%.
Day 1 (T=0)	METHOTREXATE 1 g/m ² IV infusion [start at 10.00 hrs] Day 1 in exactly 500 mL sodium chloride 0.9% over 24 hrs. Calcium folinate (Folinic acid) post methotrexate (starting 36 hours from the start of methotrexate). Refer to sections below.
Day 2	METHOTREXATE 12 mg INTRATHECAL (following completion of IV methotrexate).
Days 3 & 4	CYTARABINE* 3 g/m ² IV infusion (at 24, 36, 48 and 60 hours after completion of IV methotrexate) in 500 mL sodium chloride 0.9% over 2 hours.
Day 5	G-CSF as per local policy. Continue until neutrophils >1.0 x 10 ⁹ /L for 3 consecutive days.
Day 7	CYTARABINE 100 mg INTRATHECAL.

NB: * Patients aged 60 years or more, reduce cytarabine to 1 g/m².

الملحق رقم 2 (نموذج الموافقة المستنيرة):

أنا الطبيب محمد ماجد محمد، طالب دكتوراة بقسم الأورام في كلية الطب البشري بجامعة دمشق، أزالول تدريبي البحثي في مشفى البيروني الجامعي وأنا أجري دراسة حول **علاقة التعدد الشكلي لجين NUDT15 بعدم تحمل جرعات 6-Mercaptopurine عند المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد في مشفى البيروني الجامعي**. أدعوك للمشاركة في هذا البحث ولك مطلق الحرية في قبول أو رفض ذلك.

قبل الموافقة على المشاركة في هذا البحث أرجو قراءة المعلومات الآتية بعناية:

في حال موافقتك على الاشتراك بهذه الدراسة سيتم سؤالك عن معلوماتك وعاداتك الشخصية التي تتعلق بالمرض وعن أعراض وعلامات مرضك وعن سوابقك المرضية والعائلية وستخضع لمجموعة من الاستقصاءات والتحليلات المخبرية التي تجرى بشكل روتيني لكل المرضى المعالجين في المشفى سواء كانوا مشاركين بالدراسة أم غير مشاركين. وسيتم أخذ عينة من الدم المحيطي لتحري وجود طفرة *NUDT15* وربط المعلومات مع التحاليل والاستقصاءات السابقة.

سيتم الاطلاع على ملفك الطبي من قبل الأطباء والباحثين المشاركين في هذه الدراسة وذلك بعلم إدارة المشفى.

لن ننشر أي معلومات متعلقة بك ذات طابع شخصي أو معلومات تتعلق بالملف الطبي، ولن نستخدم عينة الدم لأية أغراض أخرى.

يمكنك الانسحاب من الدراسة بأي وقت بدون أن يتغير التدبير الطبي اللازم لحالتك الصحية وبدون أن يترتب عليك أية تكاليف.

أخيرا يجب أن تعلم أن عدم موافقتك على الاشتراك في الدراسة لن يؤثر على تدبير مرضك خلال إقامتك بالمشفى و سَتُعْتَمَد الخطة العلاجية المتبعة تقليدياً في المشفى.

في حال موافقتك على الاشتراك بالدراسة، يرجى التوقيع أدنى هذه الورقة.

إقرار المريض: لقد قرأت المعلومات الواردة أعلاه وكانت لدي الفرصة لأطرح الأسئلة وحصلت على إجابات مقنعة، وأنا على علم بالإجراءات التي قد أخضع لها ولي كامل الحرية بالانسحاب من هذه الدراسة متى أشاء دون أن يترتب علي أي تكاليف أو إجراءات قانونية ولي الحق بمتابعة العلاج في مشفى البيروني الجامعي. لذلك أوافق على الاشتراك بالدراسة.

اسم الطبيب :

اسم المشارك :

توقيع الطبيب :

توقيع المشارك :

الملحق رقم 3 (الاستمارة الخاصة بدراسة: علاقة التعدد الشكلي لجين NUDT15 بعدم تحمل جرعات 6-Mercaptopurine عند المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد)

معلومات ملف المريض

- رقم الملف في المشفى:
- رقم الملف في شعبة الدم أو وحدة بسمة:
- تاريخ القبول في المشفى: / /
- ❖ المعلومات الشخصية و عادات المريض
- تاريخ الميلاد: / /
- عمر المريض عند التشخيص:
- عمر المريض عند البدء بمرحلة الصيانة:
- الجنس:

ذكر		أنثى	
-----	--	------	--

- مكان الولادة:
- السكن الحالي:
- رقم الهاتف:
- الوزن: الطول مساحة وزن الجسم:
- الأصل العرقي:

عربي	سرياني	تركمانى	كردي
شركسي	أوروبي	أفريقي	غيرها

وجود قصة عائلية للسرطان:

نعم	لا	نوعه	
-----	----	------	--

❖ التقييم عند التشخيص

Cytogenetics:

--	--	--	--	--	--	--	--

Flowcytometry:

Pre-B	B-cell	T-cell					
-------	--------	--------	--	--	--	--	--

التحاليل المخبرية

WBC		GOT	
N/ L		GPT	
HB			
MCV			
MCHC			
PLT			

❖ نبحث عن التحاليل الآتية: SGOT، SGPT، CBC في كل مراجعة للمريض

❖ نبحث عما يأتي: الوزن، الطول، مشعر كتلة الجسم

❖ جرعة 6-MP التي اعطيت للمريض، جرعة 6-MP الواجب استخدامها وذلك حسب مشعر كتلة الجسم
المراجعة:

• تاريخها:

...../...../.....

• أعراض الانسمام

العرض	وجوده	شدته	ملاحظات
حرارة			
إقياءات			
طفح جلدي			
حاصة			
تكدمات			
نزوف نقطية			

• التحاليل المخبرية

WBC		GOT	
N/ L		GPT	
HB			
MCV			
MCHC			
PLT			

.....

Abstract

Background and Aims: Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) is the most common cancer seen in children worldwide and in the Middle East. Although there have been major advances in treatment approaches for childhood ALL. Serious toxicities do occur but with significant inter-individual variability. The aim of this study is to evaluate the effect of NUDT15 polymorphism for causing 6-Mercaptopurine toxicity in acute lymphoblastic leukemia patients and to measure the frequency of NUDT15 polymorphism in Syrian population.

Patients and Methods: This is a retrospective study that included all patients with acute lymphoblastic leukemia reaching at least 6 months of maintenance therapy between January 2018 and May 2020 at three recruitment sites in Damascus, Syria. Low- and intermediate-risk patients were treated as per the EORTC 58951 protocol, while high-risk patients were treated as per the St Jude TOTXV protocol. Adult patients were treated by hyper CVAD protocol or GR-ALL protocol as the attendant desire. DNA was extracted from patient EDTA-anti-coagulated peripheral blood samples. NUDT15 specific primers were used to amplify a 450 bp long amplicon containing the rs116855232 site, then amplicons were sequenced to define patient genotypes and allele frequency. The NUDT15 rs116855232 genetic polymorphism was performed and linked to the current clinical factors; 6-mercaptopurine dose intensity, early onset leukopenia, hepatotoxicity and therapy interruption.

Results: A total of 107 patients were enrolled (54.21% low-risk, 33.64% intermediate-risk and 12.15% high-risk). The TC genotype was found in 6 patients (5.6%) and the TT genotype was found in 1 patient (0.93%), with allele frequency (C=0.962 and T=0.037). The mercaptopurine dose intensity was 82.61%, 56.90% and 4.99% for the genotypes CC, TC and TT respectively (P : 0.0071). A significant association was found between early onset neutropenia and NUDT15 polymorphism (TC or TT), OR: 8.92 (95% CI: 1.79-44.48, P : 0.012). None of the patients with NUDT15 polymorphism had significant elevation in liver transaminases.

Conclusion: The incidence of NUDT15 rs116855232 polymorphism seems to be slightly higher than neighboring countries. Our study confirms that NUDT15 rs116855232 polymorphism is associated with mercaptopurine hematopoietic toxicity but not with hepatotoxicity in a population of Syrian patients with ALL.

Keywords: NUDT15 polymorphism, Acute lymphoblastic leukemia, Mercaptopurine toxicity, Myelotoxicity



Syrian Arab Republic
Damascus University
Faculty of Medicine
Department of Oncology

Title:

**The Relationship between NUDT15 Gene and 6-Mercaptopurine
Intolerance in Acute Lymphoblastic Leukemia Patients**

A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree
of (PhD) in oncology

By:

Muhammad Muhammad

Supervisors:

Maher Saifo

Associate Professor at Faculty of Medicine, Damascus University

Majd Aljamali

Associate Professor at Faculty of Pharmacy, Damascus University

Edited in: 2022