MANUAL

[illegible] ANGLO-INDIAN [illegible]

[illegible] INDIAN [illegible]

[illegible] ORTHOGRAPHY

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

Η [illegible] ΤΗΣ [illegible] ΣΤΗΝ [illegible]
[illegible] ΤΩΝ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΩΝ [illegible]
[illegible] ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ

[illegible]
[illegible]

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2002

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ
ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Δ. Ε. ΛΩΛΗΣ

Η ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΧΕΙΑΣ

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Α. ΛΙΑΛΙΟΣ
ΜΑΙΕΥΤΗΡΑΣ – ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2002

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής
από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν
υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα.

Νόμος 5343, άρθρο 202, παράγραφος 2.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων καθηγητής:

Δ. Ε. Λώλης, *Καθηγητής Μαιευτικής & Γυναικολογίας*

Μέλη:

Ε. Παρασκευαϊδης, *Καθηγητής Μαιευτικής & Γυναικολογίας*

Ι. Γεωργίου, *Επ Καθηγητής Γενετικής, Μαιευτικής & Γυναικολογίας*

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δ. Ε. Λώλης, *Καθηγητής Μαιευτικής & Γυναικολογίας*

Ν. ΑΓΝΑΝΤΗ, *Καθηγήτρια παθολογικής Ανατομίας*

Ε. ΤΣΙΑΝΟΣ, *Καθηγητής Γαστρεντερολογίας-Παθολογίας*

Κ. ΜΠΟΥΡΑΝΤΑΣ, *Καθηγητής Αιματολογίας-Παθολογίας*

Ε. ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΪΔΗΣ, *Καθηγητής Μαιευτικής & Γυναικολογίας*

Ι. ΓΕΩΡΓΙΟΥ, *Επ Καθηγητής Γενετικής, Μαιευτικής & Γυναικολογίας*

Γ. ΜΑΚΡΥΔΗΜΑΣ, Επ. *Καθηγητής Μαιευτικής & Γυναικολογίας*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στην Γυναικολογική και Μαιευτική κλινική του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, με την επίβλεψη του καθηγητή κ. Δημητρίου Ε. Λώλη.

Το θέμα αφορά την θεραπεία της αναιμίας της κύησης και της λοχείας με ανθρώπινη ανασυνδυασμένη ερυθροποιητίνη. Είναι μια εναλλακτική θεραπεία, που υπόσχεται πολλά στο μέλλον.

Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν γυναίκες που προσήλθαν στα Εξωτερικά Ιατρεία και την κλινική της μαιευτικής κλινικής, για παρακολούθηση της κύησης.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω

Τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Λώλη Δημήτριο, για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ ερευνητικά στο χώρο της μαιευτικής, τον καθηγητή κ. Παρασκευαίδη Ευάγγελο, τον καθηγητή κ. Μπουραντά Κωνσταντίνο, τον επικ. καθηγητή κ. Μακρυδήμα Γεώργιο, τον επικ. καθηγητή κ. Γεωργίου Ιωάννη για την πολύτιμη βοήθεια τους στην εκπόνηση της διατριβής, καθώς και τον καθηγητή κ. Μεσσήνη Ιωάννη για τις τελικές διορθώσεις.

Α. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ –ΣΚΟΠΟΣ

Το πρώτο πράγμα που έχουμε υπόψη, όταν σκεφτόμαστε το χώρο δράσης της ανασυνδυασμένης ανθρώπινης ερυθροποιητίνης (rHuEPO) στη μαιευτική, είναι ότι η χρησιμότητα και οι παρενέργειές της πρέπει να προσδιορισθούν σε δύο ασθενείς, στη μητέρα και στο έμβρυο. Πέρα από μια λεπτομερή γνώση της φυσιολογίας της ερυθροποίησης στη μητέρα και στο έμβρυο κατά τη διάρκεια της κύησης και στη μητέρα κατά τη διάρκεια της λοχείας, η θεραπευτική χρήση της rHuEPO στη μαιευτική προϋποθέτει απαντήσεις σε έναν αριθμό συγκεκριμένων ερωτήσεων.

i) Σε ποια έκταση αποτελεί η ΕΠΟ το πρωταρχικό ερέθισμα της ερυθροποίησης στη μητέρα και στο έμβρυο;

ii) Η αιμοποίηση, συμπεριλαμβανομένης της διέγερσης και της ρύθμισής της, λαμβάνει χώρα ξεχωριστά στη μητέρα και στο έμβρυο;

iii) Η ΕΠΟ διαπερνά τον πλακούντα;

iv) Πόσο αξιόπιστος δείκτης υποξαιμίας είναι μια αυξημένη τιμή ΕΠΟ στη μητέρα ή στο έμβρυο;

Η θεραπευτική χρήση rHuEPO στη μαιευτική προϋποθέτει επίσης μια ανάλυση της επίπτωσης και της σοβαρότητας της μητρικής αναιμίας στην κύηση και στη λοχεία, στη νεογνική ανάπτυξη και στην μητρική θνησιμότητα κατά την λοχεία. Επίσης, προϋποθέτει τον προσδιορισμό του κόστους σε σχέση με το όφελος χρήσης της. Στην παρούσα μελέτη αναφερόμαστε στην φυσιολογία της ερυθροποιητίνης και προτείνουμε την χρήση της rHuEPO στην κύηση και την λοχεία σε ειδικές περιπτώσεις, στηριζόμενοι στις μελέτες μας. Γυναίκες με ενδιάμεση μεσογειακή και μικροδρεπανοκυτταρική αναιμία εμφανίζουν ποικίλα προβλήματα στην κύηση. Αρχίσαμε την μελέτη πρώτα για την θεραπεία

της αναιμίας της λοχείας για τον απλό λόγο ότι δεν θα υπήρξε ο παραμικρός κίνδυνος για το έμβρυο. Συνεχίσαμε μετά και χορηγήσαμε την rHuEPO στην κύηση μετά από αδιάσειστες αποδείξεις ότι δεν διαπερνά τον πλακούντα. Γι' αυτό και γίνεται ιδιαίτερη μνεία για τον ρόλο του πλακούντα στην θεραπευτική χρήση της ερυθροποιητίνης.

ΓΕΝΙΚΑ

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ- ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Α.1 Η ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗ ΣΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΜΗΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΜΒΡΥΪΚΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ Ο ΠΛΑΚΟΥΝΤΙΑΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ

Για να δείξουμε την αξία της χρήσης της rHuEPO στην αναιμία της κύησης και της λοχείας θα αναφερθούμε λεπτομερειακά στη φυσιολογία της ερυθροποίησης στην μητέρα και στο έμβρυο, τον ρόλο της ΕΠΟ σαν πρωταρχικό ερέθισμα για την αιμοποίηση, καθώς επίσης και την σχέση της με την υποξαιμία και τον πλακουντιακό φραγμό.

Α.1.1. Αιματολογικές αλλαγές της μητέρας κατά την κύηση.

Χαρακτηριστικές αιματολογικές αλλαγές λαμβάνουν χώρα στη φυσιολογική κύηση. Παράλληλες μειώσεις βρίσκονται στην αιμοσφαιρίνη από τη 6η εβδομάδα. Αν και υπάρχει μια σημαντική συνολική αύξηση στη μάζα των ερυθροκυττάρων, η αύξηση του όγκου του πλάσματος είναι αναλογικά ακόμη μεγαλύτερη προκαλώντας μια πτώση της αιμοσφαιρίνης και του αιματοκρίτη [1]. Αυτή η αραιωτική επίδραση περιγράφεται συχνά λανθασμένα ως "φυσιολογική αναιμία της κύησης". Αν και η εξατομικευμένη ποικιλία είναι σημαντική, η ελάχιστη τιμή της αιμοσφαιρίνης προσεγγίζεται μεταξύ της 20ης και της 30ης εβδομάδαςμετά την οποία σημειώνεται μια ελαφρά αύξηση της μέχρι τον τοκετό [2] . Η μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης (MCHC) , ο μέσος όγκος (MCV) και ο μέσος όρος διάρκειας ζωής των ερυθροκυττάρων παραμένουν σχετικά αμετάβλητα στην κύηση [3].

Η συστηματική μελέτη της μητρικής ΕΠΟ στην κύηση έγινε δυνατή από την ανάπτυξη υψηλής ευαισθησίας ραδιοανοσοπροσδιορισμών για την ΕΠΟ [4]. Υπάρχει γενική συμφωνία, ότι η μητρική ΕΠΟ αυξάνεται

σημαντικά κατά την διάρκεια της φυσιολογικής κύησης, επιβεβαιώνοντας πρώιμες βιομετρήσεις, καθώς και ότι τα επίπεδα της ΕΠΟ κατά το τοκετό είναι δύο με τέσσερις φορές υψηλότερα από ότι στις μη εγκυμονούσες. Δεν υπάρχει απόλυτη συμφωνία για το χρόνο έναρξης της αυξητικής πορείας των επιπέδων της ΕΠΟ: σε μερικές μελέτες την προσδιορίζουν κατά την αρχή της κύησης, και σε άλλες στο δεύτερο τρίμηνο [5-6]. Στους ενήλικες, είναι καλά μελετημένη η αρνητική σχέση μεταξύ ΕΠΟ ορού και αιμοσφαιρίνης-αιματοκρίτη, η οποία όμως δεν παρατηρείται στις εγκύους, σύμφωνα με τις περισσότερες μελέτες. Ο Beguin και συνεργάτες βρήκαν μια αρνητική σχέση μεταξύ αιμοσφαιρίνης και ΕΠΟ μόνο στο τρίτο τρίμηνο, με μια ήπια πτώση στις μη κυοφορούσες γυναίκες, καταδεικνύοντας ότι η ανταπόκριση της ΕΠΟ στην αναιμία επιδρά στην αρχή της κύησης. Πιθανότατα λοιπόν τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης στην κύηση αντανακλούν περισσότερο την αραιωτική επίδραση της διόγκωσης του πλάσματος και λιγότερο την παραγωγή νέων ερυθροκυττάρων, κρύβοντας έτσι τη συσχέτιση μεταξύ αιμοσφαιρίνης και ΕΠΟ [7].

Πρέπει επίσης να υπάρχει μια διαφορά μεταξύ της κύησης και μη-κύησης στους μηχανισμούς που πυροδοτούν την αύξηση στην παραγωγή ΕΠΟ, κυρίως επί αναιμίας, ιστικής υποξία και μειωμένης ιστικής ή νεφρικής αιμάτωσης[8]. Εξαιτίας της σημαντικής αύξησης της μάζας των ερυθροκυττάρων κατά την διάρκεια της κύησης, η αναιμία είναι, στην καλύτερη των περιπτώσεων, μόνο σχετική. Ο υπεραερισμός αρχίζει πρώιμα στην κύηση, και έτσι οι τιμές πίεσης και κορεσμού του οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα είναι υψηλές. Η καρδιακή παροχή αυξάνει στην αρχή της κύησης, οδηγώντας σε μια αύξηση της αιμάτωσης των ιστών και του νεφρού. Επομένως, τα τρία βασικά ερεθίσματα της παραγωγής ΕΠΟ δεν είναι παρόντα στην κύηση. Στους προτεινόμενους εκλυτικούς παράγοντες κατά την κύηση περιλαμβάνονται η ανθρώπινος πλακουντιακή γαλακτογόνος ορμόνη (Lactogen), που αυξάνει παράλληλα με την ΕΠΟ, και άλλες ειδικές ορμόνες της κύησης [5,7]. Οι αιματολογικές αλλαγές που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της

φυσιολογικής κύησης σχετίζονται με μια αρνητική ισορροπία σιδήρου. Η δυσαναλογία μεταξύ των απαιτήσεων σε σίδηρο και της λήψης του, ακόμη και με μια ιδανική δίαιτα, είναι υψηλή, ειδικά στο τέλος της κύησης όπου οι ημερήσιες απαιτήσεις σε σίδηρο είναι 7mg (πίνακας 1). Η δίαιτα παίζει σημαντικό ρόλο. Οι τιμές σιδήρου και φερριτίνης μειώνονται κατά τη διάρκεια της κύησης, λόγω αύξησης του όγκου του πλάσματος και της ολικής δεσμευτικής ικανότητας του σιδήρου. Ο κορεσμός της τρανσφεράσης μειώνεται επομένως κατά την διάρκεια της κύησης. Οι αυξημένες απαιτήσεις ικανοποιούνται μερικώς από την αυξημένη απορρόφηση, όπου φυσιολογικά είναι περίπου 10% του ποσού λαμβάνεται από τις τροφές και από την κινητοποίηση των αποθηκών σιδήρου. Αν αυτές εξαντλήθηκαν μερικώς ή ολικώς στην αρχή της κύησης, όπως μπορεί να συμβεί μετά από συνεχόμενες κυήσεις, παρατεταμένο θηλασμό ή βαριά αιμορραγία κατά την εμμηνορρυσία, τότε η ένδεια του σιδήρου καθίσταται εμφανής [9]. Κατά τον τοκετό η ένδεια σιδήρου είναι: προλανθάνουσα στο 40%, λανθάνουσα στο 20% - 30% και εμφανής στο 20-30% των γυναικών [10].

Η ερυθροποίηση αυξάνεται σημαντικά μετά τον τοκετό. Το ποσό αίματος που χάνεται κατά τον τοκετό και η μείωση του όγκου πλάσματος έχουν ως αποτέλεσμα τιμές αιμοσφαιρίνης και αιματοκρίτη χαρακτηριστικές για τις πρώτες μετά τον τοκετό εβδομάδες. Η έκταση της ερυθροποίησης εξαρτάται άμεσα από τη μέθοδο τοκετού Η Παγκόσμιος Οργάνωση Υγείας έχει προσδιορίσει την «αναιμία της λοχείας», όταν η τιμή της αιμοσφαιρίνης είναι μικρότερη από 10g/dl, έτσι ένα 5%-10% των λεχωίδων ανήκουν σε αυτή την κατηγορία [11]. Κύρια αιτία της αναιμία είναι η απώλεια μεγάλης ποσότητας αίματος κατά τον τοκετό. Αν και συνήθως η απώλεια είναι 350-500 ml, στο 5% των τοκετών έχουμε μια απώλεια αίματος της τάξεως >1000 ml, με αποτέλεσμα την εμφάνιση αναιμίας της λοχείας [12]. Μέχρι πρότινος την βαριά αναιμία την αντιμετωπίζαμε με μετάγγιση αίματος, λόγω όμως των κινδύνων που εγκυμονεί μια τέτοια ενέργεια την μετάδοση δηλαδή ιογενών λοιμώξεων, AIDS, ηπατίτιδες και την πρόκληση αλλοανασίας, σήμερα μεταγγίζουμε

ασθενείς μόνο σε περίπτωση που κινδυνεύει η ζωή τους, όταν έχουμε δηλαδή επηρεασμό της αιμοδυναμικής τους κατάστασης, με εμφάνιση ταχυκαρδίας, ορθοστατικής υπότασης, αλλοιώσεις στο ΗΚΓ, χαμηλή Hb<6) [10,12]. Εναλλακτική λύση στο δύσκολο αυτό πρόβλημα είναι η χρήση της ανασυνδυασμένης ανθρώπινης ερυθροποιητίνης (rHuEPO), η οποία είναι μια γλυκοπρωτεΐνη πού διεγείρει τον σχηματισμό ερυθροκυττάρων από πρόδρομα αρχέγονα κύτταρα. Δρα ως διεγερτικός παράγων της μίτωσης και ως ορμόνη διαφοροποίησης [8].

ΠΙΝΑΚΑΣ 1

Ο ΣΙΔΗΡΟΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΥΗΣΗ

Απαιτήσεις σιδήρου	
Για αυξημένο μητρικό όγκο RBC	*≈400-500mg*
Μήτρα, πλακούντας, έμβρυο	*≈200-300 mg*
Ημερήσια απώλεια σιδήρου (≈1,2mg)	*≈330mg*
Μέσος όρος ημερησίως	*≈4-5mg*
(προχωρημένη κύηση)	*≈6-7mg*
Απορρόφηση σιδήρου.	
(με αυξημένη εντερική απορρόφηση στο δεύτερο ήμισυ της κύησης ≈ 10%) 5mg/1000Kcal μέσος όρος ημερησίως	*≈1-3 mg*

Α.1.2. Εμβρυϊκή ερυθροποίηση

Υπάρχουν πολλές διαφορές μεταξύ της εμβρυϊκής ερυθροποίησης και αυτής των ενηλίκων. Υπάρχει αλλαγή της θέσης παραγωγής των ερυθροκυττάρων στην εμβρυϊκή ζωή. Η χρονολογική αλληλουχία των αιμοσφαιρινών είναι: i. εμβρυονική από τη σύλληψη μέχρι το 2° μήνα, ii.εμβρυϊκή, iii. μετά εμβρυϊκή και iv. ενηλίκου, οι οποίες διαφέρουν μεταξύ τους στο τμήμα της σφαιρίνης, στη μορφολογία των ερυθροκυττάρων, και στο ενδοερυθροκυτταρικό ενζυμικό μεταβολισμό, ο οποίος είναι υπεύθυνος, μεταξύ των άλλων, για τη διαφορετική ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου από τα ερυθροκύτταρα του ενήλικα στο έμβρυο. Το εμβρυϊκό αίμα οξυγονώνεται με διάχυση από το μητρικό αίμα και το διοξείδιο του άνθρακα αποβάλλεται με την αντίστροφη διαδικασία, με αποτέλεσμα σχετική υποξαιμία για το έμβρυο σε σχέση με τον ενήλικα. Χαμηλές πιέσεις οξυγόνου είναι τυπικές για την εμβρυϊκή ζωή, όπως επίσης χαρακτηριστικές είναι αιματολογικές προσαρμογές που ενισχύουν την πρόσληψη και μεταφορά οξυγόνου [6].

Η αιμοποίηση ξεκινά κατά την διάρκεια της οντογένεσης στο λεκιθικό ασκό, όπου αρχέγονοι ερυθροβλάστες γίνονται ορατοί στο τέλος της δεύτερης εβδομάδας κύησης. Με το τέλος του πρώτου τριμήνου, το ήπαρ και ο σπλήνας είναι οι βασικές θέσεις αιμοποίησης. Στις 26 εβδομάδες, η αιμοποίηση αρχίζει με αυξανόμενο ρυθμό να λαμβάνει χώρα στο μυελό των οστών, που καθίσταται το αποκλειστικό σημείο αιμοποίησης στη νεογνική περίοδο. Επίσης είναι χαρακτηριστικές οι αλλαγές στη μορφολογία των ερυθροκυττάρων και στον τύπο της αιμοσφαιρίνης που υπάρχει στην εμβρυϊκή ζωή [13,14].

Επιπρόσθετα, και με διαφορετικό μηχανισμό με τις ποιοτικές αυτές αλλαγές στην ερυθροποίηση, εκσεσημασμένες ποσοτικές αλλαγές λαμβάνουν επίσης χώρα κατά την κύηση [15]. Είναι από καιρό γνωστό από απλά στοιχεία από τον ομφάλιο λώρο κατά τον τοκετό, ότι το νεογνό έχει πολυκυτταραιμία συγκρινόμενο με τη μητέρα του. Το φυσιολογικό εύρος των τιμών νεογνικής αιμοσφαιρίνης κυμαίνεται από 14,2-20,7g/dl

[13]. Με δεδομένες τις σχετικά χαμηλές τιμές πίεσης και κορεσμού του οξυγόνου στο εμβρυϊκό αίμα, είναι λογικό να συμπεράνουμε ότι η υψηλή ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου στο εμβρυϊκό αίμα είναι σχεδιασμένη ώστε να αντιρροπίζεται η σχετική υποξαιμία. Ως αποτέλεσμα, δεν υπάρχει ουσιαστικά καμία διαφορά σε περιεκτικότητα σε οξυγόνο μεταξύ του εμβρυϊκού και μητρικού αίματος [13-16].

Οι τιμές αιμοσφαιρίνης και αερίων αίματος κατά τον τοκετό δεν είναι ενδεικτικές της εγκυμοσύνης, όπως έχει δειχτεί από παρακέντηση του ομφάλιου λώρου. Αντίθετα από την ελάττωση του PO_2 με την πάροδο της κύησης, ο αριθμός των ερυθροκυττάρων και η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης δείχνουν γραμμική αύξηση [14]. Κατά πάσα πιθανότητα, η εμβρυοπλακουντιακή αναλογία βάρους, που αυξάνεται υπερβολικά με την πρόοδο της κύησης οδηγεί σε μειωμένη ανταλλαγή αερίων και σε μια αντισταθμιστική αύξηση στην ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου. Αυτή είναι μια μαρτυρία ότι το φυσιολογικό έμβρυο αντιδρά στην υποξαιμία με αυξημένη ερυθροποίηση. Νεογνά που εκτίθενται χρονίως σε υποξαιμία στην ενδομήτρια ζωή για παράδειγμα, σε σοβαρή μητρική αναιμία, ανεπάρκεια του πλακούντα, παρουσιάζουν εκσεσημασμένη πολυκυτταραιμία μεγαλύτερη του φυσιολογικού εύρους [17]. Η παρατήρηση αυτή αποτέλεσε τη βάση για τη συμφωνία ότι ο πλακούντας έπρεπε να σχηματίσει ένα φραγμό στην ΕΠΟ πριν γίνει δυνατή η χρήση ΕΠΟ για θεραπεία της μητρικής αναιμίας, επειδή αν η ΕΠΟ διέσχιζε τον πλακούντα, θα μπορούσε να επιτείνει την ήδη αυξημένη ερυθροποίηση στην κυκλοφορία του εμβρύου, με αρνητικές επιπτώσεις στη γλοιότητα του αίματος [18,19].

Υπάρχουν ολοένα και περισσότερα στοιχεία που δείχνουν ότι η ΕΠΟ αποτελεί τον ουσιώδη παράγοντα ελέγχου της αιμοποίησης σε όλα τα στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης [12]. Η ΕΡΟ μπορεί να μετρηθεί στο εμβρυϊκό αίμα τη 16η εβδομάδα της κύησης και οι περισσότερες μελέτες δείχνουν μια βαθμιαία αύξησή της ως τη γέννηση, παράλληλη με την αύξηση των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης που ήδη περιγράφτηκε [13]. Το υψηλότερο φυσιολογικό όριο για το μόλις πριν τη γέννηση έμβρυο, είναι

περίπου 50 mU/ml [18]. Σε μη φυσιολογικές εγκυμοσύνες, υπάρχει μια περαιτέρω αύξηση της εμβρυϊκής ΕΠΟ κατά τον τοκετό, σχετιζόμενη με τη διάρκεια και την ένταση των συσπάσεων [19-21]. Σε παθολογικές κυήσεις, που σχετίζονται με ένδεια σε εμβρυϊκό οξυγόνο, όπως είναι η εμβρυϊκή ανωριμότητα, η υπέρταση της μητέρας, η προεκλαμψία, η Rh-ανοσοποίηση και ο σακχαρώδης διαβήτης παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα εμβρυϊκής ΕΠΟ [4,21].

Οι σχέσεις μεταξύ των συγκεντρώσεων μητρικής και εμβρυϊκής ΕΠΟ έχουν διερευνηθεί με ταυτόχρονη λήψη δειγμάτων αίματος από τη μητέρα και το έμβρυο κατά τη γέννηση και με παρακέντηση του ομφάλιου λώρου κατά το δεύτερο και τρίτο τρίμηνο της κύησης [18,20]. Οι μελέτες αυτές δεν απέδωσαν κάποια ιδιαίτερη στατιστική συσχέτιση μεταξύ μητρικών και εμβρυϊκών τιμών. Διαβαθμίσεις υπάρχουν σε αμφότερες τις κατευθύνσεις, με συνήθη ευρήματα τις υψηλότερες τιμές στο έμβρυο σε σχέση με τη μητέρα σε κυήσεις υψηλού κινδύνου. Τα στοιχεία αυτά καταδεικνύουν ότι η ρύθμιση της μητρικής και εμβρυϊκή ΕΠΟ είναι αμοιβαία ανεξάρτητη[21]. Η ΕΠΟ, ως κύριος ρυθμιστής της ερυθροποίησης στην εμβρυϊκή ζωή, ελέγχεται από την κατάσταση οξυγόνωσης. Η μαρτυρία αυτή δεν είναι μόνο περιστασιακή, λόγω της ταυτόχρονης αύξησης ΕΠΟ και ερυθροκυττάρων που παρατηρείται στο αίμα του ομφάλιου λώρου ενός χρονίως υποξαιμικού εμβρύου, αλλά είναι και άμεση, όπως φαίνεται από συμπεράσματα μελετών, τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε in vitro συνθήκες [19]. Η ΕΠΟ είναι απαραίτητη για την διατήρηση ενός στοιχειώδους ρυθμού σχηματισμού ερυθροκυττάρων. Όπως συμβαίνει και στους ενήλικες, η ΕΠΟ δρα μέσω συγκεκριμένων υποδοχέων της κυτταρικής επιφάνειας[22]. Κατά την διάρκεια της οντογένεσης, η θέση παραγωγής της ΕΠΟ μεταβάλλεται. Αρχικά παράγεται στο λεκιθικό ασκό και αργότερα η αρμοδιότητα μεταφέρεται στο εμβρυϊκό ήπαρ, με ένα μικρό μόνο κλάσμα ΕΠΟ να σχηματίζεται στο νεφρό. Τα ηπατοκύτταρα και οι περισωληναριακοί ινοβλάστες του νεφρικού φλοιού έχουν ταυτοποιηθεί ως οι βασικοί παραγωγοί ορμόνης [20-22].

Α.1.3. Ο πλακούντας – πλακουντιακός φραγμός.

Στην ανθρώπινη κύηση, η μητρική και η εμβρυϊκή κυκλοφορία είναι ανατομικά σχεδόν τελείως ξεχωριστές. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, αυτό ισχύει επίσης και για την αιμοποίηση, τόσο αναφορικά όσο στην παραγωγή και στον έλεγχό της. Η μικρή σχέση μεταξύ επιπέδων εμβρυϊκής και μητρικής ΕΠΟ αποτελεί έμμεση ένδειξη ότι τα επίπεδα της ΕΠΟ δεν βρίσκονται σε ισοζύγιο στις δύο πλευρές του ανθρώπινου πλακούντα, και ότι η μεταφορά της ορμόνης προς τη μία ή την άλλη κατεύθυνση είναι απίθανη. Όπως σημειώθηκε προηγουμένως, η αδυναμία μεταφοράς αποτελεί βασική προϋπόθεση της θεραπευτικής χρήσης της rHuEPO. Στον πίνακα 2 παρατίθενται περαιτέρω στοιχεία που ενισχύουν την άποψη της αδυναμίας διαπλακουντιακής μεταφοράς της ορμόνης.

Η στενή στατιστική συσχέτιση που βρέθηκε σε αρκετές μελέτες μεταξύ των επιπέδων ΕΠΟ στο εμβρυϊκό αίμα και στο αμνιακό υγρό παρέχει περαιτέρω ενίσχυση της άποψης ότι ο πλακούντας αποτελεί φραγμό της EPO [12,19,21,22]. Η συσχέτιση δείχνει ότι η ΕΠΟ του αμνιακού υγρού είναι εμβρυϊκής προέλευσης και δεν επηρεάζεται από τα μητρικά επίπεδα της ορμόνης. Ακόμη μεγαλύτερη επιβεβαίωση παρέχεται από το δεδομένο ότι ο όγκος του αμνιακού υγρού οφείλεται κυρίως σε εμβρυϊκά ούρα στο δεύτερο ήμισυ της κύησης, καθώς και από τη σχέση που προαναφέρθηκε, μεταξύ επιπέδων ΕΠΟ των ούρων και του αίματος στον ενήλικα [13]. Το εύρημα των αυξημένων επιπέδων εμβρυϊκής ΕΠΟ επί εμβρυϊκής δυσφορίας παρέχει την κλινική επιβεβαίωση των στοιχείων που αποκτήθηκαν από πειραματόζωα κατά της ύπαρξης ισοδυναμίας της ΕΠΟ εκατέρωθεν του πλακούντα [21-23]. Η ΕΠΟ είναι ένα μεγάλο μόριο, με μοριακό βάρος περίπου 30400 daltons. Μια πρωτεΐνη ομοίου μεγέθους που διακινείται με μηχανισμό ενεργητικής μεταφοράς από τον αιμοχοριακό πλακούντα είναι η IgG. Στους ινδόχοιρους που επίσης έχουν αιμοχοριακό πλακούντα, ο πλακουντιακός ιστός αποτελεί απόλυτο

φραγμό στην παθητική διάχυση πολύ μικρότερου μοριακού βάρους ουσιών, μέχρι των 17000 daltons [18]. Περαιτέρω στοιχεία που συνηγορούν υπέρ της ύπαρξης ενός πλακουντιακού φραγμού είναι η απουσία αλλαγών στα επίπεδα ενός υποστρώματος στο εμβρυϊκό αίμα μετά τη διέλευσή του από τον πλακούντα: Τα επίπεδα ΕΠΟ είναι ακριβώς ίδια στην ομφαλική αρτηρία και φλέβα [20]. Οι τελευταίοι τρεις παράγοντες του πίνακα 2 παρέχουν την πιο άμεση μαρτυρία για τη μη διαπλακουντιακή μεταφορά της ΕΠΟ, παρά τον αναπόφευκτο κίνδυνο εξαγωγής συμπερασμάτων για τον άνθρωπο, από μελέτες σε πειραματόζωα, και επέκταση ευρημάτων από in vitro σε in vivo συνθήκες. Η διαθεσιμότητα της rHuEPO και η ραδιοσήμανση επέτρεψε συστηματικές μελέτες σε ζώα. Η διέλευση διαμέσου του πλακούντα σε μερικές περιπτώσεις σε αμφότερες τις κατευθύνσεις έχει μελετηθεί στο πρόβατο, στον πίθηκο rhesus και στον ποντικό [23-27]. Αν εξαιρέσουμε τον τελευταίο, όπου 7% ως 10% της μητρικής ΕΠΟ επανακτήθηκε από το έμβρυο, δεν υπάρχει καμιά ένδειξη ότι υπάρχει μετακίνηση της ΕΠΟ διαμέσου του πλακουντιακού φραγμού προς τη μία ή την άλλη κατεύθυνση. Τα στοιχεία από τον ποντικό είναι εντυπωσιακά παρά το γεγονός ότι έρχονται σε σύγκρουση με τα αποτελέσματα βιολογικών δοκιμασιών από τη δεκαετία του 1970 [26]. Η εξήγηση μπορεί να βρίσκεται σε διαφορές μεταξύ των ειδών και της συγκέντρωσης υποδοχέων της ΕΠΟ στον πλακούντα. Έχουν βρεθεί τέτοιοι υποδοχείς στον ποντικό, αλλά όχι στους πλακούντες από την 11η ως 19η εβδομάδα της κύησης [27]. Τελειώνοντας, η αποτυχία κατάδειξης οποιασδήποτε αύξησης στα επίπεδα ΕΠΟ στην εμβρυϊκή πλευρά του ανθρώπινου πλακούντα μετά από εμβάπτιση της μητρικής πλευράς για αρκετές ώρες με μέσο με ΕΠΟ, παρέχει in vitro απόδειξη ότι δεν υπάρχει διαπλακουντιακή μεταφορά της ΕΡΟ στον άνθρωπο [19-25]. Ο Widness και συνεργάτες, συμπέραναν στην ανασκόπησή τους για το θέμα αυτό, με προσεκτική διατύπωση, ότι, σύμφωνα με τις διαθέσιμες πειραματικές μαρτυρίες, η ΕΠΟ δεν μετακινείται διαπλακουντιακά σε ανιχνεύσιμες

ποσότητες [4]. Η θεραπευτική χρήση της rHuEPO στην μητέρα είναι επομένως απίθανο να έχει αιματολογική επίδραση για το έμβρυο [19-27].

ΠΙΝΑΚΑΣ 2

ΕΜΜΕΣΕΣ ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ Η ΜΑΡΤΥΡΙΕΣ ΟΤΙ Ο ΠΛΑΚΟΥΝΤΑΣ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΦΡΑΓΜΟ ΣΤΗΝ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗ (ΕΠΟ)

1. Καμιά στατιστική συσχέτιση μεταξύ επιπέδων ΕΠΟ στη μητέρα και το έμβρυο
2. Στενή στατιστική συσχέτιση μεταξύ επιπέδων εμβρυϊκής ΕΠΟ και αμνιακού υγρού
3. Επί εμβρυϊκών προβλημάτων η ΕΠΟ αυξάνεται μόνο στο έμβρυο
4. Υψηλό μοριακό βάρος της ΕΠΟ
5. Σχεδόν ίδια επίπεδα ΕΠΟ στην ομαλή αρτηρία και φλέβα
6. Με μια εξαίρεση, καμιά μεταφορά δεν παρατηρείται σε πειραματόζωα (ραδιοσημασμένη ΕΠΟ)
7. Καμιά μεταφορά δεν παρατηρείται στον in vitro εμποτισμένο ανθρώπινο πλακούντα (ραδιοσημασμένη ΕΠΟ)
8. Απουσία υποδοχέων ΕΠΟ στους ανθρώπινους πλακούντες

Α.2. ΑΝΑΙΜΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ

Η αναιμία είναι συχνή επιπλοκή της κύησης με σοβαρές και κάποτε μοιραίες επιπτώσεις στην μητέρα και το έμβρυο. Ακόμα και σήμερα αποτελεί παγκόσμιο πρόβλημα συνδεδεμένο με το χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, την κακή διατροφή και την έλλειψη περιγεννητικής φροντίδας στην έγκυο. Κατά τη διάρκεια της κύησης εμφανίζονται αιματολογικές διαταραχές, οι οποίες, αν δεν προέρχονται από φυσιολογικές αλλαγές των αιματολογικών παραμέτρων, οφείλονται σε παρουσία αναιμίας [28]. Φυσιολογικά στην κύηση αυξάνεται ο όγκος του πλάσματος από 25% μέχρι 80% προκειμένου να καλυφθεί η πρόσθετη αγγείωση πλακούντα και μαζικού αδένα. Η αύξηση αρχίζει την 6η εβδομάδα, συνεχίζεται ραγδαίως μέχρι την 24η εβδομάδα και πιο ήπια μέχρι το τέλος της κύησης, και είναι μεγαλύτερη στις πολύτοκες. Έτσι, ο αριθμός των ερυθρών, οι τιμές αιμοσφαιρίνης και αιματοκρίτη ελαττώνονται κυρίως κατά τη διάρκεια της 12-20ης εβδομάδα και φθάνουν στο ελάχιστο στην 34η εβδομάδα, ενώ επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα 3-6 εβδομάδες μετά τον τοκετό [1,29]. Πέρα όμως από τις παρακάτω φυσιολογικές αιματολογικές μεταβολές, σε ένα σημαντικό ποσοστό εγκύων μπορεί η αναιμία να οφείλεται στην αναποτελεσματική ερυθροποίηση στη διατροφή και σε κοινωνικοοικονομικούς λόγους [30].

Η αναιμία της κύησης μπορεί να μην προκαλέσει προβλήματα στην έγκυο, όταν είναι ήπια, ενώ συνοδεύεται από σημαντικές συνέπειες για τη μητέρα και το έμβρυο όταν η αιμοσφαιρίνη πέσει κάτω από 8gr/dl, οπότε εμφανίζονται πρόωροι τοκετοί, αυξημένη θνησιμότητα και χαμηλό βάρος στα έμβρυα, σε αντίθεση με την περίπτωση όπου τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης είναι πάνω από 8gr/dl, οπότε ο φόβος για αυξημένη θνησιμότητα του εμβρύου εξαφανίζεται. Στην περίπτωση που η τιμή της αιμοσφαιρίνης είναι μικρότερη από 6gr/dl, συχνά επέρχεται καρδιακή

ανεπάρκεια στη μητέρα με συνέπειες για την ίδια και το έμβρυο [31,32]. Τα αίτια της αναιμίας στην κύηση είναι πολλά (πίνακας 3), με σημαντικότερα την έλλειψη σιδήρου και φυλλικού. Κατά τη διάρκεια της κύησης, η αύξηση του όγκου του πλάσματος έχει σχέση με το μέγεθος του εμβρύου, με ορμονικές διαταραχές και αρτηριοφλεβικές επικοινωνίες [33-35].

Ο πιθανός μηχανισμός που προκαλεί την αύξηση βασίζεται στην αύξηση της πλακουντιακής γαλακτογόνου ορμόνης (Laktogen), που προκαλεί αύξηση της τεστοστερόνης και των στερινοειδών και μη ορμονών. Ταυτόχρονα, και σαν απάντηση στον αυξημένο όγκο πλάσματος ,αυξάνονται τα επίπεδα της ερυθροποιητίνης και κατά συνέπεια η ολική μάζα των ερυθρών, η διακίνηση του σιδήρου και ο αριθμός των ΔΕΚ [36].
Η αναιμία της κύησης οφείλεται στο γεγονός ότι , ενώ αυξάνονται και η μάζα των ερυθρών και αυτή του πλάσματος, οι δύο αυξήσεις δεν είναι ανάλογες κι έτσι εμφανίζεται ψευδής αναιμία λόγω αραίωσης [37].

Α.2. ΑΙΤΙΑ ΑΝΑΙΜΙΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ

Α.2.1. Αίτια Διατροφής

Α.2.1.1. Σιδηροπενική Αναιμία

Αποτελεί τη συχνότερη αναιμία στην κύηση. Ο σίδηρος, ένα από τα πιο απαραίτητα στοιχεία του οργανισμού, αφού χρησιμοποιείται για τη σύνθεση της αιμοσφαίρίνης και άλλων ενζύμων, βρίσκεται στον οργανισμό ενός ενήλικα σε ολικό ποσό 3-4gr. Το μεγαλύτερο από το ποσοστό του, το 70-80% χρησιμοποιείται για το σχηματισμό της αιμοσφαιρίνης, άλλο ποσοστό κυκλοφορεί στα ερυθρά και κατά την αποδόμησή τους στα κύτταρα του ΔΕΣ απελευθερώνεται και χρησιμοποιείται για το σχηματισμό νέων ερυθρών [34].

Όσον αφορά στη διακίνηση του σιδήρου, αυτή γίνεται με τρεις πρωτεΐνες: την τρανσφερίνη, η οποία είναι απαραίτητη για τη μεταφορά του σιδήρου στον ορρό, τους υποδοχείς τρανσφερίνης, με τους οποίους ο συνδεδεμένος με τρανσφερίνη σίδηρος εισέρχεται στα λυσοσωμάτων κυττάρων και είτε χρησιμοποιείται για σχηματισμό αιμοσφαιρίνης και ενζύμων είτε ενώνεται με την τρίτη πρωτεΐνη, την φερριτίνη, που αντιπροσωπεύει την αποθηκευμένη ποσότητα σιδήρου, κυρίως στο ήπαρ και στο ΔΕΣ [35].

Από το σώμα αποβάλλεται φυσιολογικά 1mg σιδήρου καθημερινά. Σε αιμορραγίες, η ποσότητα του αποβαλλόμενου σιδήρου αυξάνει σημαντικά, αφού σε κάθε 1ml αίματος υπάρχουν 0,5mg σιδήρου. Οι γυναίκες κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως χάνουν 50-300ml αίματος, γι' αυτό και σε ένα ποσοστό 25-40% των γυναικών πριν την εμμηνόπαυση ανευρίσκεται σιδηροπενική αναιμία [38]. Στην περίοδο της σύλληψης τα επίπεδα σιδήρου της γυναίκας είναι οριακά. Κατά τη διάρκεια της κύησης οι απαιτήσεις σε σίδηρο είναι 4mg/ημερησίως

αρχικά και 6,6-8,4mg/ημερησίως προς το τέλος της κύησης. Συνολικά για κάθε κύηση απαιτείται περίπου 1gr σιδήρου που αντιστοιχεί σε 4-5 μονάδες αίματος, από το οποίο απαιτούν: 400-600mg η αύξηση της μάζας των ερυθρών, 75mg/Kg Σ.Β. το έμβρυο, 75 mg ο πλακούντας και ο ομφάλιος λώρος, 200mg ο τοκετός, λόγω της αιμορραγίας που συμβαίνει κατά τη διάρκειά του [39,40].

Παράλληλα με την αύξηση των απαιτήσεων σε σίδηρο, αυξάνεται και η απορρόφησή του, αλλά εξαρτάται από τις αποθήκες και τη χορήγηση σιδήρου και από την δυνατότητα ερυθροποίησης. Κατά τη διάρκεια του τοκετού παρατηρούνται ελαττωμένα επίπεδα φερριτίνης και σιδήρου ενώ αυξάνει η τιμή της ολικής δεσμευτικής ικανότητας του σιδήρου[41]. Παρατηρούμε λοιπόν ότι οι απαιτήσεις μιας εγκύου σε σίδηρο είναι αρκετά μεγάλες και δύσκολο να καλυφθούν με τον σίδηρο των αποθηκών ή των τροφών μόνο [42].

Διάγνωση της σιδηροπενικής αναιμίας γίνεται με εξέταση του περιφερικού αίματος (υποχρωμία, μικροκυττάρωση), με χρώση για σίδηρο στο μυελό των οστών, μέτρηση της φερριτίνης του ορού, που αποτελεί και την πιο αξιόλογη μέθοδο [43,44]. Η εμφάνιση σιδηροπενικής αναιμίας μπορεί να προληφθεί με καλή διατροφή κατά τη διάρκεια της κύησης και με χορήγηση σιδήρου επί εμφανίσεως σιδηροπενίας. Η θεραπεία της αναιμίας γίνεται με χορήγηση σιδήρου από το στόμα με 100-200mg θειικού σιδήρου ημερησίως σε άδειο στομάχι, ενώ σε δυσανεξία προτιμάται η χορήγηση σιδήρου σε μεγαλύτερη δόση στο ενδιάμεσο των γευμάτων ή μετά το γεύμα. Εξάλλου πολλές φορές προτιμάται η χορήγηση σιδήρου σε σταγόνες. Σε σύνδρομο δυσαπορρόφησης, σε αιμορραγία και σε μεγάλη δυσανεξία προτιμάται η παρεντερική, και μάλιστα ενδοφλέβια, χορήγηση 250mg σιδήρου για κάθε 1gr Hb που υπολείπεται [45]. Τέλος, σε πολύ βαριά αναιμία, όταν εμφανιστούν αλλοιώσεις παλμών εμβρύου, ορθοστατικά φαινόμενα, υποξαιμία ή και ισχαιμία μυοκαρδίου, επιλέγεται σαν θεραπεία η μετάγγιση, δεδομένου ότι σε κάθε φιάλη αίματος περιέχονται 200mg σιδήρου [46].

Α.2.1.2. Μεγαλοβλαστική Αναιμία

Το είδος αυτό της αναιμίας στην κύηση είναι πολύ σπανιότερο από τη σιδηροπενική αναιμία γιατί έχει βρεθεί πως μόνο 3% από τις γυναίκες με αναιμία στην κύηση παρουσιάζουν μεγαλοβλαστική αναιμία. Από αυτές η συντριπτική πλειονότητα των περιπτώσεων οφείλεται στην έλλειψη του φυλλικού οξέος και μόνο σε μια από τις 8500 ασθενείς έγκυες η νόσος οφείλεται στην ανεπάρκεια της βιταμίνης B_{12}. Η σπανιότητα της νόσου αποδίδεται στο ότι το φυλλικό οξύ υπάρχει άφθονο στα φρούτα, τα λαχανικά, τα κρέατα, το συκώτι, ενώ αντίθετα φτωχά σε φυλλικό οξύ είναι το γάλα, το ρύζι και τα δημητριακά. Η βιταμίνη B_{12} βρίσκεται άφθονη στα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα κρέατα και τα ψάρια. Έτσι το κανονικό διαιτολόγιο της εγκύου καλύπτει τις ανάγκες σε φυλλικό οξύ και βιταμίνη B_{12}. Ο κυριότερος λόγος ανεπαρκούς πρόσληψης οφείλεται στην κακή παρασκευή της διατροφής γιατί παρατεταμένος βρασμός των τροφών καταστρέφει το φυλλικό οξύ και τη βιταμίνη B_{12}. Η καταστροφή αυτή μπορεί να φθάσει μέχρι και 95°/ο της υπάρχουσας ποσότητας του φυλλικού οξέος και των ενώσεών του που είναι υδατοδιαλυτές. Για το λόγο αυτό συνιστώνται κυρίως ωμά τα λαχανικά και τα φρούτα. Τα αποθέματα του φυλλικού οξέος στον οργανισμό είναι μικρά και οι ημερήσιες ανάγκες μεγάλες, ενώ τα αποθέματα της βιταμίνης B_{12} είναι μεγάλα και οι ανάγκες μικρές. Έτσι έλλειψη της βιταμίνης B_{12} στην έγκυο μπορεί να προκληθεί μόνο από έλλειψη του ενδογενούς παράγοντα και να έχουμε μια κανονική μεγαλοβλαστική αναιμία (Biermer) [45-47].

Το φυλλικό οξύ είναι απαραίτητο για το σχηματισμό DNA, RNA και πρωτεϊνών καθώς επίσης για τον κυτταρικό μεταβολισμό. Φυσιολογικά οι απαιτήσεις του οργανισμού σε φυλλικό είναι 80-150 mg ημερησίως και οι αποθήκες καλύπτουν ανάγκες το πολύ για 6 εβδομάδες, ενώ η έλλειψη φυλλικού για 15-18 εβδομάδες προκαλεί μεγαλοβλαστική αναιμία. Κατά τη διάρκεια της κύησης οι απαιτήσεις σε φυλλικό αυξάνονται σε 180-300mg ημερησίως, αφού αφενός μεν περνά μέσω του πλακούντα και

καλύπτει και τις ανάγκες του εμβρύου, αφετέρου δε και η απορρόφησή του είναι ελαττωμένη. Από την 16η εβδομάδα το φυλλικό οξύ ελαττώνεται στον ορό και τα ερυθρά, γιατί υπάρχει αυξημένη απώλεια από τα ούρα, ενώ ταυτόχρονα συσσωρεύεται στον πλακούντα [45]. Οι ανάγκες σε φυλλικό οξύ αυξάνουν όταν με την κύηση συνυπάρχουν : χρόνια αιμόλυση, ανεπαρκείς ερυθροποίηση, οξεία λοίμωξη, σύνδρομο δυσαπορρόφησης, λήψη φαρμάκων-ανταγωνιστών του φυλλικού και όταν η κύηση είναι δίδυμη [47]. Έτσι, ενώ η συχνότητα έλλειψης φυλλικού σε κύηση είναι 0,2-30%, στη δίδυμη κύηση φτάνει το 10-14%. Εξάλλου πιο συχνά εμφανίζεται έλλειψη φυλλικού σε πολύτοκες, γιατί οι συχνές κυήσεις δεν επιτρέπουν την αναπλήρωση των αποθηκών σε φυλλικό. Αν και τις περισσότερες φορές υπάρχει έλλειψη μόνο του φυλλικού οξέος, συχνά συνυπάρχει και σιδηροπενία [48,49]. Η έλλειψη φυλλικού μπορεί να προκαλέσει πρόωρους τοκετούς και λιποβαρή έμβρυα. Έλλειψη φυλλικού συναντάται και μετά τον τοκετό σε θηλάζουσες μητέρες [50]. Η διάγνωση της μεγαλοβλαστικής αναιμίας τίθεται από τα χαρακτηριστικά ευρήματα στο αίμα και στον μυελό των οστών, ενώ στη διάγνωση βοηθούν η μέτρηση του φυλλικού στο αίμα και τα ούρα, καθώς επίσης η χορήγηση φυλλικού και η βελτίωση μετά τη λήψη του. Υπάρχει μια πολύ μικρή ελάττωση της βιταμίνης B_{12} κατά την διάρκεια της κύησης που πολύ σπάνια προκαλεί αναιμία [51].

Η θεραπεία της μεγαλοβλαστικής από έλλειψη φυλλικού οξέος γίνεται με χορήγηση 100-300 μg ημερησίως κατά τη διάρκεια της κύησης και του θηλασμού, ενώ σε μεγαλύτερη έλλειψη χορηγείται 1mg φυλλικού ημερησίως [52]. Μεγάλη προσοχή απαιτείται στη χορήγηση φυλλικού οξέος σε μεγαλοβλαστική αναιμία, όταν αυτή οφείλεται στην έλλειψη B_{12}, διότι μπορεί να βελτιωθεί η αναιμία, επιβαρύνεται όμως η νευρολογική εικόνα που οφείλεται στην έλλειψη B_{12} και δεν είναι αναστρέψιμη [53].

Α.2.2. Αναιμία από καταστολή του μυελού των οστών

Α.2.2.1. Απλαστική Αναιμία

Εμφανίζεται σπάνια στην κύηση και είναι άγνωστης αιτιολογίας, αν και συχνά αποδίδεται σε ορμονικές διαταραχές. Αν εμφανιστεί στην αρχή της κύησης, προτιμάται η διακοπή της. Αν όμως εμφανιστεί σε προχωρημένη κύηση αντιμετωπίζεται με υποστηρικτική θεραπεία δηλαδή μεταγγίσεις και αυξητικούς παράγοντες και με χορήγηση αντιλεμφοκυτταρικής σφαιρίνης μέχρι το τέλος της κύησης. Η θεραπεία εκλογής για την οξεία απλαστική αναιμία, είναι η μεταμόσχευση μυελού των οστών, απαιτεί τη λήψη κυτταροστατικών φαρμάκων, τα οποία είναι εμβρυοτοξικά, γι' αυτό και γίνεται μετά τον τοκετό [54].

Α.2.3. Αιμολυτική αναιμία

Α.2.3.1. Επίκτητη αιμολυτική αναιμία συνοδευόμενη από προεκλαμψία εκλαμψία (σύνδρομο HELLP)

Στην προεκλαμψία- εκλαμψία εμφανίζεται αγγειοσυστολή, βλάβη του αγγειακού ενδοθηλίου και αυξημένη προσκολλητικότητα των αιμοπεταλίων. Έτσι προκαλείται θρομβοπενία, λόγω προσκόλλησης των αιμοπεταλίων και μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία, λόγω καταστροφής των ερυθρών κατά τη διέλευσή τους από τα μικρά αγγεία που έχουν υποστεί βλάβη του ενδοθηλίου και εναπόθεση ινικής [55].
Σε ασθενείς με οξεία προεκλαμψία εκδηλώνεται σε ποσοστό 10% το σύνδρομο HELLP που εμφανίζει αιμόλυση, αυξημένα ηπατικά ένζυμα και μειωμένο αριθμό αιμοπεταλίων. Η μητρική θνησιμότητα του συνδρόμου αυτού ανέρχεται στο 3.5%, ενώ η εμβρυϊκή στο 3.2%. Τα νεογέννητα συχνά εμφανίζουν θρομβοπενία και λευκοπενία, ενώ τα κύρια κλινικά ευρήματα του παραπάνω συνδρόμου είναι κακουχία, εμετοί, επιγαστρικό άλγος, ευαισθησία δεξιού υποχονδρίου, οίδημα και, όχι σε όλες τις περιπτώσεις, υπέρταση. Μοναδική θεραπεία του συνδρόμου HELLP είναι η έξοδος του εμβρύου, ενώ σε μη τελειόμηνη κύηση, σύμφωνα με μερικούς, πρέπει να περατωθεί η κύηση, όταν δεν υπάρχουν συμπτώματα ενδαγγειακής πήξης. Εξάλλου, σε κάποιες περιπτώσεις βοηθά η πλασμαφαίρεση, η χορήγηση κορτικοστεροειδών και αντιθρομβίνης III [56].

Α.2.4. Συγγενείς αιμολυτικές αναιμίες

Όλες οι γυναίκες στην αρχή της κύησης πρέπει να ελέγχονται για πιθανή διαταραχή της αιμοσφαιρίνης, και να γίνεται σχετική ενημέρωση. Εάν ο ένας από τους δυο δεν έχε πρόβλημα, τότε τα παιδία που θα γεννηθούν πιθανόν να είναι φορείς της νόσου η εντελώς υγειά. Κάθε γυναίκα φορέας η πάσχουσα μπορεί να τεκνοποιήσει με όλους τους πιθανούς κινδύνους που θα αναφέρουμε. Αν και οι δύο γονείς είναι φορείς, τότε πρέπει να γίνεται προγεννητικός έλεγχος και αν το παιδί είναι ομοζυγώτης, η διπλός ετεροζυγώτης, να προτείνεται διακοπή της κύησης. Η αιμοσφαιρίνη είναι μια πρωτεΐνη που αποτελείται από τις σφαιρίνες, δηλαδή δυο διαφορετικά ζεύγη πολυπεπτιδικών αλυσίδων, και από την αίμη, έναν δακτύλιο πρωτοπορφυρίνης που περιέχει σίδηρο και ενώνεται με κάθε μια αλυσίδα. Σύμφωνα με τη σύσταση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων (α,β,γ,δ), η αιμοσφαιρίνη χαρακτηρίζεται σαν HbA, όταν έχει 2α και 2β αλυσίδες, σαν HbA2, όταν έχει 2α και 2δ αλυσίδες και σαν HbF, όταν έχει 2α και 2γ αλυσίδες. Στον ενήλικα υπάρχει κυρίως η HbA σε ποσοστό άνω του 95%, ενώ στο έμβρυο και το νεογέννητο η εμβρυϊκή HbF σε ποσοστό 60-80%. Από τους πρώτους μήνες της ζωής παύει η παραγωγή γ αλυσίδων και αρχίζει αυτή των β με αποτέλεσμα η HbF να μεταβάλλεται προς HbA. Οι διαταραχές της αιμοσφαιρίνης διακρίνονται σε ποιοτικές, όπως η δρεπανοκυτταρική αναιμία, όπου υπάρχει αντικατάσταση ενός αμινοξέος από άλλο και σε ποσοτικές, όταν λείπουν οι α ή β αλυσίδες, οπότε έχουμε αντίστοιχα την α και β-θαλασσαιμία. Συνδυασμός των δυο παραπάνω, όπως συμβαίνει σε φορείς και της μεσογειακής και της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας, οι οποίοι πάσχουν από τη λεγόμενη μικροδρεπανοκυτταρική αναιμία [57].

Α.2.4.1. Δρεπανοκυτταρική αναιμία

Πρόκειται για τη συχνότερη διαταραχή της αιμοσφαιρίνης, η οποία οφείλεται στην αντικατάσταση, στην β-αλυσίδα ενός αμινοξέος, του γλουταμινικού, από ένα άλλο, τη βαλίνη. Έτσι σχηματίζεται η παθολογική HbS, που το ποσοστό της στους ομοζυγώτες είναι πάνω από 60%, ενώ στους φορείς είναι κάτω από 30%, και η οποία σε καταστάσεις αναιμίας, στρες, αφυδατώσεως, λοίμωξης γίνεται από διαλυτή στερεή (ινώδης), με αποτέλεσμα να προκαλείται δρεπανοκυτταρική κρίση με σχηματισμό των δρεπανοκυττάρων, τα οποία είναι δύσκαμπτα και προκαλούν αποφράξεις των μικρών αγγείων, πόνο και έμφρακτα που δύναται να συμβούν σε κάθε ιστό και όργανο του σώματος. Σήμερα υπάρχει η άποψη ότι η δρεπανοκυτταρική κρίση οφείλεται και σε διαταραχές της μεμβράνης των ερυθρών, σε διαταραχές της ροής, σε βλάβη του ενδοθηλίου και εξαρτάται από το ποσό της αιμοσφαιρίνης του ερυθρού [58].

Τα κλινικά ευρήματα της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας, που οφείλονται στην αλλοίωση των ερυθρών, είναι χρόνια αιμολυτική αναιμία, απόφραξη αγγείων, ισχαιμικές βλάβες και καταστροφή οργάνων. Τα συμπτώματα της δρεπανοκυτταρικής νόσου είναι οστικός πόνος, αρθραλγία, οστεομυελίτιδα, συμφορητική καρδιοπάθεια, νεφρική ισχαιμία, ισοσθενουρία, έμφρακτα του σπλήνα και ατροφία αυτού, έλκη έσω σφυρών, πνευμονικά έμφρακτα, πνευμονίτιδα, βλάβες από το ΚΝΣ, χρόνια καταστροφή των ερυθρών, υπερχολερυθρυναιμία, χολολιθίαση, χολοκυστίτιδα, νέκρωση και απλασία του μυελού των οστών, οξεία απλασία μετά από λοίμωξη του ασθενούς με ιούς [59]. Οι επιπλοκές της αναιμίας επιτείνονται κατά τη διάρκεια της κύησης, λόγω της υπάρχουσας υδραναιμίας, οπότε εμφανίζονται νέκρωση οστών, έμβολα στο μυελό, επιπλοκές από τον πνεύμονα, συχνές λοιμώξεις, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, τοξιναιμία της κύησης και αποκόλληση του πλακούντα [60,61]. Η εμφάνιση υπέρτασης κατά τη

διάρκεια της κύησης προκαλεί φόβο για εμφάνιση τοξιναιμίας της κύησης, ενώ προειδοποιητικά συμπτώματα γι' αυτή είναι η κεφαλαλγία, το άλγος στο δεξιό υποχόνδριο, τα σκοτώματα, οι κράμπες και η αυξημένη έκκριση βλέννης από τον κόλπο [62,63].

Στις πάσχουσες από δρεπανοκυτταρική αναιμία έγκυες οι αποβολές φτάνουν το 25%, ενώ η νεογνική θνησιμότητα το 80%. Τα προβλήματα των εγκύων με δρεπανοκυτταρική αναιμία μπορούν να μειωθούν με καλύτερη φροντίδα τους. Για τη δρεπανοκυτταρική αναιμία δεν υπάρχει ειδική θεραπεία. Όμως σημαντικό ρόλο παίζουν η συστηματική παρακολούθηση και η συμπτωματική αντιμετώπιση. Μια έγκυος με δρεπανοκυτταρική αναιμία δεν πρέπει να μεταγγίζεται παρά μόνο αν υπάρχουν αλλοιώσεις παλμών του εμβρύου, η Hb μειωθεί αρκετά (<7g%), τα ΔΕΚ αυξηθούν (>12%). Αν τα νεογέννητα πάσχουν από δρεπανοκυτταρική αναιμία πρέπει να τους χορηγείται πενικιλίνη για αποφυγή λοιμώξεων και κυρίως για προφύλαξη από πνευμονία. Εξάλλου η πάσχουσα από δρεπανοκυτταρική αναιμία έγκυος, πρέπει να λαμβάνει φυλλικό οξύ και, αν υπάρχει έλλειψη, σίδηρο και B12. Κατά τη διάρκεια του τοκετού πρέπει να αντιμετωπίζεται σαν πάσχουσα από συμφορική καρδιοπάθεια με καλή ενυδάτωση, χορήγηση οξυγόνου, επισκληρίδια αναισθησία, επιτάχυνση του τοκετού, και επιτέλεση καισαρικής τομής σε περίπτωση εμφάνισης δυσκολιών, ενώ πριν τον τοκετό καλό είναι να γίνει αφαιμαξομετάγγιση, έτσι ώστε να μειωθεί το ποσό της HbS [64].

Σήμερα γίνεται προσπάθεια για αύξηση του ποσού της HbF, διότι βρέθηκε ότι σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία και σε διπλούς ετεροζυγώτες με HbS/β-Thal η κλινική εικόνα που εμφανίζεται είναι ηπιότερη όταν αυξάνει το ποσό της HbF. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χορήγηση κυτταροστατικών φάρμακων, η οποία αντενδείκνυται στην πίεση, και με χορήγηση ερυθροποιητίνης η οποία αυξάνει την αιμοσφαιρίνη, αποτρέπει τις μεταγγίσεις και μειώνει τον αριθμό των κρίσεων στις έγκυες [65].

Α.2.4.2. Μεσογειακή αναιμία

Συχνά σήμερα αντιμετωπίζουμε τη νόσο στις έγκυες που παρακολουθούμε, είτε σαν φορείς, είτε πιο σπάνια σαν ομόζυγη η διπλή ετερόζυγη μορφή. Η μετανάστευση και η ευκολία μετακίνησης των πληθυσμών συντέλεσε ώστε το τοπικό παλαιότερα πρόβλημα της μεσογειακής αναιμίας να γίνει σήμερα πρόβλημα παγκόσμιο. Η μεσογειακή αναιμία είναι μια γενετική βλάβη, οφειλόμενη σε διαταραχή του m-RNA, που χαρακτηρίζεται από μειωμένη σύνθεση μιας ή περισσοτέρων πολυπεπτιδικών αλύσεων της αιμοσφαιρίνης Η β-ΜΑ έχει τρεις κλινικές μορφές: Η μείζων μεσογειακή αναιμία (ομόζυγος) που εμφανίζει βαριά εικόνα και απαιτεί μετάγγιση και αποσιδήρωση από τα πρώτα χρόνια της ζωής. Η ενδιάμεση μορφή (ομόζυγος), κατά την οποία δεν παράγονται κανονικά οι β-αλυσίδες με αποτέλεσμα να είναι μειωμένο το ποσό της HbA, ενώ η κλινική εικόνα είναι ηπιότερη και δεν χρειάζονται μεταγγίσεις, αφού συνήθως διατηρούνται Hb>7g και τέλος οι φορείς, ετερόζυγοι, που δεν εμφανίζουν κλινικά ευρήματα, είναι δηλαδή ασυμπτωματικοί [66].

Διακρίνουμε την α και β-μεσογειακή αναιμία, ανάλογα με την έλλειψη των και α και β σφαιρινικών αλυσίδων αντίστοιχα. Συχνότερη στη χώρα μας και στις άλλες μεσογειακές χώρες είναι η β μεσογειακή. Σε αυτή, λόγω μειωμένης παραγωγής β-αλυσίδων, παρατηρείται ελαττωμένη σύνθεση HbA ενώ αυξάνει η HbA2 και, κυρίως, η HbF. Αν η παραγωγή των β-αλυσίδων είναι ανύπαρκτη (β^0), η κλινική εικόνα που εμφανίζεται είναι βαριά, ενώ ηπιότερη εικόνα έχουμε αν παράγεται ένα ποσό β-αλυσίδων (β^+). Στη μείζονα μορφή της θαλασσαιμίας παρατηρείται υπόχρωμη μικροκυτταρική αναιμία, χρόνια αιμόλυση και ανεπαρκής ερυθροποίηση η οποία προκαλεί υπερπλασία του μυελού των οστών, με αποτέλεσμα παραμόρφωση των οστών και την εμφάνιση μογγολοειδούς προσωπείου και εξωμυελική αιμοποίηση με ηπατοσπληνομεγαλία [67]. Εξάλλου παρατηρείται αυξημένη απορρόφηση σιδήρου, η οποία, δεδομένου ότι

απελευθερώνονται ποσότητες σιδήρου από τα κατεστραμμένα ερυθρά και λαμβάνονται άλλα ποσά από τις μεταγγίσεις, προκαλεί δευτεροπαθή αιμοχρωμάτωση και μη αναστρέψιμες βλάβες σε βασικά όργανα. Συχνά εμφανίζονται λοιμώξεις, χολολιθίαση, χολοκυστίτιδα, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια. Πρέπει να σημειωθεί ότι σπάνια οι γυναίκες με μείζονα μεσογειακή αναιμία έχουν έμμηνο ρύση και πιο σπάνια μένουν έγκυες. Στην ενδιάμεση μορφή μεσογειακής αναιμίας, όπως συμβαίνει και σε ασθενείς με μικροδρεπανοκυτταρική αναιμία, η κλινική εικόνα είναι καλύτερη και οι γυναίκες μπορούν πιο εύκολα να συλλάβουν. Έγκυες με μια από τις δυο προηγούμενες μορφές μεσογειακής αναιμίας συνήθως έχουν βαριά αναιμία και εμφανίζουν συμπτώματα καρδιακής συμφόρησης [68]. Η β-Μ.Α. χαρακτηρίζεται από ελάττωση (β^+) ή απουσία (β^o)σύνθεσης της β σφαιρίνης. Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί περισσότερες από 100 διαφορετικές μεταλλάξεις, που παρουσιάζουν ποικίλο φαινοτυπικό αποτέλεσμα. Η ετερόζυγος β-μεσογειακή αναιμία είναι συνήθως ασυμπτωματική. Η διάγνωση γίνεται με εργαστηριακό έλεγχο αίματος όπου εκτός των άλλων έχουμε αύξηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) και της HbA2, μικροκυττάρωση και υποχρωμία. Η κλινική εικόνα της ετερόζυγης β-Μ.Α. κυμαίνεται από την σιωπηρή μορφή μέχρι την τυπική μορφή με τον χαρακτηριστικό φαινότυπο ετερόζυγης Μ.Α [68,69]. Η β-Μ.Α, είναι ιδιαίτερα συχνή στους λαούς της Μεσογείου και της Μέσης Ανατολής. Στον Ελλαδικό χώρο υπάρχει άνιση κατανομή από 3,5% - 20,5% [1,57,124]. Στη Β.Δ. Ελλάδα η συχνότητα είναι 12‰ κατά μέσο όρο. Η κλινική εικόνα της β - Μ.Α. επιδεινώνεται κατά την εγκυμοσύνη, γεγονός που εξαρτάται και από τον γονότυπο της εγκύου [1,31].

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι βαριά αναιμία στην κύηση μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα στη μητέρα και στο έμβρυο, γι' αυτό είναι απαραίτητος ο προγενετικός έλεγχος καθώς επίσης και καλός έλεγχος κατά την αρχή της κύησης, για διαπίστωση τυχόν βλαβών και αντιμετώπισή τους ή αν αυτό δεν είναι εφικτό, διακοπή της κύησης. Σε κάθε έγκυο με αναιμία πρέπει να λαμβάνεται πλήρες ιστορικό, για να

γίνεται καλή αντικειμενική εξέταση και πλήρης αιματολογικός έλεγχος (δείκτες MCV και MCH, Fe, φεριττίνη, φυλλικό οξύ).

ΠΙΝΑΚΑΣ 3

ΑΙΤΙΑ ΑΝΑΙΜΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ

ΑΙΤΙΑ ΑΝΑΙΜΙΑΣ

I. Διατροφής

Έλλειψη Σιδήρου

Μεγαλοβλαστική Αναιμία (από έλλειψη φυλλικού και B12)

II. Καταστολή Μυελού Οστών

Απλαστική Αναιμία

Δευτεροπαθείς από άλλες νόσους

III. Αιμολυτική Αναιμία

Α. Επίκτητη

Αυτοάνοσος αιμολυτική αναιμία

Β. Συγγενής

Δρεπανοκυτταρική

Μεσογειακή αναιμία

Α.3. ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗ (RHUEPO)

Πρόκειται για ένα δραστικό συστατικό το οποίο διατίθεται σε τρεις εμπορικές μορφές: Ένα στέρεο πρωτεϊνικό ρυθμιστικό διάλυμα για ενδοφλέβια και υποδόρια χορήγηση το οποίο περιέχει ποσότητες epoetinum (alfa η beta) μεταξύ 500 και 10000 IU που φέρονται σε ένα 0.25% ρυθμιστικό διάλυμα ανθρώπινης αλβουμίνης Ένα στείρο, ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικών, πρωτεϊνικό διάλυμα, σε φιαλίδια περιέχοντα 1000IU\0.5ml, σε φιαλίδια και φύσιγγες περιέχοντα 2000IU\ml και 10000IU\ml δραστικής ουσίας, ενώ σαν έκδοχα χρησιμοποιούνται: Albuminum (Human), Sodium Chloride, Sodium Citrate, Citric Acid, Water for Injections. Ένα στείρο, ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών, πρωτεϊνικό διάλυμα σε διαβαθμισμένες προγεμισμένες σύριγγες που περιέχουν 1000 IU/0.5ml, 2000 IU/0.5ml, 3000 IU/0.3ml και 10000 IU/1.0ml epoetinum alfa, καθώς επίσης τα έκδοχα: Albuminum, Sodium Chloride, Sodium Phosphate monobasic dihydrate και dibasic dihydrate, water for injections [70].

Η Ερυθροποιητίνη είναι μια γλυκοπρωτεΐνη, μοριακού βάρους 32-40 KD, που αποτελείται από 165 Αμινοξέα και έχει πρωτεϊνικό κλάσμα 58%. Η σύνδεση των τεσσάρων αλυσίδων υδατανθράκων με την πρωτεΐνη γίνεται μέσω τριών N-γλυκοσιδικών και ενός O-γλυκοσιδικού δεσμού. Η δράση της έγκειται στη διέγερση του σχηματισμού των ερυθρών από τα πρόδρομα κύτταρα, γεγονός που επιτυγχάνεται με τη δράση της αφενός μεν σαν παράγοντας διέγερσης της μίτωσης, αφετέρου δε στην ορμόνη επιτελούσα διαφοροποίηση. Η epoetinum που λαμβάνεται με τη βιοτεχνολογική μέθοδο μοιάζει, όσον αφορά στην από αμινοξέα και υδατάνθρακες σύσταση, με την ερυθροποιητίνη που απομονώθηκε από τα ούρα αναιμικών ασθενών. Έχει την υψηλότερη δυνατή καθαρότητα σύμφωνα με τις σύγχρονες δυνατότητες της τεχνολογίας, αφού δεν ανιχνεύονται κυτταρικά υπολείμματα των κυττάρων που

χρησιμοποιούνται για την παραγωγή των συγκεντρώσεων του ενεργού συστατικού που χρησιμοποιούνται στον άνθρωπο [71]. Η χρήση της σε ποικίλα μοντέλα ζώων in vivo έδειξε τη βιολογική της δραστικότητα, η οποία έγκειται στη διέγερση της ερυθροποίησης ενώ δεν επηρεάζεται η λευκοκυτταροποίηση. Μέχρι τώρα δεν υπάρχουν ενδείξεις ανάπτυξης Ab κατά της epoetinum στον άνθρωπο [72]. Η rHuEPO χρησιμοποιήθηκε ήδη από την τελευταία δεκαετία για την αντιμετώπιση της αναιμίας σε ασθενείς με ΧΝΑ που υποβάλλονται ή όχι σε αιμοκάθαρση και επέφερε διόρθωση αυτής στο 95% των ασθενών, προσφέροντας σημαντικά οφέλη όσον αφορά στην ποιότητα ζωής, την ικανότητα για άσκηση, την καρδιοαναπνευστική λειτουργία και άλλες φυσιολογικές και ψυχολογικές παραμέτρους, χωρίς να επιταχύνει το ρυθμό εξέλιξης της νεφρικής ανεπάρκειας στους ασθενείς που βρίσκονταν στο στάδιο της προαιμοκάθαρσης [73]. Ωστόσο δεν υπάρχει καμιά αμφιβολία ότι πολλοί ασθενείς δεν απολαμβάνουν πλήρως τα οφέλη της rHuEPO. Από ιατρική σκοπιά είναι επιθυμητό να ελαχιστοποιηθούν τα συμπτώματα της αναιμίας και να βελτιωθεί στο μέγιστο η ποιότητα ζωής του ασθενούς, ενώ από τη σκοπιά του ασθενούς το ευκταίο είναι η κατά το δυνατό πιο άνετη και ανώδυνη χορήγηση και από οικονομική πλευρά επιθυμείται η μεγιστοποίηση της σχέσης κόστους-αποτελεσματικότητας της αγωγής με rHuEPO και η δυνατότητα εφαρμογής της αγωγής σε μεγαλύτερους αριθμούς ασθενών [74-76].

Εξάλλου, η rHuEPO χρησιμοποιήθηκε στην οφειλόμενη στην κυτταροστατική χημειοθεραπεία αναιμία των καρκινοπαθών [77-79]. Οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες στη συντριπτική τους πλειοψηφία επιδρούν αρνητικά στο αιμοποιητικό σύστημα είτε άμεσα πλήττοντας το μυελό των οστών και αναστέλλοντας έτσι το σχηματισμό της ερυθρώδους σειράς είτε έμμεσα προκαλώντας σπάνια αιμόλυση, γεγονός που οφείλεται σε Ab που αντιδρά με την πλατίνα που είναι συνδεδεμένη στη μεμβράνη του ερυθρού, ή καταστρέφοντας τα κύτταρα που παράγουν ερυθροποιητίνη λόγω της προκαλούμενης νεφροτοξικότητας και της έκθεσης των κυττάρων που παράγουν

ερυθροποιητίνη σε αυξημένου βαθμού υποξία[80]. Επίσης, σημαντικό βοηθητικό ρόλο παίζει η epoetinum στη διαχείριση του αίματος κατά τις χειρουργικές επεμβάσεις, αφού 300-600 IU/Kg i.v. σε 3 δόσεις σε συνδυασμό με συμπληρωματική χορήγηση σιδήρου από του στόματος διευκολύνει την αυτόλογη προκατάθεση αίματος σε ασθενείς που έχουν προγραμματιστεί για εγχείρηση σε λιγότερο από 2 εβδομάδες ή όταν η προγραμματισμένη μείζον χειρουργική επέμβαση απαιτεί μεγάλο όγκο αίματος 4 ή περισσότερες μονάδες για γυναίκες, 5 ή περισσότερες μονάδες για άντρες με αποτέλεσμα να αποφεύγεται ο κίνδυνος μετάδοσης ιογενούς η βακτηριακής λοίμωξης, οι ανοσολογικές ή άλλες αντιδράσεις στη μετάγγιση και οι ανοσοκατασταλτικές επιδράσεις του ομολόγου αίματος [81-83].

Η θεραπεία με rHuEPO θα πρέπει να μη γίνεται σε ασθενείς με μη ελεγχόμενη υπέρταση [84]. Η θεραπεία με rHuEPO γίνεται σε δυο φάσεις: τη φάση διόρθωσης και τη φάση συντήρησης, ενώ η χορήγηση με 4 τρόπους: ενδοφλεβίως (i.v.), υποδορίως (s.c.), ενδοπεριτοναϊκώς (i.p.), και ενδοδερμικώς (i.d.)[85]. Αν και όλες οι παραπάνω οδοί είναι αποδεδειγμένης αποτελεσματικότητας στην καθημερινή πράξη χρησιμοποιούνται μόνο οι δυο πρώτες, στις οποίες, όπως γίνεται με όλα τα ενέσιμα προϊόντα, πρέπει πριν τη χορήγηση να γίνεται έλεγχος για ύπαρξη ξένων σωματιδίων ή πιθανή μεταβολή του χρώματος του ενέσιμου διαλύματος [86]. Αρχικά, η επιλεχθείσα οδός χορήγησης της rHuEPO και ο ασφαλέστερος τρόπος για να εξασφαλιστεί ότι αυτή η σχετικά μεγάλη γλυκοπρωτεΐνη έχει φτάσει στη θέση δράσης, ήταν η ενδοφλέβια ένεση, η οποία θα πρέπει να διαρκεί πλέον του ενός έως πέντε λεπτά τουλάχιστον, ανάλογα με τη συνολική δόση, να εφαρμόζεται σε ειδικά προβλεπόμενο σημείο του συστήματος της αρτηριοφλεβικής αναστομώσεως ακολουθούμενη από 10ml φυσιολογικού ορού για έκπλυση του σωλήνα και διασφάλιση της εισόδου του προϊόντος στην κυκλοφορία [87,88]. Μια πολύ αργή χορήγηση είναι προτιμότερη για ασθενείς που αντιδρούν στη θεραπεία με συμπτώματα ομοιάζοντα με εκείνα της γρίπης. Όσον αφορά στα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά της

i.v. χορήγησης, ο χρόνος ημίσειας ζωής κυμαίνεται στους υγιείς, στους ασθενείς, και στα παιδιά από 4 μέχρι 8 ώρες. Εξίσου αποτελεσματική όμως, όπως διαπιστώθηκε αργότερα, μπορεί να είναι και η υποδόρια χορήγηση της rHuEPO, στην οποία δε θα πρέπει να γίνεται υπέρβαση ενός μέγιστου όγκου 1ml ενιεμένου σε μια θέση, ενώ σε περιπτώσεις μεγαλύτερων όγκων, θα πρέπει να επιλεχθούν για την ένεση περισσότερες της μιας θέσεις. Η ένεση θα πρέπει να γίνεται στα μέλη ή στο πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα, σύμφωνα με μια τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη μελέτη σε υγιείς εθελοντές, η s.c. ένεση στο μηρό οδήγησε σε ταχύτερη απορρόφηση, υψηλότερα μέγιστα επίπεδα στον ορό και μεγαλύτερη βιοδιαθεσιμότητα από την s.c. χορήγηση στον βραχίονα ή στην κοιλιακή χώρα [87-91]. Σύμφωνα με τα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά της υποδόριας χορήγησης της rHuEPO, τα επίπεδά της στον ορρό είναι πολύ χαμηλότερα σε σχέση με αυτά που επιτυγχάνονται μετά από μια ενδοφλέβια χορήγηση. Τα επίπεδα αυξάνουν αργά και γίνονται μέγιστα σε 12-18 ώρες μετά την πρώτη ένεση είτε 24 ώρες μετά την τελευταία ένεση. Η ημιπερίοδος ζωής, αν και είναι δύσκολο να εκτιμηθεί υπολογίζεται περίπου στις 24 ώρες[91].

Η βιοδιαθεσιμότητα της υποδόριας ενιέμενης rHuEPO είναι πολύ χαμηλότερη από αυτή της ενδοφλέβιας, περίπου 20-30%. Πολλές μελέτες έδειξαν ότι η s.c. χορήγηση μπορεί να είναι περισσότερο αποτελεσματική σε σύγκριση δόση προς δόση από την i.v. χορήγηση rHuEPO και έτσι κατά την s.c. χορήγηση απαιτείται χαμηλότερη δόση, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στον σχετικά βραδύτερο ρυθμό απορρόφησης μετά από s.c. χορήγηση[92,93]. Εξάλλου, σύμφωνα με άλλες μελέτες δεν παρουσιάζεται διαφορά στην απαιτούμενη δόση μεταξύ s.c. και i.v. χορήγησης. Όσον αφορά στο θεραπευτικό περιθώριο της rHuEPO, θα πρέπει να αναφερθεί ότι αυτό είναι ιδιαίτερα ευρύ, αφού ακόμα και σε πολύ υψηλά επίπεδα στον ορρό, δεν έχουν σημειωθεί συμπτώματα δηλητηρίασης. Κατά τη χορήγηση της rHuEPO πρέπει να προσεχθούν η οδός και η συχνότητά της. Η ευρύτερα αποδεκτή συχνότητα χορήγησης είναι αυτή των 3 φορών την εβδομάδα

προκειμένου για i.v. και των 2-3 φορών την εβδομάδα προκειμένου για s.c. χορήγηση. Η χορήγηση rHuEPO 1 φορά την εβδομάδα για ασθενείς που χρειάζονται πολύ χαμηλές εβδομαδιαίες δόσεις αποδείχτηκε εξίσου αποτελεσματική και περισσότερο βολική, ενώ η εφαρμογή της, προφανώς άβολης για τον ασθενή, άπαξ ημερήσιας χορήγησης δεν τεκμηριώνεται με σημαντικά δεδομένα. Η διακοπή χορήγησης της rHuEPO δεν θα πρέπει να γίνεται απότομα, εκτός αν εμφανιστούν επιπλοκές απειλητικές για την ζωή του ασθενούς. Ιδιαίτερη προσοχή, κατά την διάρκεια της θεραπείας με rHuEPO, απαιτεί η παρακολούθηση των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης , αφού όταν επιτευχθούν ικανοποιητικά επίπεδα αυτής , η δόση θα πρέπει , σταδιακά πάντα, να μειώνεται. Ποσοστό αύξησης της Hb μεγαλύτερο από 2g/dL (1,25 mmol/L) ανά μήνα ή επίπεδα Hb μεγαλύτερα από 14g/dL (>8,7mmol/L) θα πρέπει να αποφεύγονται. Σε περίπτωση που συμβεί πρώτο , η δόση του φαρμάκου θα πρέπει να μειωθεί κατά 25-50% ανάλογα με το ρυθμό αύξησης της Αιμοσφαιρίνης , ενώ στη δεύτερη περίπτωση θα πρέπει η θεραπεία να διακόπτεται μέχρι να αποκατασταθούν τα επίπεδα της κάτω από 12g/dL (7,5 mmol/l), οπότε και επαναχορηγείται η epoetin αλλά σε δόσεις κατά 25% χαμηλότερες της αρχικής[92-95].

Ένας άλλος παράγοντας που θα πρέπει να εκτιμηθεί πριν και κατά τη διάρκεια της θεραπείας είναι τα επίπεδα του σιδήρου [96]. Συχνά, απαιτείται η χορήγηση συμπληρωματικού σιδήρου, έτσι ώστε να διατηρούνται τα επίπεδα Φερριτίνη στον ορρό μεγαλύτερα από 100 μg/l, ο κορεσμός της τρανσφερίνης μεγαλύτερος από 20% και τα επίπεδα των υπόχρωμων ερυθροκυττάρων μικρότερα από 10% [97,98]. Η συμπληρωματική χορήγηση σιδήρου θα πρέπει να αρχίσει το συντομότερο δυνατό έτσι ώστε να επιτευχθούν υψηλά επίπεδα σιδήρου πριν την έναρξη της θεραπείας με rHuEPO και δεν πρέπει να είναι αυθαίρετη και ανεξέλεγκτη, αλλά απαιτείται αξιολόγηση της κατάστασης του σιδήρου κάθε μήνα αρχικά και κάθε 2-3 μήνες στη συνέχεια. Επιπρόσθετα άλλης αιτιολογίας αναιμίες , όπως ανεπάρκεια βιταμίνης B12 ή φυλλικού οξέος θα πρέπει να εξαιρεθούν πριν την έναρξη της

θεραπείας με rHuEPO. Σε περίπτωση μη ανταπόκρισης του ασθενούς στη θεραπεία με epoetin αλλά θα πρέπει να διερευνηθούν οι παράγοντες που την προκάλεσαν , οι οποίοι μπορεί να περιλαμβάνουν ανεπάρκεια σιδήρου, φυλλικού οξέος ή βιταμίνης B12, δηλητηρίαση από αργίλιο, συμπαρομαρτούσες λοιμώξεις, φλεγμονές ή τραύματα, λανθάνουσα αιμορραγία , αιμόλυση και οποιασδήποτε αιτιολογίας ίνωση του μυελού των οστών [99-102]. Η χρήση της rHuEPO θα πρέπει να γίνεται με κάποιες προφυλάξεις. Κατά τη διάρκεια της θεραπείας χρειάζεται έλεγχος των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης. Ο ρυθμός αύξησης της Hb θα πρέπει να είναι περίπου 1gr/dl (0,62mmol/l) ανά μήνα και όπως ήδη αναφέρθηκε, δεν πρέπει να ξεπερνά το επίπεδο των 2gr/dl (1,25mmol/l) ανά μήνα, ώστε να ελαττωθούν οι κίνδυνοι αύξησης της υπέρτασης. Σε υπερτασικούς ασθενείς μη λαμβάνοντες αγωγή ή με ανεπαρκή αγωγή ή ελλιπής ελεγχόμενη υπέρταση απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή και στενή παρακολούθηση για ανεύρεση τυχόν μεταβλητών στην αρτηριακή πίεση και στους ηλεκτρολύτες του ορού. Σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να θεωρηθεί απαραίτητη η προσθήκη ή αύξηση της αντιυπερτασικής αγωγής. Αν όμως ο έλεγχος της αρτηριακής πίεσης είναι ανέφικτος, πρέπει να διακοπεί η θεραπεία με rHuEPO[101]. Εκτός από τις περιπτώσεις μη ελεγχόμενης πίεσης, προσοχή απαιτείται και σε περιπτώσεις επιληψίας, θρομβοκυττάρωσης, χρόνιας ηπατικής ανεπάρκειας και γνωστής υπερευαισθησίας στο φάρμακο, ενώ η ανεπάρκεια φυλλικού ή βιταμίνης B12 θα πρέπει να αποκατασταθούν πριν την έναρξη της θεραπείας με rHuEPO, αφού ελαττώνουν τη δραστικότητα του φαρμάκου. Εξάλλου, επειδή ταυτόχρονα με την αύξηση του συμπυκνωμένου όγκου κυττάρων ελαττώνονται τα επίπεδα φερριτίνης του ορρού, συνιστάται η συμπληρωματική χορήγηση σιδήρου από του στόματος σε δόση περίπου 200-300 mg /ημέρα, σε ασθενείς που τα επίπεδα φερριτίνης του ορρού τους είναι κάτω από 100mg/ml[98-102]. Επίσης, απαιτείται συχνός έλεγχος των επιπέδων Καλίου του ορρού, αφού σε κάποιους ασθενείς έχει παρατηρηθεί υπερκαλιαιμία, σταθερή ή αυξανόμενη, θα πρέπει να συνεχιστεί η χορήγηση του φαρμάκου μόνο

εάν διορθωθεί η διαταραχή αυτή. Παράλληλα, συνιστάται ο τακτικός αιμοπεταλιακός έλεγχος, κυρίως κατά τη διάρκεια των 8 πρώτων εβδομάδων της θεραπείας, αφού έχει παρατηρηθεί πιθανή μέτρια δοσοεξαρτώμενη αύξηση του αριθμού των αιμοπεταλίων, μέσα στα φυσιολογικά όρια, η οποία ακολούθως ελαττώνεται κατά τη χρονική περίοδο συνέχισης της θεραπείας, γεγονός που καθιστά πολύ σπάνιο φαινόμενο την ανάπτυξη θρομβοκυττάρωσης. Σε περίπτωση που ο ηπαρινισμός δεν είναι ιδανικός, είναι πιθανή η απόφραξη του συστήματος αιμοκάθαρσης, γεγονός που ίσως απαιτήσει μια αύξηση της δόσης της ηπαρίνης κατά τα διάρκεια της θεραπείας με rHuEPO[105]. Όσον αφορά στην αλληλεπίδραση με άλλα φάρμακα , σύμφωνα με τα μέχρι σήμερα δεδομένα, η epoetin δεν αλλάζει το μεταβολισμό άλλων φαρμάκων[80]. Εντούτοις, υπάρχει δυνατότητα αλληλεπίδρασης με φάρμακα που συνδέονται με τα ερυθροκύτταρα, όπως η κυκλοσπορίνη, γι' αυτό και θα πρέπει απαραίτητα να γίνεται παρακολούθηση των επιπέδων κυκλοσπορίνης στο αίμα και προσαρμογή της δόσης της σύμφωνα με την αύξηση του αιματοκρίτη. Εξάλλου, δεν υπάρχουν τεκμηριωμένα δεδομένα για την ύπαρξη αλληλεπίδρασης μεταξύ rHuEPO και G-CSF, GM-CSF, σχετικά με την αιματολογική διαφοροποίηση ή των in vitro παρασκευασμάτων βιοψιών νεοπλασμάτων [83,103]. Γενικά, δεν πρέπει να χορηγείται με ενδοφλέβια έγχυση ή σε συνδυασμό με άλλα διαλύματα φαρμάκων. Όπως όλα τα φάρμακα, έτσι και η rHuEPO, πέρα από τις επιθυμητές ενέργειες προκαλεί και κάποιες ανεπιθύμητες. Η πιο συχνά απαιτούμενη ανεπιθύμητη ενέργεια είναι η δοσοεξαρτώμενη αύξηση της Α.Π. ή η επιδείνωση της ήδη υπάρχουσας υπέρτασης, καταστάσεις που σαν προειδοποιητικό σημείο έχουν τις ξαφνικές διαξιφικές ημικρανίες και μπορούν να ελεγχθούν με κατάλληλα φάρμακα. Εξάλλου, πολύ σπάνια μπορεί να παρατηρηθεί θρομβοκυττάρωση, συμπτώματα ομοιάζοντα με εκείνα της γρίπης (κεφαλαλγία, αρθραλγία, ζάλη, αδυναμία) που εμφανίζονται κατά την έναρξη της θεραπείας, θρομβώσεως των αρτηριοφλεβικών αναστομώσεων και επίδραση στην ικανότητα οδήγησης

και χρήσης μηχανημάτων [92,104]. Επίσης, σε προκλινικές μελέτες σε ζώα η θεραπεία με epoetinum σχετίσθηκε με υποκλινική ίνωση του μυελού των οστών, ενώ μελέτες για διαπίστωση τυχόν καρκινογόνων ιδιοτήτων του φαρμάκου δεν έχουν γίνει. Αντίθετα δεν έχουν παρατηρηθεί μεταλλαξιογόνες ιδιότητες στο φάρμακο. Πρέπει να τονισθεί το γεγονός ότι η epoetinum όταν χρησιμοποιηθεί στην κύηση και τη γαλουχία, ελαττώνει το σωματικό βάρος του εμβρύου, καθυστερεί την οστεοποίηση και αυξάνει τη θνησιμότητα σε ζώα όταν δοθεί σε εβδομαδιαίες δόσεις περίπου 20 φορές τη συνιστώμενη εβδομαδιαία ανθρώπινη δόση [87]. Αυτές οι αλλαγές πιστεύεται ότι είναι δευτερογενείς εκ της μειώσεως πρόσληψης βάρους από τη μητέρα. Βέβαια, δεν υπάρχουν επαρκείς και καλά ελεγχόμενες μελέτες σε εγκύους γυναίκες. Αξίζει σε αυτό το σημείο να αναφερθεί το γεγονός ότι η epoetinum εκτός από τη διέγερση της παραγωγής ερυθροκυττάρων του αίματος δεν μπορεί να αποκλεισθεί η πιθανότητα δράσης της σαν αυξητικού παράγοντα και σε τύπους νεοπλασιών, ειδικότερα σε κακοήθεις μυελικές νόσους [100,103].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Β. Η ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΚΥΗΣΗ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΛΟΧΕΙΑ

Β.1. ΣΚΟΠΟΣ-ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Β.2. ΥΛΙΚΟ- ΜΕΘΟΔΟΙ

Β.3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ –ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Β.4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Β.4.1. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΝΑΣΥΝΔΙΑΣΜΕΝΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ (RHUEPO) ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ ΤΗΣ ΛΟΧΕΙΑΣ

Β.4.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ ΣΤΗ ΜΙΚΡΟΔΡΕΠΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ

Β.4.3. ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ ΜΕ RHUEPO ΣΕ ΕΓΚΥΕΣ ΜΕ ΕΝΔΙΑΜΕΣΗ Β- ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

Β.1. ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΣΗΜΑΣΙΑ

Η παρούσα μελέτη είχε ως σκοπό, την διερεύνηση της θεραπείας της αναιμίας και των επιπλοκών της, σε γυναίκες που εμφάνισαν αναιμία στην λοχεία, καθώς επίσης και σε εγκυμονούσες με μικροδρεπανοκυτταρική, ενδιάμεση και φορεία της β-μεσογειακής αναιμίας, με την εναλλακτική χορήγηση rHuEPO. Η αναιμία δεν είναι νόσος και πρέπει να γίνεται έλεγχος για υποκείμενη αιτιολογία, αποτελεί δε το πιο συχνό αιματολογικό πρόβλημα κατά την διάρκεια της κύησης και λοχείας.

Αρχικά η ερυθροποιητίνη χρησιμοποιήθηκε για την θεραπεία της αναιμίας σε ασθενείς με νεφρική νόσο τελικού σταδίου, όπου η θεραπεία με το φάρμακο διόρθωσε την αναιμία και βελτίωσε την ποιότητα ζωής [93]. Μέχρι σήμερα δεν έχει μελετηθεί διεξοδικά η δράση της rHuEPO στην κύηση και την λοχεία. Χορηγήσαμε λοιπόν την ερυθροποιητίνη σε αναιμικές λεχωίδες και σε εγκυμονούσες με μικροδρεπανοκυτταρική, και ενδιάμεση μεσογειακή αναιμία. Τα σύνδρομα αυτά απαντώνται ως επί το πλείστον στις χώρες της Μεσογείου και είναι αρκετά συχνά στη χώρα μας. Οι επιπλοκές που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της κύησης σε αυτούς τους ασθενείς είναι πολλές και συχνά πολύ βαριές [104]. Μελετήσαμε λοιπόν την επίδραση του φαρμάκου, τόσο στην ταχύτητα αύξησης της τιμής της αιμοσφαιρίνης, όσο και στη βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών.

Η σημασία της μελέτης είναι πολύ μεγάλη, γιατί μέχρι πρότινος η βαριά αναιμία αντιμετωπίζονταν με μετάγγιση αίματος. Αυτό όμως εγκυμονεί πολλούς κινδύνους, όπως είναι η μετάδοση ιογενών λοιμώξεων, AIDS, ηπατιτίδων, πρόκληση αλλοανοσίας. Λόγω αυτών των υπαρκτών κινδύνων όλο και περισσότεροι ασθενείς με αναιμία, δεν θέλουν να μεταγγισθούν και αν συνυπολογίσουμε και τους ασθενείς που για θρησκευτικούς λόγους αρνούνται, τότε η μόνη εναλλακτική λύση για

αυτούς, είναι η χρήση της rHuEPO. Η βελτίωση της γενικής κατάστασης των ασθενών έχει ως αποτέλεσμα την ταχύτερη κινητοποίηση, την μικρότερη νοσοκομειακή παραμονή και την καλύτερη ποιότητα ζωής.

Προτείνουμε για αυτούς τους ασθενείς την χορήγηση συνδυασμού rHuEPO υποδορίως και per os σιδήρου μαζί με φυλλικό οξύ.

αυτούς, είναι η χρήση της rHuEPO. Η βελτίωση της γενικής κατάστασης των ασθενών έχει ως αποτέλεσμα την ταχύτερη κινητοποίηση, την μικρότερη νοσοκομειακή παραμονή και την καλύτερη ποιότητα ζωής. Προτείνουμε για αυτούς τους ασθενείς την χορήγηση συνδυασμού rHuEPO υποδορίως και per os σιδήρου μαζί με φυλλικό οξύ.

Β.2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το υλικό της εργασίας αυτής αποτέλεσαν έγκυες γυναίκες πού προσήλθαν στην Γυναικολογική και Μαιευτική κλινική του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων για παρακολούθηση της κύησης και της λοχείας. Συμμετείχαν συνολικά 55 γυναίκες εκ των οποίων οι 40 βρίσκονταν στην φάση της λοχείας τους, 10 έπασχαν από μικροδρεπανοκυτταρική αναιμία στην κύηση, 5 έπασχαν από ενδιάμεση αναιμία,. Στην εργασία αυτή για την ανίχνευση των μοριακών αλλαγών που εντοπίζονται στο β-γονίδιο χρησιμοποιήθηκε η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και στο προιόν έγινε ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα ακρυλαμιδίου που περιέχει κλίσης πυκνότητας αποδιατακτικών παραγόντων (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE) καθώς επίσης και η μέθοδος ARMS (Amplification refractory mutation system), σαν δεύτερη μέθοδος επιβεβαίωσης. Η εργασία χωρίστηκε σε τρία σκέλη.

Το πρώτο σκέλος της αφορά γυναίκες που βρίσκονται στην λοχεία και η μελέτη ήταν προοπτική τυχαιοποιημένη. Έλαβαν μέρος σαράντα γυναίκες, οι οποίες εμφάνιζαν αναιμία την πρώτη ημέρα μετά τον τοκετό. Κριτήρια εισαγωγής στις ομάδες ήταν αιμοσφαιρίνη από 6,5-8 gr/dl, ηλικία μεταξύ 19-44 χρονών, και μη ύπαρξη σοβαρής παθολογίας, (προεκλαμψία, κ.α). Έτσι σε είκοσι λεχωΐδες (Ομάδα Α), διάμεσης ηλικίας 25 ετών (εύρος 19-44), με τιμή αιμοσφαιρίνης μικρότερη από 8 gr/dl και μεγαλύτερη από 6,5 gr/dl, χορηγήθηκε s.c. rHuEpo 200 IU/kg βάρους σώματος, καθημερινά για 5-15 ημέρες. Επίσης ελάμβαναν per os 200 mg σύμπλοκου πολυμαλτοζικού σιδήρου και 5 mg φυλλικού οξέως. Η ομάδα Β αποτελούνταν και αυτή από είκοσι γυναίκες, οι οποίες όμως έλαβαν μόνο 200mg σιδήρου και 5 mg φυλλικό οξύ.

Στη δεύτερη προοπτική μελέτη συμπεριλήφθηκαν δέκα γυναίκες με μικροδρεπανοκυτταρική αναιμία και σαν control, οι ίδιες σε προηγούμενη εγκυμοσύνη τους, οι οποίες παρακολουθούνταν στα εξωτερικά Ιατρεία

της Μαιευτικής Κλινικής, ηλικίας 18-40 χρόνων (Πίνακας 8). Έγινε χορήγηση rHuEPO s.c. συστηματικά, οι ασθενείς νοσηλεύθηκαν 4 εβδομάδες πριν τον αναμενόμενο τοκετό και μια εβδομάδα μετά, για καλύτερη παρακολούθησή τους. Η ομάδα της μελέτης έλαβε 200 IU/kg/day rHuEPO κάθε δεύτερη ημέρα για τέσσερις εβδομάδες και στην συνέχεια δύο φορές την εβδομάδα μέχρι το τέλος της κύησης, καθώς επίσης και πολυμαλτοζικό σίδηρο 200mg, και 5 mg φυλλικό οξύ καθημερινά. Έναρξη χορήγησης γίνονταν την 30η εβδομάδα της κυήσεως μέχρι και την 4η εβδομάδα μετά την κύηση.

Στην τρίτη προοπτική μελέτη έλαβαν μέρος πέντε έγκυες με γνωστή ενδιάμεση μορφή β-ΜΑ με διάφορους τύπους μετάλλαξης (IVS-I-110/IVS-I-6,δβ-Corfu/CD6,IVS-1-100/IVS-1-6, δβ-Sic/δβ-Sic), (Πίνακας 9) που προσηλθαν στην κλινική μας για παρακολούθηση της κύησης και ήδη από το πρώτο τρίμηνο εμφάνισαν σοβαρή αναιμία. Χορήγηση s.c. rHuEPO άρχισε από την 30 εβδομάδα σε δόση 10.000 IU κάθε δεύτερη μέρα για τέσσερις εβδομάδες και στην συνέχεια δύο φορές την εβδομάδα μετά τον τοκετό, με παράλληλη χορήγηση σύμπλοκου πολυμαλτοζικού Fe 200mg και φυλλικού οξέος 5 mg x 3 την ημέρα.

Κατά την πρώτη επίσκεψη της εγκύου στα Εξωτερικά Ιατρεία της κλινικής μας γινόταν παράλληλα με την αιμοληψία για τον έλεγχο ρόφτινας και συλλογή αίματος για την μελέτη μας. Τα επίπεδα στο πλασμα των υπο μελετη στοιχείων καταγράφονται προ της θεραπείας όσο και κατά την διάρκεια της. Η αιματολογική ανάλυση έγινε με αυτόματο αναλυτή Coiter Counter (Model T 660) και προσδιορίστηκε ο αιματοκρίτης, η αιμοσφαιρίνη, ΔΕΚ, MCH, MCV, MCHC, η HbF προσδιορίστηκε μετά από επίδραση αλκάλεος στην οποία η HbF ανθίσταται στην μετουσίωση και έτσι ανιχνεύεται [illegible]. Έγινε προσδιορισμός της μετάλλαξης στις ετεροζυγες β-Μ.Α. με ταυτοποίηση [illegible] γονιδίου της Μητέρας της Μ/Γ κλινικής από 1 ml περιφερικού αιματος, από το οποίο έγινε εξαγωγή DNA και στη συνέχεια PCR με τις μεθόδους ανάλυσης ARMS μεταλλάξεων και D.G.G.E. [illegible]. Ελένχθηκε επίσης με αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης με

ταυτόχρονη πέψη (PCR), η ύπαρξη της μετάλλαξης XmnI στο -158 Gγ του γονιδιόματος γιατί είναι γνωστή η επαγωγική σχέση της ύπαρξης της μετάλλαξης αυτής και της σύνθεσης της HbF. Τα επίπεδα EPO ορού προσδιορίστηκαν με την ραδιοανοσολογική μέθοδο (RIA, Eporia-Ramco Lab. Inc. Hauston, Texas) [107]. Προσδιορίστηκαν οι τιμές του σιδήρου, φερριτίνης, σιδηροδεσμευτικής ικανότητας, B_{12}, φυλλικού οξέος για τον έλεγχο συνύπαρξης μεγαλοβλαστικής, απλαστικής αναιμίας και ελέγχονταν συστηματικά η νεφρική και ηπατική λειτουργία, καθώς και πλήρης κλινική εξέταση με επισκόπηση, ψηλάφηση, επίκρουση, ακρόαση, μέτρηση της αρτηριακής πίεσης, και ΗΚΓ σε συγκεκριμένες ημέρες. Καταγράφηκαν περιοδικά επίσης και οι ψυχοσωματικές αντιδράσεις των γυναικών Οι ασθενείς νοσηλεύτηκαν 4 εβδομάδες πριν τον αναμενόμενο τοκετό και μια εβδομάδα μετά, για καλύτερη παρακολούθησή τους. Η αξιολόγηση της μεταβολής της κλινικής εικόνας έγινε είτε βάσει προσωπικής επικοινωνίας, είτε από την καρτέλλα παρακολούθησης. Ο προσδιορισμός της ηλικίας κυήσεως έγινε με βάση την πρώτη ημέρα της τελευταίας εμμήνου ρύσεως και υπερηχογραφικά. Στη συνέχεια, η παρακολούθηση της εγκυμοσύνης γινόταν σύμφωνα με το πρωτόκολλο που ισχύει στην Κλινική μας.

Στατιστική ανάλυση έγινε με το πρόγραμμα Statistica χρησιμοποιώντας το Mann-Whitney U Test, και X^2. Επίπεδο σημαντικότητας θεωρήθηκε το $p<0,05$.

Το πρωτόκολλο αυτό τέθηκε σε εφαρμογή μετά από έγκριση της επιστημονικής επιτροπής του νοσοκομείου μας. Φυσικά είχε γίνει ενημέρωση των ασθενών που πήραν μέρος στην μελέτη και έχουν δώσουν ενυπόγραφη συγκατάθεση.

Β.3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ- ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Στις γυναίκες που προσέρχονται για εξέταση στην κλινική μας γίνονταν λήψη 20 ml περιφερικού ολικού αίματος, το οποίο τοποθετείται σε 2 μπουκάλια Wasserman και ένα μπουκάλι Vacutainer με αντιπηκτικό EDTA. Από την ποσότητα αυτή του αίματος αρχικά υπολογίζονταν οι αιματολογικοί δείκτες, με αυτόματο αναλυτή (Cell-Dynn 3500 Abbott) καθώς και οι τιμές του σιδήρου, φερριτίνης, σιδηροδεσμευτικής ικανότητας, B_{12}, φυλλικού οξέος, τα επίπεδα EPO ορού που προσδιορίστηκαν με την ραδιοανοσολογική μέθοδο (RIA, Eporia-Ramco Lab. Inc. Hauston, Texas) στο βιοχημικό τμήμα του νοσοκομείου μας [107-108]. Ακολουθήθηκε ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης για την καταγραφή των αιμοσφαιρινικών κλασμάτων (Hydragel Hb, Sebia) και τέλος χρωματογραφία σε στήλες ρητίνης (Diethylaminoethyl Cellulose, DE 52 Whatman) για τον υπολογισμό του ποσοστού της αιμοσφαιρίνης A_2. Το υπόλοιπο αίμα, περίπου 1 ml, των ατόμων που θα χαρακτηρισθούν ετεροζυγώτες β-Μεσογειακής αναιμίας, θα χρησιμοποιούνταν για να γίνει εξαγωγή DNA από τα λευκοκύτταρα που υπάρχουν σ' αυτό, στο εργαστήριο Υγείας της Μητέρας.

Η εξαγωγή DNA γίνονταν σε 1 ml περιφερικού ολικού αίματος προσθέτονταν 1 ml διαλύματος TKM και 25 μl NP-40. Ανάδευση και φυγοκέντρηση σε 3000 στροφές για 10 min. Το ίζημα των λευκοκυττάρων πλένεται με 0.5 ml διαλύματος TKM. Η διαδικασία του πλυσίματος, θα επαναληφθεί 2-4 φορές, μέχρι να απομακρυνθεί όλη η ποσότητα των ερυθροκυττάρων. Στο καθαρό ίζημα των λευκοκυττάρων προστίθονται 200 μl TKM και 15 μl διαλύματος SDS 10%. Αφήνονται για 5 min σε 55^0 C και στη συνέχεια προστίθονται 75 μl διαλύματος NaCl 6M. Φυγοκέντρηση για 5 min σε 12.000 στροφές, προσεκτική μεταφορά του υπερκειμένου, όπου υπάρχει διαλυμένο το DNA και πρόσθεση περίπου 750 μl απόλυτης αιθανόλης -20^0 C. Με ελαφρά ανάδευση η αιθανόλη απομακρύνει τα μόρια του νερού από το DNA το οποίο εύκολα

απομακρύνεται και διαλύεται σε περίπου 50 μl διαλύματος TE. Διατηρείται για μακρύ χρονικό διάστημα σε 4^0 C.

Ο επιλεκτικός πολλαπλασιασμός τμημάτων του β-γονίδιου γίνεται για να μελετηθεί το β-γονίδιο και να εντοπιστούν οι μοριακές αλλαγές, χωρίζεται σε τμήματα μεγέθους 200 μέχρι 450 ζεύγη βάσεων. Αυτό επιτυγχάνεται με επιλογή κατάλληλων ζευγών εκκινητών τα οποία και θα ορίσουν κάθε φορά το τμήμα του DNA του γονιδίου, το οποίο με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης θα πολλαπλασιαστεί. Οι εκκινητές αυτοί είναι συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια που αποτελούνται από 19-26 βάσεις, συμπληρωματικές για συγκεκριμένες αλληλουχίες βάσεων DNA του β-γονιδίου, μεταξύ των οποίων βρίσκεται η αλληλουχία που κάθε φορά θέλουμε να πολλαπλασιαστεί. Τα τμήματα DNA που προκύπτουν από την αντίδραση PCR έχουν χαρακτηριστικό πρότυπο αποδιάταξης. Ανάλογα με τη συμπεριφορά αποδιάταξης του κάθε τμήματος που πολλαπλασιάστηκε, επιλέχθηκε η κλίση συγκέντρωσης αποδιατακτικών παραγόντων στην οποία το τμήμα αυτό θα ηλεκτροφορηθεί.

Η αντίδραση του επιλεκτικού πολλαπλασιασμού γενομικού DNA (PCR), έγινε σε μπουκάλι eppendorf 500 μl. Όλα τα αντιδραστήρια, κατά τη διάρκεια της εργασίας, τοποθετούνται πάνω σε πάγο. Τα υλικά που θα χρησιμοποιηθούν θα πρέπει να έχουν αποστειρωθεί. Ο χώρος όπου πραγματοποιείται η αντίδραση PCR πρέπει να διατηρείται καθαρός για να ελαχιστοποιούνται οι τυχόν επιμολύνσεις. Όλες οι εργασίες γίνονται με γάντια. Για την αντίδραση PCR χρησιμοποιήθηκε αυτόματος θερμικός κυκλοποιητής: PTC-100, Peltier-Effect Cycling. MJ Recerarch Inc. USA. Η αντίδραση έγινε σε συνολικό όγκο 50 μl, συμπληρώνοντας με δισαπεσταγμένου και αποστειρωμένου H_2O. Για να αποφευχθεί η απώλεια του όγκου της αντίδρασης εξ αιτίας των υψηλών θερμοκρασιών, σε κάθε μπουκάλι αντίδρασης, σαν κάλυμμα, χρησιμοποιήθηκαν δύο σταγόνες παραφινέλαιου. Τα τρία στάδια της αποδιάταξης, επανασύνδεσης και επέκτασης επαναλαμβάνονται για 40 κύκλους και τέλος ακολουθεί τελική επέκταση 72^0 C για 7 min. Από το προϊόν της αντίδρασης, 5 μl χρησιμοποιούνται για έλεγχο επιτυχούς

έκβασης της αντίδρασης, με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης 1.8% (Ultra Pure, Gibco BRL) που περιέχει 0.5 mg/ml βρωμιούχο αιθίδιο. Ο αριθμός των νουκλεοτιδίων του κάθε τμήματος που πολλαπλασιάζεται με PCR. Η επιτυχία ή όχι της αντίδρασης PCR ελέγχεται χρησιμοποιώντας σαν πρότυπο μοριακών βαρών ΦΧ174/Hae III (Promega).

Για την ηλεκτροφόρηση χρησιμοποιήθηκε η συσκευή: denaturing gradient gel electrophoresis system, C.B.S. Scientific Company, Inc. California USA. Η συσκευή ηλεκτροφόρησης τίθεται σε λειτουργία και ρυθμίζεται η θερμοκρασία του διαλύματος TAE στους 60^0 C. Η θερμοκρασία αυτή θεωρείται ιδανική για την ηλεκτροφόρηση όλων των τμημάτων του γονιδίου. Όταν ο πολυμερισμός του πηκτώματος ολοκληρωθεί, απομακρύνεται με μεγάλη προσοχή το χτένι και η ειδική ταινία στεγανοποίησης. Τα τζάμια με το πήκτωμα στερεώνονται στη ειδική βάση, βυθίζονται στο διάλυμα TAE της συσκευής ηλεκτροφόρησης και συνδέονται με την αντλία. Χρησιμοποιώντας σύριγγα, οι θέσεις όπου θα τοποθετηθούν τα δείγματα ξεπλένονται με διάλυμα TAE για να απομακρυνθούν οι κρύσταλλοι ουρίας που επικάθονται εκεί. Το πήκτωμα συνδέεται με τάση 50 Volts για 30 min. Σε αυτό το χρόνο ετοιμάζονται τα προϊόντα PCR που θα ηλεκτροφορηθούν. Θα χρησιμοποιηθούν 18 μl προϊόντος και 2 μl διαλύματος χρωστικής φόρτωσης. Μετά την πάροδο των 30 min κλείνεται η τάση των 50 Volts και τοποθετούνται τα δείγματα στις ειδικές θέσεις του πηκτώματος, ενώ η αντλία τροφοδοσίας με διάλυμα TAE διατηρείται σε λειτουργία. Για την εύκολη τοποθέτηση των δειγμάτων στο πήκτωμα καλό είναι να χρησιμοποιείται ειδικό τριχοειδές ρύγχος, χωρίς αυτό να είναι απαραίτητο, αφού μπορεί να γίνει και με απλό ρύγχος χωρίς να αλλοιώνεται σημαντικά η αναγνωσιμότητα των ζωνών. Τα δείγματα θα παραμείνουν στο πήκτωμα σε τάση 50 Volts για περίπου 24 ώρες. Κατά τη διάρκεια της ηλεκτροφόρησης είναι καλό να ελεγχθούν, τουλάχιστον δύο φορές, οι συνδέσεις των σωλήνων του διαλύματος TAE, τόσο της αντλίας όσο και του πηκτώματος. Κακή σύνδεση, οδηγεί σε πλημμελή

τροφοδοσία με διάλυμα TAE της δεξαμενής των τζαμιών, πράγμα που θα έχει σαν αποτέλεσμα ζώνες πολύ κακής αναγνωσιμότητας. Πριν διακοπή η ηλεκτροφόρηση θα πρέπει να γίνει έλεγχος κατά πόσο οι χρωστικές έχουν βγει ολοκληρωτικά έξω από το πήκτωμα ακρυλαμιδίου. Σε αντίθετη περίπτωση οι ζώνες δεν θα έχουν αποχωρισθεί αρκετά και η ανάγνωση του αποτελέσματος θα είναι δυσχερής. Οι παραπάνω συνθήκες ηλεκτροφόρησης (50 Volts, 24 ώρες) είναι ιδανικές για τον πολύ καλό αποχωρισμό των ζωνών, αλλά αν για οποιοδήποτε αιτία συντομευτεί η χρονική διάρκεια ηλεκτροφόρησης, ο έλεγχος της απομάκρυνσης των χρωστικών από το πήκτωμα είναι απαραίτητος. Διακόπτεται η παροχή τάσης και η λειτουργία της αντλίας, αποσυνδέονται οι σωληνώσεις του πηκτώματος και αφαιρείται η βάση συγκράτησής του από τη συσκευή. Απομακρύνονται τα τζάμια από τη βάση και με προσοχή αφαιρείται το ένα, ενώ το άλλο θα χρησιμοποιηθεί για τη μεταφορά και την περαιτέρω επεξεργασία του πηκτώματος. Σε σκοτεινό χώρο το πήκτωμα εμβαπτίζεται σε διάλυμα βρωμιούχου αιθιδίου, 0.5 mg/ml για περίπου 15-20 min. Ξεπλένεται με νερό και φωτογραφίζεται σε υπεριώδες φως μήκους κύματος 250 nm, με φωτογραφική μηχανή Polaroid (διάφραγμα 4.8 ταχύτητα 2 sec).

Η μεθοδος ARMS βασίζεται στην αρχή, οτι ένας εκκινητής επιμηκύνεται και δίνει προϊόν στην αντίδραση PCR μόνον στην περίπτωση που έχει πλήρη ομολογία βάσεων με το υπό μελέτη DNA. Η έλλειψη προϊόντος αντίδρασης πιστοποιεί την ύπαρξη κάποιας μετάλλαξης. Για να αναγνωρισθούν λοιπόν αυτές οι σημειακές μεταλλάξεις απαιτούνται τρεις διαφορετικοί εκκινητές. Ο ένας εκκινητής θα είναι κοινός (common), ενώ από τους άλλους δύο, ο ένας θα έχει πλήρη ομολογία βάσεων με το φυσιολογικό DNA και σε συνδιασμό με τον κοινό εκκινητή θα δώσει προϊόν PCR μόνο στην περίπτωση μη μεταλλαγμένου DNA. Ο τρίτος εκκινητής, ο οποίος είναι ομόλογος του μεταλλαγμένου DNA, σε συνδυασμό με τον κοινό εκκινητή, θα δώσει προϊόν PCR μόνο στην περίπτωση μεταλλαγμένου DNA. Για την παραπάνω διαδικασία είναι απαραίτητες δύο αντιδράσεις PCR, μία για το φυσιολογικό και μία για το

μεταλλαγμένο DNA. Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 11 διάφορετικοί εκκινητές για ανίχνευση ισάριθμων μεταλλάξεων. Σε κάθε αντίδραση χρησιμοποιήθηκε ένας, ειδικός για κάθε μετάλλαξη, εκκινητής, ο οποίος συνδυάσθηκε με έναν από τους 4 κοινούς. Ένα επιπλέον ζεύγος από τους κοινούς εκκινητές χρησιμοποιήθηκε κάθε φορά [C3-C4] για έλεγχο επιτυχούς έκβασης της αντίδρασης. Απαιτείται ρυθμιστικό διάλυμα: 50 mM KCl, 20 mM Tris-HCl pH 8.4, dNTPs: 2 mM (ισομοριακό μίγμα dATP, dTTP, dGTP, dCTP, Promega). Taq DNA πολυμεράση: 1 μονάδα (Gibco BRL).Γενομικό DNA: 300-500 ng. Οι συγκεντρώσεις Mg++ και εκκινητών για την κάθε αντίδρασηείναι ειδικές. Η αντίδραση PCR πραγματοποιήθηκε σε συνολικό όγκο 25 μl, χρησιμοποιώντας δισαπεσταγμένο και αποστειρωμένο νερό.

Β.4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Β.4.1. Χορήγηση ανασυνδιάσμενης ανθρώπινης ερυθροποιητίνης (rHuEPO) για την αντιμετώπιση της αναιμίας της λοχείας

Ειδικότερα σε αυτό το σκέλος της μελέτης, συμμετείχαν σαράντα γυναίκες, που χωρίστηκαν σε δύο ομάδες και οι οποίες δεν εμφάνιζαν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p<0,05$), όσον αφορά την ηλικία, τόκο (πίνακας.4), και των τιμών Hb,Ht,Ferr,ΔΕΚ, κατά την έναρξη της θεραπείας (πίνακας 5). Έγινε επίσης καταγραφή των τιμών της ΕΠΟ, Β12 και Fillicine (πίνακας 6) Στις ασθενείς που έλαβαν rHuEpo, παρατηρήθηκε αύξηση της τιμής της αιμοσφαιρίνης ήδη από την 3η ημέρα συνεχιζόμενη και την $15^{η}$, με μέση τιμή ανόδου 2 gr/dl (διάγρ. 1). Χαρακτηριστική είναι η αύξηση των ΔΕΚ (διάγρ. 2).Θεαματική ήταν η βελτίωση της γενικής κατάστασης των ασθενών της ομάδας rHuEPO. Αντίθετα στην ομάδα μαρτύρων παρατηρήθηκε αντίστοιχα μέση αύξηση της τιμής της αιμοσφαιρίνης κατά 0,7 gr/dl την $5^{η}$ μέρα ($P< 0,05$) (διαγρ 1). Από την πρώτη ομάδα δεν μεταγγίσθηκε καμία ασθενής, ενώ στην δεύτερη δύο, οι οποίες είχαν Hb < 6 gr/dl και αιμοδυναμικά συμπτώματα (πίνακας 7). Οι γυναίκες της πρώτης ομάδας είχαν στατιστικά μικρότερο χρόνο νοσοκομειακής παραμονής σε σύγκριση με την ομάδα μαρτύρων, η πρώτη ομάδα είχε μέση τιμή 11 μέρες με διάστημα 10-16 και η δεύτερη μέση τιμή 14 μέρες με διάστημα 11-19. ($P<0,05$). Στην ομάδα Α οι 19 γυναίκες θήλασαν ενώ στην ομάδα Β μόνο οι 10 ($\chi2= 10.1$, $P<0,01$). Δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες από την χορήγηση της rHuEpo.

Β.4.2. Αποτελεσματικότητα της χρήσης ανασυνδυασμένης ανθρώπινης ερυθροποιητίνης στη μικροδρεπανοκυτταρική αναιμία κατά τη διάρκεια της κύησης

Στο δεύτερο σκέλος της μελέτης συμμετείχαν δέκα εγκυμονούσες. Όλες είχαν καλή ανοχή στη χορήγηση του φαρμάκου και μόνο τρεις είχαν μια ήπια κρίση κατά την διάρκεια της κύησης. Η ήπια αύξηση της αιμοσφαιρίνης F όπως και της ολικής αιμοσφαιρίνης ελάττωσαν τις κρίσεις (Πίνακας 8). Οι βιοχημικοί προσδιορισμοί για έλεγχο της ηπατικής, νεφρικής λειτουργίας ήταν αρνητικοί. Σε φυσιολογικά επίπεδα κυμαίνονταν και η αρτηριακή πίεση. Όλες οι ασθενείς βελτίωσαν την κλινική τους εικόνα και ελάττωσαν σημαντικά την ανάγκη για μεταγγίσεις και χορήγησης φαρμάκων. Με μία μονάδα αίματος μεταγγίστηκαν τρεις ασθενείς με β^0 μετάλλαξη (ασθενής N 4,5,7), και άλλες τρεις ασθενείς (N 2,4,8) με β+ μετάλλαξη εμφάνισαν κρίση (πίνακας 8). Σε αντίθεση οι πιο πολλές, στις προηγούμενες εγκυμοσύνες μεταγγίζονταν συστηματικά λόγω αναιμίας και δυνατών κρίσεων. Η διάμεση ηλικία κύησης κατά τον τοκετό ήταν 38 εβδομάδες στην ομάδα με την rHuEPO, ενώ στις προηγούμενες εγκυμοσύνες ήταν 36 εβδομάδες και επιπροσθέτως το μέσο βάρος γέννησης ήταν 3300 gr στην πρώτη ομάδα σε σύγκριση με την ομάδα μαρτύρων που ήταν 2500 gr. Η rHuEPO χορηγήθηκε από την $30^η$ εβδομάδα μέχρι 4 εβδομάδες μετά τον τοκετό. Η αύξηση της HbF ακολουθείται από μια μικρή αύξηση της ολικής Hb. Η A2Hb παρέμεινε σταθερή κατά την διάρκεια της χορήγησης, ενώ η HbS μειώθηκε λόγω της αύξησης της HbF. Πλατό της HbF παρατηρήθηκε μετά από τέσσερις εβδομάδες στις ασθενείς και ήταν ψηλότερα συγκρινόμενα με τις τιμές της $30^η$ εβδομάδας. Παρατηρήθηκε αύξηση των δεικτών MCV, MCH αλλά δεν επηρεάσθηκε καθόλου το MCHC. Τα RBC αυξήθηκαν αισθητά. Οι 2 ασθενείς με την υψηλότερη αύξηση της HbF ήταν ετερώζυγες XmnI-158Gγ. Η παρουσία λοιπόν του XmnI-158Gγ πολυμορφισμού ερευνήθηκε γιατί είναι πολύ στενή η σχέση μεταξύ της παρουσίας του και της μεγαλύτερης αύξησης της HbF, καθώς και ελαχιστοποίηση των

επιπλοκών κατά την διάρκεια της κύησης. Έτσι θα πρέπει να αναζητείται η παρουσία του πολυμορφισμού αυτού για να χρησιμοποιείται σαν προγνωστικός παράγων της πάθησης. Δεν καταγράφηκαν εμβρυϊκή προωρότητα ούτε περιγεννητικές επιπλοκές, στις ασθενείς μας πού χορηγήσαμε rHuEPO, σε αντίθεση με πολλές αναφορές στην διεθνή βιβλιογραφία των ασθενών αυτών για βαριές περιγεννητικές επιπλοκές και προωρότητα. Η μέση ηλικία κύησης κατά τον τοκετό στην ομάδα μας ήταν 38 εβδομάδες ενώ στην ομάδα μαρτύρων ήταν 36 εβδομάδες. Επιπροσθέτως και το βάρος γέννησης ήταν υψηλότερο. Φυσικά το νούμερο των ασθενών είναι μικρό για να βγουν ασφαλή συμπεράσματα, παρόλα αυτά η rHuEPO μειώνει την ανάγκη για μεταγγίσεις καθώς και τις επώδυνες κρίσεις κατά την διάρκεια της κύησης. Η σπουδαιότητα της μελέτης καταδεικνύεται από την αύξηση των επιπλοκών της μικροδρεπανοκυτταρικής αναιμίας κατά τη διάρκεια της κύησης με άμεση επίπτωση τόσο στην ίδια την μητέρα όσο και στο έμβρυο. Παρατηρείται αύξηση των επώδυνων κρίσεων προκαλώντας τον κατ' οίκον περιορισμό και την νοσηλεία , αύξηση της νεογνικής θνησιμότητας μέχρι 30%, αύξηση των αποβολών μέχρι 25%, αυξημένη ανάγκη μεταγγίσεων και όλων των κινδύνων που μπορεί να προκύψουν. Έτσι η έγκαιρη χορήγηση της rHuEPO προφυλάσσει από αυτούς τους κινδύνους.

Β.4.3. Θεραπεία της αναιμίας της κύησης με rhuepo σε έγκυες με ενδιάμεση β-μεσογειακή αναιμία

Στο τρίτο σκέλος της μελέτης μας συμμετείχαν έγκυες με ενδιάμεση Μ.Α. που προσήλθαν με επηρεασμένη την κλινική τους εικόνα (Διάμεση τιμή Hb=8,2g/dl, Ht=26 %). Παρατηρήθηκε επιδείνωση κατά την 28η εβδομάδα κύησης (Διάμεση τιμή Hb=6.8 g/dl, Ht=21.1%, και εμφάνιση εμβοών αδυναμία κεφαλαλγία σε τρεις από τις εγκύους). Από τη 1η κιόλας εβδομάδα χορήγησης της rHuEPO εμφανίστηκε αύξηση των ΔΕΚ (Διάγραμμα 3). Επίσης παρατηρήθηκε μία προοδευτική αύξηση των τιμών της Hb και του Ht. Την 34η εβδομάδα κύησης οι ασθενείς είχαν μέση Hb=9,7 g/dl και Ht=31 % και την 38 εβδομάδα είχαν μέση Hb=9,8 g/dl και Ht=32% και καλή γενική κατάσταση (Διάγραμμα 3). Το μέσο βάρος γέννησης ήταν 3266gr και ο τρόπος τοκετού φαίνεται στον πίνακα 9. Ούτε κατά τη διάρκεια της λοχείας χρειάστηκαν οι ασθενείς μεταγγίσεις, αλλά συνεχίστηκε η χορήγηση rHuEPO, Fe και φυλλικού οξέος. Δεν παρουσιάστηκαν παρενέργειες από τη χορήγηση rHuEPO. Η ενδογενής ΕΠΟ είναι στους πάσχοντες από ενδιάμεση β-μεσογειακή αναιμία σε ψηλότερα επίπεδα από ότι στον υπόλοιπο πληθυσμό. Έτσι σε τέσσερις ασθενείς μας η ενδογενής ΕΠΟ ήταν <150 IU γεγονός που ενθάρρυνε την χορήγηση rHuEPO. Παρατηρήθηκε αύξηση της HbF, σε όλες τις ασθενείς. Στις εβδομάδες 36η-37η μέση Hb ήταν 9,6-9,7 g/dl. Το πλατό της Hb ήταν στην 36η εβδομάδα του οποίου προηγήθηκε αύξηση της HbF, ΔΕΚ, και μείωση στον σίδηρο ορού. Η HbF αυξήθηκε κατά 30% Και οι πέντε έγκυες αναφέρουν μια αύξηση στην ενέργεια και την όρεξη από την 2η εβδομάδα θεραπείας. Δεν υπήρξαν σημαντικές μεταβολές στα λευκά αιμοσφαίρια, αιμοπετάλια, μόνο στα ΔΕΚ, εμπύρηνα ερυθροκύτταρα και στους ερυθροκυτταρικούς δείκτες κατά την διάρκεια χορήγηση rHuEpo. Τα επίπεδα Hb των ασθενών παρέμειναν στην βασική τιμή και μετά την διακοπή της rHuEpo. Οι ασθενείς δεν είχαν καμία παρενέργεια σε όλη την διάρκεια της περιόδου μία ασθενής έπαθε μια ιογενή λοίμωξη η οποία πιθανώς είχε ως αποτέλεσμα προσωρινή μείωση

στους ερυθροποιητικούς παράγοντες. Η ασθενής είχε μετωπιαία και κρανιακή κεφαλαλγία και άλγος στην ποδοκνημική και πόνο που ξεκινούσε λίγες ώρες μετά την χορήγηση της rHuEpo και διαρκούσε από λίγες ώρες ως αρκετές ημέρες. Όλα αυτά τα σημεία και συμπτώματα υποχώρησαν και δεν υπήρχαν στις τελευταίες 4 δόσεις rHuEpo. Ήταν εξαιρετικά δύσκολο να κριθεί, αλλά οι ασθενείς αισθάνονταν καλύτερα κατά την διάρκεια της χορήγησης rHuEpo από τα ατομικά τους σχόλια.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4

ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΕΧΩΙΔΩΝ

No ΓΥΝΑΙΚΩΝ	N=20	N=20	P<0, 01
ΟΜΑΔΕΣ	Ομάδα ΕΠΟ	Ομάδα μαρτύρων	
ΗΛΙΚΙΑ μέσος διάστημα	 25 19-44	 24 18-37	 N.S
ΤΟΚΟΣ μέσος διάστημα	 1,7 1-4	 1,8 1-4	 N.S.
ΚΥΗΣΗ μέσος διάστημα	 38 36-41	 38 36-41	 N.S.

N.S.= μη στατιστικά σημαντικό

ΠΙΝΑΚΑΣ 5

ΤΙΜΕΣ FE ΚΑΙ ΦΕΡΡΙΤΙΝΗΣ ΤΗΝ 1, 5, 15 ΗΜΕΡΑ ΛΟΧΕΙΑΣ

ΗΜΕΡΕΣ	ομάδα ΕΠΟ Fe (μg/dl)	ομάδα μαρτύρων Fe (μg/dl)	P<0,001	ομάδα ΕΠΟ Φερριτίνη (ng/ml)	Ομάδα μαρτύρων Φερριτίνη (ng/ml)	P<0,01
1η ημέρα						
μέσος	83	87	N.S.	43	40	N.S.
διάστημα	40-101	42-105		31-67	30-65	
5η ημέρα						
μέσος	60	64	N.S.	22	38	P<0,01
διάστημα	33-82	35-90	.	10-32	28-45	
15ηημέρα						
μέσος	67	70	N.S.	30	48	P<0,01
διάστημα	35-90	36-96		20-55	30-69	

N.S. =μη στατιστικά σημαντικό

ΠΙΝΑΚΑΣ 6

ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΠΟ, B_{12}, ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

	Ομάδα ΕΠΟ	Ομάδα μαρτύρων	P<0,01
ΕΠΟ (mU/ml)			
μέσος	30	32	N.S.
διάστημα	11-36	10-38	
B_{12} (pg/ml)			
μέσος	275	285	N.S.
διάστημα	230-750	225-810	
ΦΥΛΛΙΚΟ ΟΞΥ (ng/ml)			
μέσος	12,5	12,9	N.S.
διάστημα	8-20	7-20	

N.S. =μη στατιστικά σημαντικό

ΠΙΝΑΚΑΣ 7

ΜΕΤΑΓΓΙΣΕΙΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΛΟΧΕΙΑΣ

	Ομάδα ΕΠΟ	Ομάδα μαρτύρων
Μεταγγίσεις	καμία	2
Μονάδες αίματος	καμία	6

ΠΙΝΑΚΑΣ 8

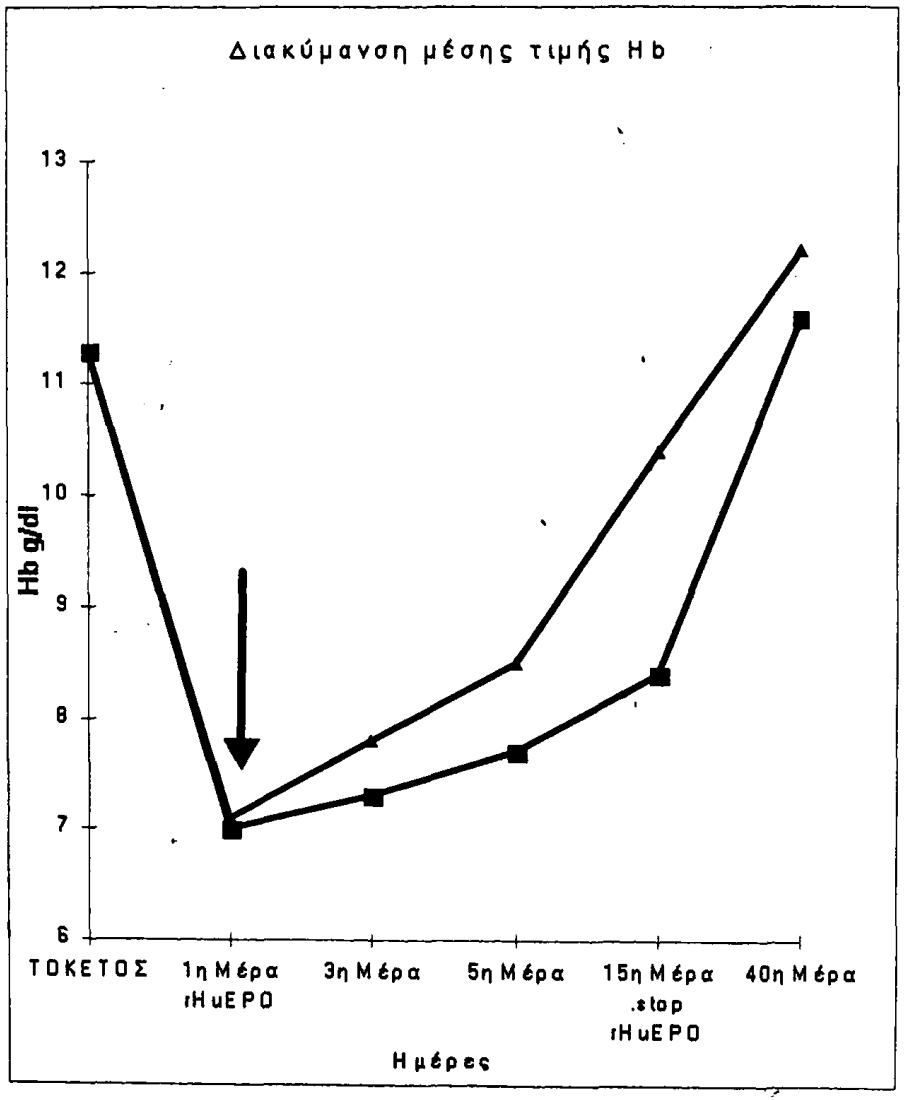
ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ Μ/Δ ΑΝΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΚΥΗΣΗ

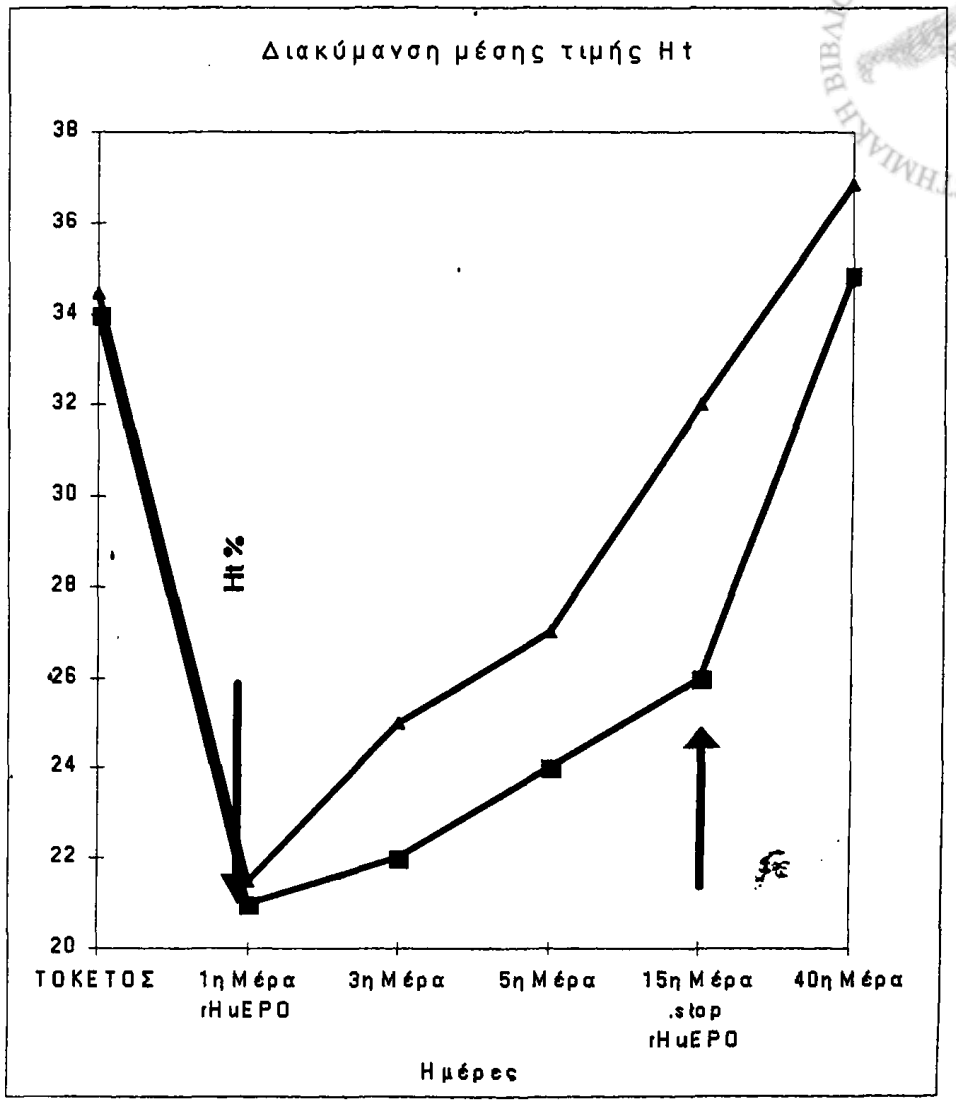
No	ΗΛΙΚΙΑ	ΕΠΟΔΥΝΕΣ ΚΡΙΣΕΙΣ		ΜΟΝΑΔΕ ΑΙΜΑΤΟΣ		β-ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙ	ΠΑΡΟΥΣΙ Xmnl	ΥΠΟ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΕΠΟ		ΠΡΟΗ/ΝΙ ΓΚΥ/ΜΝΕΣ	
		ΠΡΟΗ/ΜΕΝΕΣ ΕΓΚΥΜ/ΝΕΣ	ΘΕΡΑΠΕΙ ΕΠΟ	ΠΡΟΗ/ΓΝΕΣ ΕΓΚΥΜ/ΝΕΣ	ΘΕΡΑΠΕΙ/ ΕΠΟ			ΕΒΔΟΜΑΔΑ/ ΤΟΚΕΤΟΥ	ΒΑΡΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗ	ΕΒΔΟΜΑΔ ΤΟΚΕΤΟ	ΒΑΡΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ
1	18	1-2	-	1-2 / μήνα	-	IVSI-110	+/-	39	4000	24	850
2	23	2-3	1	1-2 / μήνα	-	IVSI-110	+/-	38	3280	38	2500
3	35	1-2	--	1-2 / μήνα	-	IVSI-6	+/-	40	3760	35	2670
4	30	2-3	-2	2-3 / μήνα	ΜΙΑΣ	CD39	+/-	38	3000	37	2980
5	40	3-4	-	2-3 / μήνα	ΜΙΑΣ	IVSI-1	+/-	38	3100	39	3350
6	36	1-2	--	1-2 / μήνα	-	IVSI-110	+/-	39	3850	36	2840
7	35	1-2	--	1-2 / μήνα	-	IVSI-6	+/-	39	3050	37	3000
8	34	2-3	1	1-2 / μήνα	-	IVSI-110	+/-	38	2650	38	2500
9	30	2-3	-	2-3 / μήνα	ΜΙΑΣ	CD39	+/-	37	2950	37	2900
10	37	3-4	-	2-3 / μήνα		IVSI-110	+/-	38	3150	39	3450
10								38	3300gr	36	2500gr

ΠΙΝΑΚΑΣ 9

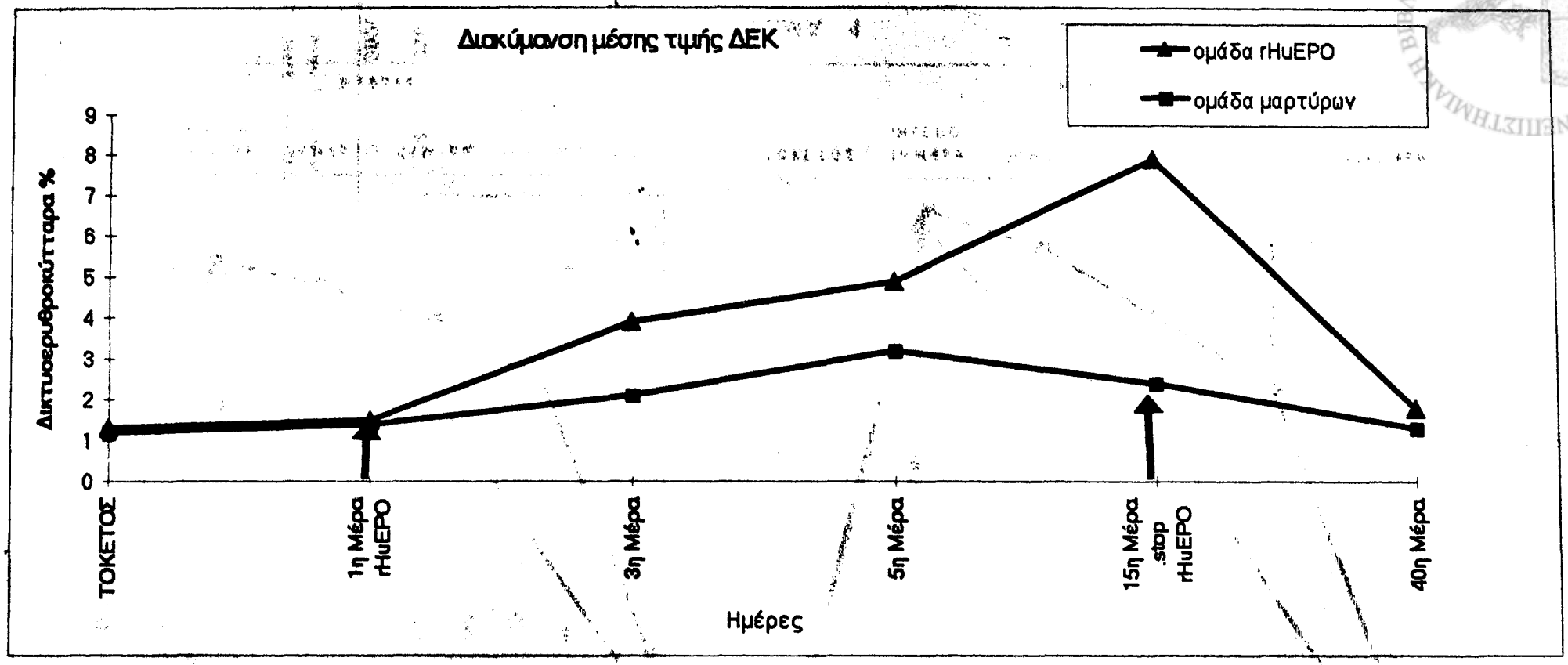
ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΕΝΔΙΑΜΕΣΗ β-ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΚΥΗΣΗ

No	ΗΛΙΚΙΑ	ΤΟΚΟΣ	ΤΡΟΠΟΣ ΤΟΚΕΤΟΥ	πριν θεραπεία ΕΠΟ	μετά θεραπεία ΕΠΟ	β-ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ	ΠΑΡΟΥΣΙΑ Xmnt	ΕΒΔΟΜΑΔΑ ΤΟΚΕΤΟΥ	ΒΑΡΟΣ ΓΕΝ/ΗΣ
1	18	I	ΦΤ	120	300	IVS1-110/ IVS1-6	+/-	39	3950
2	23	II	ΚΤ	210	290	δβ-Corfu/ CD6	+/-	38	3280
3	35	II	ΦΤ	140	260	IVS1-110/ IVS1-6	+/-	40	3750
4	30	II	ΚΤ	130	210	δβ-Sic-/ δβ-Sic	-/-	37	2250
5	40	III	ΦΤ	85	205	IVS1-6 / CD39	+/-	38	3100
		2	60/40%	155	253			38 w	3266 gr

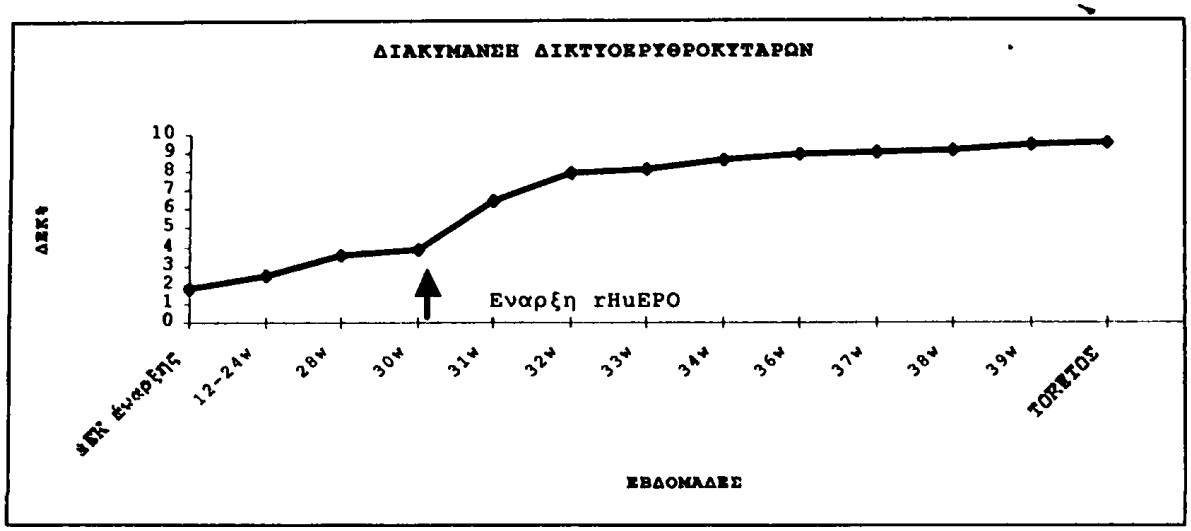


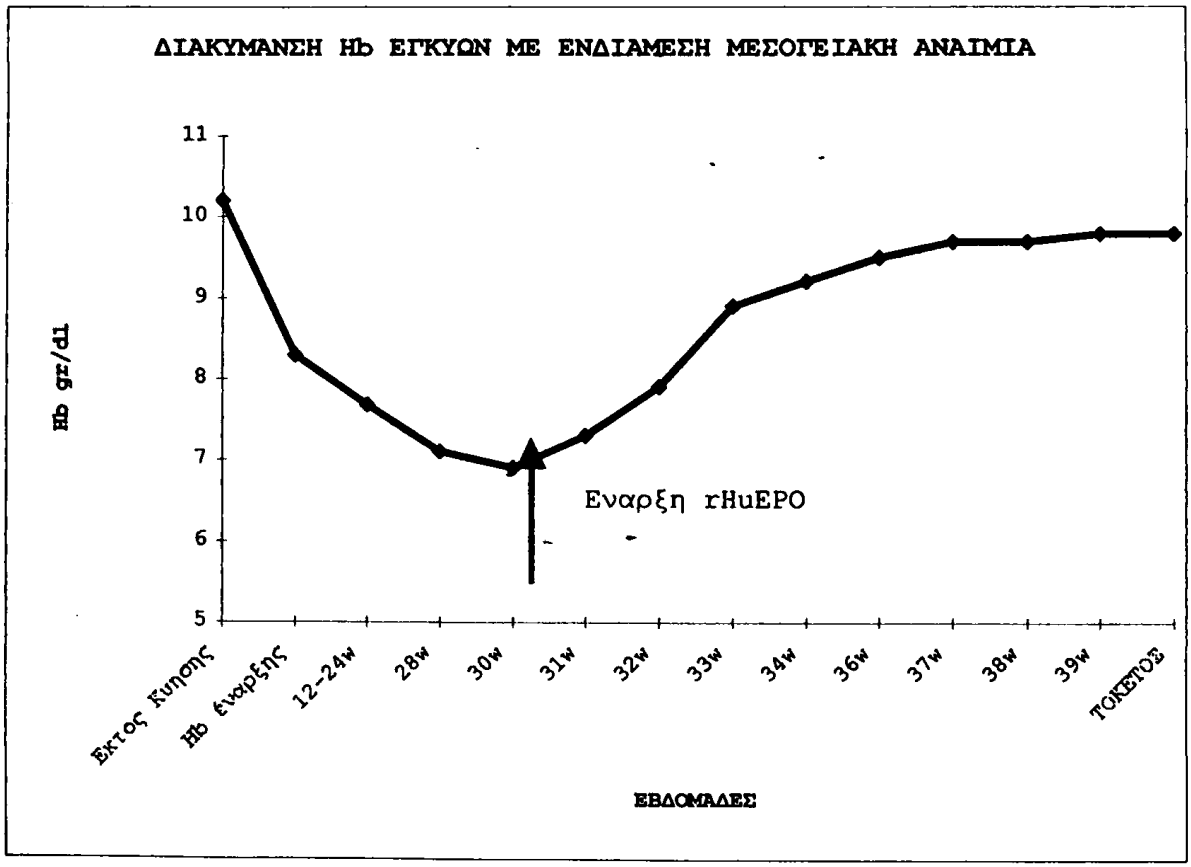


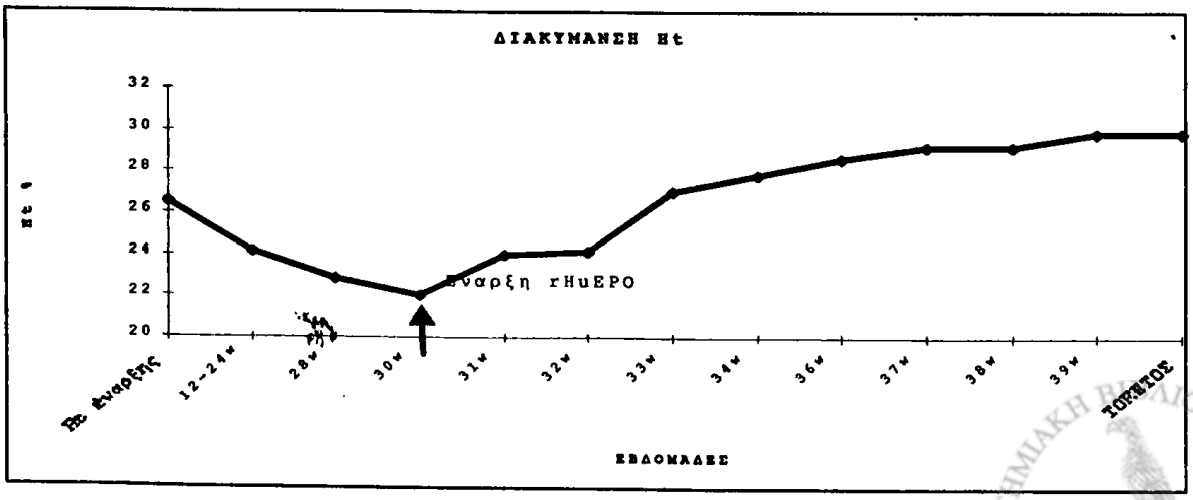
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 2







ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 3

Γ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα τη παρούσας μελέτης καταδεικνύουν ότι η χορήγηση s.c. rHuEpo σε μεγάλες δόσεις βοηθάει αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση της αναιμίας της κύησης και της λοχείας, προκαλώντας, στατιστικά σημαντική αύξηση των ΔΕΚ και των συγκεντρώσεων της αιμοσφαιρίνης, αιματοκρίτη με αποτέλεσμα την αποφυγή των μεταγγίσεων και των κινδύνων που συνεπάγονται. Τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες στις οποίες χορηγήθηκε rHuEPO για την θεραπεία της αναιμίας διαφόρων αιτιολογιών [109-111]. Σε αυτή την μελέτη, όπως και σε άλλες με παρόμοιες δόσεις rHuEPO, δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες.

Ειδικότερα στο πρώτο σκέλος της μελέτης, στην ομάδα Α, παρατηρήθηκε, ήδη από την 3η μέρα της λοχείας, ανοδική τάση των αιματολογικών δεικτών, γεγονός που αντικατοπτρίζει την καλύτερη φυσική κατάσταση αυτών των ασθενών. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς αυτής της ομάδας είχαν, στατιστικά σημαντικά, μικρότερη νοσοκομειακή παραμονή και επίσης όλες οι λεχώνες, εκτός από μία, θήλασαν τα μωρά τους, γεγονός που στην ομάδα ελέγχου έκαναν μόνο οι μισές. Ο αριθμός των περιπτώσεων είναι φυσικά μικρός για να βγουν οριστικά συμπεράσματα, αλλά είναι σημαντικό ότι καμία γυναίκα δεν μεταγγίστηκε από την ομάδα Α, ενώ από την ομάδα ελέγχου μεταγγίστηκαν δύο. Γενικά ο κίνδυνος ιογενών νοσημάτων και αλλοανοσίας μας οδηγεί στην ελαχιστοποίηση των μεταγγίσεων. Έτσι, λόγω αυτών των υπαρκτών κινδύνων, όλο και περισσότεροι ασθενείς με αναιμία αρνούνται να κάνουν μετάγγιση και αν συνυπολογίσουμε και τους ασθενείς αυτούς που για θρησκευτικούς λόγους αρνούνται, τότε η μόνη εναλλακτική λύση, είναι η χρήση της rHuEPO. Αρχικά η rHuEPO χρησιμοποιήθηκε για την αναιμία των χρόνιων νεφροπαθών και στην συνέχεια για αναιμίες χρόνιων παθήσεων, αλλά λόγω του υψηλού κόστους θεραπείας δεν προτείνεται[106,115]. Αντίθετα προτείνουμε στην αναιμία της λοχείας την χρήση της rHuEPO, γιατί δεν έχει τόσο υψηλό κόστος, λόγω της μικρής διάρκειας θεραπείας. Και σε άλλες μελέτες έχει χορηγηθεί rHuEPO στην

λοχεία, αλλά εμείς προτείνουμε την υποδόρια χορήγηση και μάλιστα για 5 ημέρες σε ήπιες αναιμίες και για 15 ημέρες σε βαρύτερες περιπτώσεις[107]. Από την καταγραφή των αιματολογικών δεικτών την 3η, 5η, 15η, 40η ημέρα, διαπιστώθηκε ότι τα ΔΕΚ αυξάνονταν μέχρι και την 15η ημέρα στην Α ομάδα, ενώ στην ομάδα ελέγχου, μια μικρή αύξηση παρατηρήθηκε τις πρώτες 5 ημέρες και στην συνέχεια επανήλθαν τα ΔΕΚ στα προηγούμενα επίπεδα, την 40η ημέρα (Διάγραμμα 1). Η αύξηση των ΔΕΚ στις γυναίκες που έλαβαν rHuEPO δηλώνει την αυξημένη ερυθροποίηση. Οι χαμηλές τιμές της φερριτίνης και στις δύο ομάδες υποδεικνύουν την ανάγκη για συμπληρωματική χορήγηση σιδήρου ειδικότερα στην ομάδα Α όπου για να είναι αποτελεσματική η rHuEPO απαιτείται σίδηρος (πίνακας 5). Πολλές λεχώνες εμφανίζουν έντονη καταβολή και stress κατά την λοχεία, αλλά παρατηρήσαμε ότι στις γυναίκες που χορηγήθηκε η rHuEPO, παρουσίασαν βελτίωση της διάθεσής τους, γεγονός που αποδόθηκε στην θετική ψυχοτρόπο δράση του φαρμάκου. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα και την γρήγορη κινητοποίηση τους, δηλαδή είχαμε βελτίωση της ποιότητας ζωής. Φυσικά μια προσεκτική διπλή-τυφλή placebo-control μελέτη θα μπορούσε να ελέγξει αυτά τα αποτελέσματα.

Στο δεύτερο σκέλος, μελετήσαμε την μικροδρεπανοκυτταρική αναιμία, που αποτελεί ένα σοβαρό πρόβλημα για την ελληνική κοινωνία, γιατί η παρουσία της στο μεσογειακό πληθυσμό δεν είναι σπάνια, με αποτέλεσμα τη μακροχρόνια και εντατική ενασχόληση του πάσχοντος και της οικογένειάς του, για την αντιμετώπιση των επιπλοκών της νόσου. Οι πάσχοντες κατά τη διάρκεια της κύησης έχουν αυξημένο κίνδυνο, που προσδιορίζεται τόσο στο έμβρυο όσο και στην ίδια τη μητέρα. Η μέχρι πρότινος θεραπεία εκλογής των επιπλοκών της μικροδρεπανοκυτταρικής αναιμίας ήταν οι μεταγγίσεις. Αλλά σήμερα είναι επιτακτική η ανάγκη για άλλη εναλλακτική λύση. Για την θεραπεία της μικροδρεπανοκυτταρικής αναιμίας χρησιμοποιούνται και άλλα φάρμακα, με σκοπό την επαγωγή της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης. Η χορήγηση αυτών των φαρμάκων και η γονιδιακή παρέμβαση σε ασθενείς με αιμοσφαιρινοπάθειες έχουν αποτελέσει τα τελευταία χρόνια σημαντικές προσεγγίσεις στη θεραπεία των νόσων αυτών. Τέτοια φάρμακα είναι τα κυτταροστατικά, 5-Azacytidine, cytorabine, vinblastine, υδροξυουρία και arginine bytyrate,

τα οποία όμως, έχουν πλήθος ανεπιθύμητων ενεργειών και αντενδείκνυνται στην κύηση [116,117]. Η μετάγγιση αίματος που ήταν η μέχρι σήμερα θεραπεία εκλογής των ασθενών αυτών, αποτελεί ένα πολύ λεπτό ζήτημα για όλες τις προηγμένες χώρες τα τελευταία χρόνια, καθώς παρά τους αυστηρούς ελέγχους, δεν έχουν εξαλειφθεί πλήρως οι κίνδυνοι μετάδοσης λοιμωδών νοσημάτων, κυρίως της ηπατίτιδας και του AIDS [102,118]. Οι κίνδυνοι μόλυνσης λόγω μετάγγισης αναφέρεται διεθνώς ότι είναι ως προς την ηπατίτιδα 1:3000 φιάλες αίματος και ως προς το AIDS 1:200.000 φιάλες αίματος [102,117,119]. Στην Ελλάδα εκτιμάται ότι οι κίνδυνοι είναι αυξημένοι λόγω της ευκαιριακής προσφοράς αίματος. Οι κίνδυνοι αυτοί είναι πολύ μεγαλύτεροι για τα πολυμεταγγιζόμενα άτομα. Για όλους αυτούς τους λόγους, προτείνουμε την χρησιμοποίηση της rHuEPO. Δεν καταγράφηκαν ούτε εμβρυϊκή προωρότητα ούτε περιγεννητικές επιπλοκές, στις ασθενείς πού χορηγήσαμε rHuEPO, σε αντίθεση με τις βαριές επιπλοκές που αναφέρονται στην διεθνή βιβλιογραφία για τους ασθενείς αυτούς [119,120]. Η μέση ηλικία κύησης κατά τον τοκετό στην ομάδα της Μ/Δ ήταν 38 εβδομάδες ενώ στην ομάδα ελέγχου ήταν 36 εβδομάδες. Επιπροσθέτως και το βάρος γέννησης ήταν υψηλότερο. Φυσικά ο αριθμός των ασθενών είναι μικρός για να βγουν ασφαλή συμπεράσματα, παρόλα αυτά η rHuEPO μειώνει την ανάγκη για μεταγγίσεις καθώς και τις επώδυνες κρίσεις κατά την διάρκεια της κύησης. Η έναρξη της θεραπείας έγινε το τρίτο τρίμηνο της κύησης για δύο λόγους. Πρώτον για να ελαχιστοποιήσουμε την πιθανότητα να προκληθεί βλάβη στο έμβρυο και δεύτερον για να παρακολουθήσουμε τις κλινικές εκδηλώσεις στις ίδιες γυναίκες κατά την κύηση χωρίς την rHuEPO και μετά την χορήγησή της. Η ερυθροποιητίνη προκαλεί διέγερση και επαγωγή άωρων μορφών ερυθροκυττάρων τα οποία παράγουν HbF η οποία με την σειρά της παρατείνει την ζωή των ερυθροκυττάρων γιατί αναστέλλει τον πολυμερισμό της HbS [121]. Ο ακριβής μοριακός μηχανισμός δεν είναι απόλυτα εξακριβωμένος, αλλά η υψηλή HbF έχει προστατευτική δράση και βελτιώνει την κλινική εικόνα των ασθενών με Μ/Δκυτταρική αναιμία [122]. Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκε τόσο μεγάλη αύξηση της HbF όπως παρατηρείτε σε μη έγκυες ασθενείς που λαμβάνουν rHuEPO. Αυτό ίσως να οφείλεται στην χαμηλή δόση που χορηγήσαμε στην κύηση

καθώς επίσης μπορεί να παίζει ρόλο και η ηλικία καθώς νέοι ασθενείς αντιδρούν στην χορήγηση της rHuEPO με πολύ υψηλά επίπεδα HbF [123]. Παρόλα αυτά η αύξηση που παρατηρήθηκε και στις έγκυες ασθενείς είχε σαν αποτέλεσμα την ελάττωση των επώδυνων κρίσεων και βελτίωση της κλινικής εικόνας των εγκύων μας. Οι 2 ασθενείς με την υψηλότερη αύξηση της HbF ήταν ετερώζυγες Xmnl-158Gγ. Η παρουσία λοιπόν του Xmnl-158Gγ πολυμορφισμού ερευνήθηκε γιατί είναι πολύ στενή η σχέση μεταξύ της παρουσίας του και της μεγαλύτερης αύξησης της HbF, καθώς και ελαχιστοποίηση των επιπλοκών κατά την διάρκεια της κύησης. Έτσι θα πρέπει να αναζητείται η παρουσία του πολυμορφισμού αυτού για να χρησιμοποιείται σαν προγνωστικός παράγων της απάντησης των ασθενών στην rHuEPO. Η rHuEpo ενισχύει την εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη F (HbF) η οποία αντιπροσωπεύει μια απ' ευθείας προσέγγιση στην μείωση τόσο των διαταραχών των σφαιρινών όσο και της αναποτελεσματικής ερυθροποίησης [124]. Κυτταροτοξικά φάρμακα, έχει δειχθεί ότι ενισχύουν την σύνθεση HbF σε ζώα και σε ασθενείς με β-μεσογειακή αναιμία, αλλά απαγορεύονται στην κύηση ενώ, η rHuEpo έχει δειχθεί ότι αυξάνει την σύνθεση HbF σε baboons καί σε ποντίκια με κλινικά και βιολογικά χαρακτηριστικά παρόμοια με αυτά της ανθρώπινης ενδιάμεσης β-θαλασσαιμίας. Η rHuEpo προκάλεσε επαγωγή της Hb και Ht και της αναλογίας σύνθεσης β προς α σφαιρινών, μείωση της απτοσφαιρίνης στην κυτταρική μεμβράνη και ομαλοποίηση των ανωμαλιών του κυτταρικού σχήματος [123-125]. Βασιζόμενοι στις μελέτες και γνωρίζοντας ότι η rHuEpo δεν διαπερνά τον πλακούντα, χορηγήσαμε rHuEpo σε ασθενείς με ενδιάμεση β-μεσογειακή αναιμία για να αυξήσουμε την συγκέντρωση Hb. Τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι υπάρχει κάποια δράση τη rHuEpo στο επίπεδο της κυτταρικής μεμβράνης, έτσι ώστε να περιορίζει την αναποτελεσματική ερυθροποίηση, να αυξάνει τον χρόνο ζωής των ερυθροκυττάρων και να μειώνει την ενδαγγειακή αιμόλυση. Η επέκταση του μυελού των οστών και η συνδεδεμένη φλοιώδης καταστροφή και συμπίεση νεύρων αποτελεί τουλάχιστον θεωρητικό κίνδυνο σε ασθενείς με μεσογειακή αναιμία που λαμβάνουν rHuEpo και εξωμυελική αιμοποίηση περιορίζεται σε αύξηση της Hb [126].

Στην αναιμία της κύησης σε ασθενείς με ενδιάμεση μορφή β-ΜΑ φαίνεται ότι η χορήγηση rHuEPO, διορθώνει σημαντικά την αναιμία σε

συνδυασμό με Fe και φυλλικό οξύ, βελτιώνει την ποιότητα ζωής της εγκύου, αποφεύγονται οι μεταγγίσεις αίματος και οι κίνδυνοι που εγκυμονεί μια τέτοια ενέργεια. Η αύξηση στην Hb που προκαλείται από την χορήγηση rHuEpo σε ασθενείς με ενδιάμεση μεσογειακή αναιμία, υποδεικνύει ότι η rHuEpo πρέπει να επανεκτιμηθεί σε μεγαλύτερη μελέτη για να καθοριστούν οι δυνητικές χρήσεις στην μακροπρόθεσμη θεραπεία της ενδιάμεσης ΜΑ. Η χορήγηση ερυθροποιητίνης δεν προκάλεσε ουδεμία παρενέργεια. Χαμηλό επίπεδο Ερο στον ορό για το βαθμό της αναιμίας βρέθηκε και σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία. Δεν υπήρξαν σημαντικές αλλαγές, στον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων, αιμοπεταλίων, αλλά μόνο στο ποσοστό ΔΕΚ, νορμοβλαστών στο περιφερικό αίμα όπως και αλλαγές στους δείκτες των ερυθροκυττάρων (MCH, MCV, MCHC και RDW σε όλη την διάρκεια της περιόδου της δοκιμής). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην LDH και ουρικού οξέος που προσδιορίσθηκαν περισσότερο από 10 φορές πριν, κατά την διάρκεια και μετά την δοκιμή. Η φερριτίνη ορού έχει εύρος τιμών από 4 έως 12 ng/L στους ασθενείς δίχως να ακολουθούν ένα συγκεκριμένο τρόπο. Στους ασθενείς τα επίπεδα της φερριτίνης πριν την θεραπεία αυξήθηκαν σταδιακά από 5 ng/L σε 12 ng/L κατά μέσο όρο, ενώ τα επίπεδα σιδήρου στον ορό μειώθηκαν από 130 σε 70 μg/L με ανάλογες αυξήσεις στην σιδηροδεσμευτική ικανότητα του ορού. Η ηπατική και νεφρική λειτουργία παρέμειναν αμετάβλητες σε όλη τη διάρκεια της χορήγησης rHuEpo.

Πολλά ερωτήματα παραμένουν αναπάντητα, κυρίως ως προς την αποτελεσματική δοσολογία, το σχήμα, και τον τρόπο χορήγησης, για να πετύχουμε το μεγαλύτερο και διαρκέστερο αποτέλεσμα. Είχε προταθεί ότι η rHuEpo βοηθάει μόνο σε ασθενείς στους οποίους η ενδογενή Ερο ήταν λιγότερη από 500 mU/mL, αλλά μια πρόσφατη εργασία περιέγραφε ένα εξαιρετικά εντυπωσιακό αποτέλεσμα της rHuEpo, σε ασθενείς με αναιμία συνδεδεμένη με HIV όταν τα αρχικά επίπεδα ορού ήταν 1340 mU/mL [112]. Είναι ενδιαφέρον ακόμη ότι οι ασθενείς οι οποίοι είχαν τα χαμηλότερα ενδογενή επίπεδα Ερο φαίνεται να απαντούν καλύτερα από τους άλλους ασθενείς των οποίων τα μέσα επίπεδα τιμών ήταν υψηλά. Το ερώτημα για την επίδραση της Ερο στον μεταβολισμό σιδήρου σε αυτούς τους σιδηροφορτωμένους ασθενείς δεν έχει απαντηθεί. Ο σίδηρος

που είναι αποθηκευμένος σε ιστούς δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την σύνθεση RBC και η συμπληρωματική χορήγηση Fe μπορεί να είναι απαραίτητη. Ένα άλλο ενδιαφέρον σημείο είναι το ποιες θα μπορούσαν να είναι οι μακροπρόθεσμες παρενέργειες στη δομή των οστών μετά την χορήγηση. Αυτές οι ερωτήσεις όπως και η ερώτηση της πιθανής συνεχούς επίδρασης της rHuEpo, θα πρέπει να απαντηθεί στο μέλλον με ελεγχόμενες διπλές τυφλές μελέτες σε μεγάλο αριθμό προσεκτικά επιλεγμένων ασθενών.

Επειδή οι κλινικές χρήσεις της rHuEpo συνεχώς διευρύνονται και το κόστος είναι αυξημένο, είναι απαραίτητο να ορίσουμε μια ορθολογική προσέγγιση με το να αναγνωρίζουμε προγνωστικούς παράγοντες και δείκτες απάντησης. " Υποψήφια" για αυτούς τους ρόλους φαίνεται να είναι τα επίπεδα ορού EPO, οι υποδοχείς τρανσφερίνης ορού (TFR) ο αριθμός ΔΕΚ, και το ποσοστό των υπόχρωμων ερυθροκυττάρων. Όλοι αυτοί οι έχουν το πλεονέκτημα να είναι απλοί.

Τα υπάρχοντα στοιχεία δείχνουν ότι, όταν η συσκευή που παράγει ερυθροποιητίνη στο νεφρό είναι αποτελεσματική, τα επίπεδα της ΕΠΟ ορού αυξάνουν όσο ο αιματοκρίτης μειώνεται [128]. Συνεπώς η ερυθροποιητίνη ορού πρέπει να αξιολογείται σε συσχέτιση με το βαθμό της αναιμίας. Το ποσό της ερυθροποιητίνης που θα πρέπει να χορηγείται για να αντιμετωπίζεται η αναιμία, θα πρέπει να αντιστοιχεί στην ποσότητα της EPO που εκκρίνεται σαν απάντηση στον βαθμό της αναιμίας, και αυτό μπορεί να εκτιμηθεί γραφικά ή μέσω του κλάσματος παρατηρούμενης προς προβλεπόμενης αναιμίας. Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι μειωμένη παραγωγή EPO, είναι η αιτία της αναιμίας σε διάφορες διαταραχές και αυτό αποτελεί μια ορθολογική βάση για την θεραπεία αυτών των καταστάσεων με rHuEpo [128,129]. Στην δική μας κλινική μελέτη, χαμηλά επίπεδα κλάσματος παρατηρούμενης προς προβλεπόμενης αναιμίας βρέθηκε να είναι καλός προγνωστικός δείκτης.

Η μέτρηση κυκλοφορούντων υποδοχέων τρανσφερίνης (TFR), είναι πολύ απλή, μη επεμβατική μέθοδος, προσδιορισμού συνολικής δραστηριότητας του ερυθρού μυελού, σε κλινικό επίπεδο. Είναι ιδανική για διαδοχικές μετρήσεις, που χρειάζονται για τον έλεγχο της ερυθροποιητικής απάντησης στην rHuEpo. Επιπλέον οι κυκλοφορούντες TFR φαίνεται να είναι αξιόπιστος δείκτης εκτίμησης της απάντησης στην

μελέτη μας, όπως και σε άλλες μελέτες με αναιμία μη νεφρικής αιτιολογίας [96,108,111,112,118,130].

Οι επιδράσεις της rHuEpo στον ερυθροποιητικό μυελό μπορεί να γίνει μετρώντας τα ΔΕΚ. Η μέτρηση μπορεί να γίνει με συμβατικό τρόπο, αλλά μπορεί να προσδιοριστεί και με κυτταρομετρία ροής και με αυτή τη μέθοδο, διαφορετικοί πληθυσμοί ΔΕΚ, μπορούν να αναγνωρισθούν. Υψηλό κλάσμα ΔΕΚ που φθορίζουν (HFR) αντιπροσωπεύουν καινούργια RBC που μόλις απελευθερώθηκαν δηλαδή αποτελεσματική ερυθροποίηση και φαίνεται να είναι ιδιαίτερα χρήσιμα στην εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της rHuEpo [110,113,131].

Η συνδυασμένη χρήση των TFR ορού και η μέτρηση των ΔΕΚ επιτρέπει να αναγνωρίζονται οι ασθενείς στις οποίες η rHuEpo διεγείρει αναποτελεσματική ερυθροποίηση [132].

Ένα άλλο ζήτημα, είναι η ένδειξη για συμπληρωματική χορήγηση Fe, σε ασθενείς που λαμβάνουν rHuEpo και είναι ήδη φορτωμένοι με Fe. Εμείς χορηγήσαμε καθημερινά per os Fe, λόγω της άποψης, ότι ο δεσμευμένος με τους ιστούς Fe, είναι αποθηκευμένος με την μορφή της αδιάλυτης αιμοσιδηρίνης και πιθανώς, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην αύξηση των ερυθρών [131,132]. Η λειτουργική σιδηροπενία είναι ένα ζήτημα που ανακύπτει συχνά στην θεραπεία με rHuEpo. Αυτή η κατάσταση χαρακτηρίζεται από μειωμένο σίδηρο ορού(<50μg/dl) και κορεσμό τρανσφερίνης <16% και ένα φυσιολογικό έως υψηλό επίπεδο φερριτίνης ορού. Μια μειωμένη προμήθεια σιδήρου στον ερυθρό μυελό, μπορεί να μειώσει τη ερυθροποιητική απάντηση στην rHuEpo και να οδηγήσει λανθασμένα στο χαρακτηρισμό ασθενών ως μη ανταποκρινόμενοι στην θεραπεία, ενώ θα απαντούσαν μετά την διόρθωση της λειτουργικής σιδηροπενίας [127]. Για την ανίχνευση της λειτουργικής σιδηροπενίας, κατά την διάρκεια θεραπείας με EPO, χρησιμοποιούμε ένα αυτόματο αναλυτή αίματος και είναι δυνατόν να εκτιμήσουμε σε βάση ρουτίνας, το ποσοστό των υπόχρωμων ερυθροκυττάρων. Τα υπόχρωμα ερυθροκύτταρα φυσιολογικά είναι λιγότερο από 2.5%. Έτσι μια αύξηση πάνω από 10% κατά την θεραπεία με rHuEpo, δείχνει λειτουργική σιδηροπενία και συνεπώς την ανάγκη για συμπληρωματική θεραπεία με σίδηρο [128].

Επομένως μια λογική εργαστηριακή προσέγγιση του ασθενή που παίρνει rHuEpo πρέπει να περιλαμβάνει: την μέτρηση της ερυθροποιητίνης ως ένα μέτρο ενδογενούς παραγωγής, την μέτρηση των υποδοχέων τρανσφερίνης (TFR) ορού ως μέτρο της ολικής ερυθροποιητικής δραστηριότητας, μέτρηση ΔΕΚ σαν μέτρο αποτελεσματικής ερυθροποιητικής δραστηριότητας και μέτρηση των υπόχρωμων ερυθροκυττάρων σαν δείκτης λειτουργικής σιδηροπενίας.

Οι περισσότεροι ασθενείς που συμμετείχαν σε αυτές τις μελέτες, απάντησαν θετικά στην rHuEpo εξαλείφοντας έτσι την ανάγκη για μετάγγιση, Ένα άλλο μικρό ποσοστό δεν απάντησε στην χρήση της rHuEpo Πιθανώς οι λόγοι για την αναποτελεσματικότητα είναι η χαμηλή ανταπόκριση των BFU-E στην rHuEpo. Η αναιμία και η αναποτελεσματικότητα της rHuEpo μπορεί να οφείλεται σε διαταραχές του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου δηλαδή η έκφραση του υποδοχέα της EPO να έχει αλλοιωθεί [108]. Πιστεύουμε ότι η μειωμένη παραγωγή EPO είναι σημαντικός μηχανισμός αναιμίας στα διάφορα σύνδρομα και διαταραχές των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων και ασθενείς με αυτές τις καταστάσεις, δηλαδή με χαμηλά επίπεδα EPO, είναι πιο πιθανόν να απαντήσουν στην rHuEpo [87,90,93,129]. Ήταν εξαιρετικά δύσκολο να κριθεί η θετική ψυχοτρόπος δράση του φαρμάκου, αλλά οι ασθενείς αισθάνονταν καλύτερα κατά την διάρκεια της χορήγησης rHuEpo κρίνοντας από τα ατομικά τους σχόλια. Αυτό όμως θα πρέπει να απαντηθεί στο μέλλον με ελεγχόμενες διπλές τυφλές μελέτες σε μεγάλο αριθμό προσεκτικά επιλεγμένων ασθενών.

Άλλη μια σημαντική παρατήρηση αφορά την ανάλυση κόστους/όφελους. Στην Ελλάδα αυτό είναι πολύ δύσκολο να υπολογιστεί, αλλά από αμερικάνικη έρευνα υπολογίστηκε ότι σε έναν ασθενή το κόστος της θεραπείας rHuEpo είναι περίπου 100$ ανά 100 IU/kg ανά εβδομάδα. Από την άλλη μεριά το κόστος μιας μονάδας ερυθροκυττάρου είναι περίπου 200$ για το κοινωνικό σύνολο [108]. Η ταυτοποίηση αυτών των δυνητικών ασθενών που θα ανταποκριθούν στην θεραπεία, απαιτεί ένα συνδυασμό βιολογικών μελετών με κλινικές δοκιμές [76,77,131,133]. Στην δικιά μας μελέτη προτείνουμε την χρήση της rHuEPO γιατί την χορηγούμε για μικρό χρονικό διάστημα και σε χαμηλές δόσεις, γεγονός που μειώνει το κόστος. Επιπροσθέτως αν αναλογιστούμε την πιθανότητα

για μόλυνση (AIDS, ηπατιτίδων, κλπ), των νεαρών κατά πλειοψηφία γυναικών και τις επιπλοκές που μπορεί να εμφανισθούν, δεν τίθεται θέμα κόστους.

Σε αυτή την μελέτη, όπως και σε άλλες με παρόμοιες δόσεις rHuEPO δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες [109,113-115,131]. Η αρτηριακή πίεση διατηρήθηκε μέσα σε φυσιολογικά επίπεδα. Η νεφρική και η ηπατική λειτουργία έμειναν ανεπηρέαστες. Η άνοδος της αιμοσφαιρίνης και του αιματοκρίτη που παρατηρήθηκε σε μικρό σχετικά χρονικό διάστημα, βελτίωσε την κλινική εικόνα των ασθενών. Η χρήση της rHuEPO στην αναιμία της κύησης και της λοχείας, είχε θετικά αποτελέσματα και προτείνεται σαν θεραπεία της αναιμίας σε αυτό το ευαίσθητο κομμάτι της κοινωνίας.

Δ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η φυσιολογία της μητρικής και εμβρυϊκής ερυθροποίησης στην κύηση έδειξε, ότι η αιμοποίηση και ή διέγερσή της λαμβάνει χώρα σε δύο ξεχωριστές κυκλοφορίες. Η ερυθροποιητίνη φαίνεται να είναι ο κύριος επαγωγέας τόσο στην μητέρα όσο και στο έμβρυο. Ο πλακούντας αποτελεί φραγμό τόσο για την ενδογενή όσο και για την ανασυνδυασμένη ερυθροποιητίνη, γεγονός που είναι θεμελιώδες για την χρήση της rHuEPO στην κύηση. Η επίπτωση της μητρικής αναιμίας στην κύηση, αλλά και στην λοχεία είναι υψηλή. Πάνω από το 90% οφείλεται σε έλλειψη σιδήρου, η οποία επιτείνεται από την απώλεια αίματος κατά τον τοκετό και την λοχεία. Η χρήση της rHuEPO θεραπεύει την αναιμία και της επιπλοκές της, σε γυναίκες με μικροδρεπανοκυτταρική, ενδιάμεση μεσογειακή αναιμία, προκαλώντας άνοδο της τιμής της αιμοσφαιρίνης αποτρέποντας έτσι τις μεταγγίσεις. Η ανθρώπινη ανασυνδυασμένη ερυθροποιητίνη προκαλεί θετική ψυχοτρόπο δράση, με αποτέλεσμα γρήγορη κινητοποίηση των ασθενών και μικρότερη νοσοκομειακή παραμονή.

Προτείνουμε για την θεραπεία της αναιμίας της κύησης και της λοχείας, την υποδόρια χορήγηση της rHuEPO σε δόση 200 IU/Kg/ΒΣ με ταυτόχρονη λήψη 200 mg σιδήρου και 5 mg φυλλικού οξέος, κάτω από στενή ιατρική παρακολούθηση.

E. SUMMARY

Use of recombinant human erythropoietin in the treatment of anaemia in pregnancy and postpartum

LIALIOS GEORGIOS

The physiology of maternal and fetal erythropoesis in pregnancy shows that haematopoiesis, and the stimulation of hemopoiesis; take place separately in two independent circulations. Erythropoietin appears the main stimulator of erythropoiesis in both mother and fetus. The human placenta forms a manifest barrier, to endogenous and recombinant erythropoietin in the treatment of maternal pregnancy anaemia. The prevalence of maternal anaemia in pregnancy and post partum is high, up to 90% of cases are due to iron deficiency, compounded post partum by blood loss during and after delivery. Use of rHuEPO for reversing pregnancy and post partum anaemia to patients with β-thalassemia intermedia and sickle-cell/b-thalassemia gives promising results. We treated 20 postpartum anemic women (Hb<8,5 g/dl) with recombinant human erythropoietin (rHuEPO) in combination with iron and folic acid in compared with 20 women who received only iron and folic acid. The aim of this study was to compare the use of rHuEPO in postpartum anemia as well as the action in the phychim of women.The dose of rHuEPO was 200 IU/ Kg/day every 2 days for 15 days, the dose of iron was 150 mg x2/day and folic acid 5 mg x3/day. Hematological and clinical data were compared on days 1, 3, 5, 15 and 40 in both treated groups. Although there was not statistically significant difference

between two groups, the women who treated with rHuEPO had greater increase in reticulocytes, hemoglobin, and hematocrit, by 3th day of therapy, which was continued during the 15th day. The mean value of increase of Hb in group with rHuEPO was 1,3 g/dl, in compare with 0.7 g/dl in the other group in the 5th day. Also patients with rHuEPO therapy improved significant their clinical condition and their psychism. Blood transfusion received two women in the control group. We did not observe side effects from rHuEPO treatment. We found as in other population without renal failure, rHuEPO enhanced endogenous erythropoiesis and improve the anemia of postpartum women. We use rHuEPO for reversing pregnancy to 15 patients with β-thalassemia intermedia and sickle-cell/b-thalassemia. The use of recombinant human erythropoietin improved psychological well-being of these patients.

We recommend administration of s.c. RHuEPO 200 IU/Kg, with 200 mg Fe and 5 mg Fillicine for treatment of anaemia in pregnancy and post partum, under medical care.

ΣΤ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Λώλης Δ. Γυναικολογία-Μαιευτική β΄ Τόμος: Παρισιάνος, Αθήνα 1998;115-8
2. De Swiet M: The cardiovascular system. In Hytten P, Chamberain G (eds): Clinical Physiology in Obstetrics. Oxford, Blackwell Scientific Publications 1980; 3-42
3. Garn SM, Ridella SA, Petzold AS, et al: Maternal haematological levels and pregnancy outcomes. Semin Perinatol 1981; 5:155-62
4. Widness JA, Clemons GK, Garcia JF, et al: Plasma immunoreactive erythropoietin in cord serum after labour. Am J Obstet Gynecol 1984; 148:194-7
5. Cotes PM, Canning CE: Changes in serum immunoreactive erythropoietin during the menstrual cycle and normal pregnancy. Br J Obstet Gynecol 1983; 90:404-11
6. Harstad TW, Mason RA, Cox SM: Serum erythropoietin quantitation in pregnancy using an enzyme-linked immunoassay. Am J Perinatol 1992; 9:233-5
7. Beguin Y, Lipscei G, Oris R, et al: Serum Immunoreactive erythropoietin during pregnancy and in the early postpartum. Br J Haematol 1990; 76:545-9
8. Zanjani ED, Peterson EN, Gordon AS, et al: Erythropoietin production: Role of the kidney and maternal anemia. J Lab Clin Med 1974; 83:281-7

9. Pritchard JA, Scott DE: Iron demands during pregnancy. In Hallberg L, Harwerth HG, Vanottie A (eds): Iron Deficiency Pathogenesis, Clinical Aspects, and Therapy. New York, Academic Press 1970; 173-82.

10. Goetner E: Bedeutung der Anämie in Gynaecologie und Geburtshilfe. Medizinische Welt 1991; 32:1413-5

11. Novy MJ: The normal puerperium. In Pernoll ML, Benson RC (eds): Current Obstetric & Gynecologic Diagnosis & Treatment. East Norwalk, CT, Appleton & Lange, 1987; 216-45

12. American College of Obstetrics and Gynecology: Diagnosis und Behandlung postpartaler Blutungen. German edition, ACOG technical bulletin no 143. Geburtshilfe Frauenheilkd 1990; 51:53-7

13. Huch R, Huch A: Maternal and fetal erythropoietin: Physiological aspects and clinical significance. Ann. Med 1993; 25:289-93

14. Nicolaides KH, Thilaganathan B, and Mibashan RS: Cordocentesis in the investigation of fetal erythropoiesis. Am J Obstet Gynecol 1989;161:1197-2000

15. Howells MR, Jones SE, Napier JAF et al: Erythropoiesis in pregnancy. Br J Haematol 1986; 64:595-9

16. Huch R, Huch A: Maternal and fetal acid Base balance and blood gas measurement. In Beard RW, Nathanielsz PW (eds): Fetal Physiology and Medicine. New York, Marcel Dekker, 1984; 713-26

17. Black VD, Lubchenko LO. Neonatal polycythemia and hyperviscosity. Pediat Clin North Am 1982; 29:1187-48

18. Ireland R, Abbas A, Thilaganathan B, et al: Fetal and maternal erythropoietin levels in normal pregnancy. Fetal Diagn ther 1992; 7:21-5

19.Malek A, Sager R, Eckerd K-U, et al: Lack of transport of erythropoietin across the human placenta as studied by an in vitro perfusion system. Plungers Arch 1994; 427:157-61

20.Widness JA, Clemons GK, Garcia JF, et al: Increased immunoreactive erythropoietin in cord serum after labour. Am J Obstet Gynecol 1984;148:194-7

21.Eichhorn KH, Bauer C, Eckardt KU, et al: Lack of associations between fetal and maternal erythropoietin at birth. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1993; 50:47-52

22.Eckardt KU, Huch A, Huch R: the ontogeny of the biological role and production of erythropoietin. In Huch R, Huch A (eds): Erythropoiesis and Erythropoietin in Perinatal Medicine (supplement).J Perinat Med,1994;8:58-64

23.Sibley CP, Bauman KF, Firth JA: Permeability of the foetal capillary endothelium of the guinea-pig placenta to haem proteins of various molecular sizes. Cell Tissue Res 1982; 223:165-78

24.Widness JA, Sawyer ST, Schmidt RL, et al: Lack of maternal-fetal transfer of ^{125}I-erythropoietin in sheep. J Dev Physiol 1991;15:139-43

25.Zanjani ED, Pjixley JS, Slotnick N, et al: Erythropoietin does not cross the placenta into the fetus. Pathobiology 1993; 61:211-5

26.Koury MJ, Bondurand MC, Graber SE, et al: Erythropoietin messenger RNA levels in developing mice and transfer of of ^{125}I-erythropoietin by the placenta. J Clin Invest 1988; 82:154-9

27.Matoth Y, Zaizov R: Regulation of erythropoiesis in the fetal rat. Isr J Med Sci 1971; 7:839-45

28.Silverstain E, Bergen C, Roadman H, et al: Haematological problems in pregnancy. J Reprod Med 1974; 12:153-8

29.Pritchard A. Changes in blood volume during pregnancy and delivery. Anaesthesiology 1995: 26:393-6

30.Snell EE, Peterson WH: Nutritional anaemia. J Biol Chem Proc 1989; 128:94-9

31.Arias F: Haematological problems during pregnancy. High-risk pregnancy and delivery. CV Mosby Comp. St. Louis 1984; 230-9

32.Bownar J, Novy M, Matoth Y: Anaemia in Obstetrics. An evaluation of treatment by iron dextran infusion. Br Med J 1995; 2:1030-8

33.Peconen F, Rutanen M, Roseleaf K: Food and nutrition board, Recommended Dietan Allowances (8th ed). Washington D.C. National Research Council, National Academy of Sciences 1986;92-8

34.Γαρδίκας Κ.Δ: Αιματολογία. Τρίτη έκδοση. Αθήνα 1973;135-46

35.Λώλης Δ. Γυναικολογία - Μαιευτική. β΄ τόμος. Παρισιάνος Αθήνα, 1998; 355-62

36.Mc Gregor MW: Maternal anaemia as factor in prematurity and perinatal mortality. Scott Med J 1984; 8:134-7

37.Mitchell HK Snell EE Williams RJ: Treatment of anaemia in pregnancy. J Am Chem 1979;63:2284-9

38.Angier BA, Rutman R, Rosenberg L, et al: Iron and maternal anaemia. Science 1983:102:227-35

39.Carr MC: Managing iron deficiency in pregnancy. Comtemp Obstet Gynecol 1974; 15:5-12

40.Chandra RK: Iron and immunocompetence. Nutr Rev 1976;34:129-36

41.Control of nutritional Anaemic with special reference to iron deficiency. WHO Tech, Rep. Ser. Geneva 1975:580-5

42.Fenton V, Vavill L, Fisher J: Iron stores in pregnancy. Br J Haematol 1977; 37:145-9

43.Jacobs A. Wheby G, Clemonw T, et al: Ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deficiency and iron overload. Br J Med 1992; 4:206-15

44.Monsen ER, Kuhn IN. Finch CA: Iron status of menstruating women Am. J Clin Nutr.1987;20:842-8

45.Kifay Z, Herbert A: Iron and folic acid deficiency in pregnancy. Clin Perinatol.1985; 2:255-8

46.Roszowski I, Wojeicka J.A., Zaeska K: Serum iron deficiency during the third trimester of pregnancy: Maternal complications and fate of the neonate. Obstet Gynecol 1996; 28:280-6

47.Pritchard AJ, Whatley PJ, Scott DS: The influence of maternal folate and iron deficiency on intrauterine life. Am J obstet Gynecol 1989; 104:388-95

48.Dooley TB, Lee P: A series of cases of splenomegaly in children with anaemia and peculiar bone changes. Travis Am Pediatr Soc 1985; 37:29-35

49.Sbojania AM, Honaby GG, Barnes PH: Oral contraceptives and serum folate levels. Lancet 1968; 1:1376-8

50.Charein I., Rothman D.,Pethner T et al: Folate status and requirements in pregnancy. Br Med J 1978;2:390-98

51.Kitay DJ: Folic acid deficiency in pregnancy. Am J Obst Gynecol 1993;104:1067-71

52.Layrisse M, Aguero D,Mantheo K, et al : Megaloblastic anaemia of pregnancy characteristic of pure megaloblastic anaemia and megaloblastic anaemia associated with iron deficiency. Blood 1960; 15:724-8

53.Campbell BA: Megaloblastic anaemia in pregnancy. Clin Obstet Gynecol 1995; 38:443-4

54.Spivak JL: Haematological problems in Pregnancy. Blood 1994; 84:997-1004

55.Tuck SM, James CE, Brewster EM, et al: The fetal and the neonatal outcome in HELLP syndrome. Clin Obstet Gynecol 1987; 94:121-5

56.Mc Langhlin B, Martin R, Morrison JC: The management of toxaemia in patients than 36w gestation.Br J Obstet Gynecol Clin In Perin 1985; 12; 585-9

57.Hedge UM, Khunda S, Ulke A, et al: Thalassaemia, Iron and pregnancy. Br Med J 1975; 30,509-13

58.Morrison JC, Propst MG, Blake PG: Sickle haemoglobin and the gravid patient: A management controversy. Clin Pediatr 1980; 7:273-7

59.Little GT, Morrison J.: Sickle cell disease. Protocols for high risk Pregnancy. Med Econ Books. N J 1983; 4:85-8

60.Rimer B: Sickle cell trait and pregnancy. A review of α community hospital experience. Am J Obst Gyn 1975; 123:6-12

61.Poddar DR, Plant MJ, Scorer HK: Pregnancy in Sickle cell disease. Br J Obstet Gynecol 1986; 67:727-32

62.Morrison JC, Wiser WL: The effect of maternal partial exchange transfusion on the infants of patients with sickle cell anaemia. J Pediatr 1996; 89:286-8

63.Marun JN, Morrison JC: Sickle cell crisis. Recognizing it and treating it. Contemp Obstet Gynec 1982; 20:171-6

64.Johnson JW, Ojo DA: Amniotic fluid oxygen tensions in severe maternal anaemia. Am J Obst Gynec.1987; 97:499-56.

65.Fiakpui EZ, Moran EM: Pregnancy in the sickle hemoglobinopathies. J Reprod Med 1983; 11:28-32

66.Whipple GN, Bradford WL: Mediterranean disease thalassemia (Erythroblastic Anaemia of Cooley). Associated pigment abnormalities stimulating hemochromatosis. J Pediatr.1979; 9:279-85

67.Pawlowski GT, Lobardo LT, Sciacca SR, et al: Mediterranean disease Thalassemia. Obstet Gynecol 1982; 6:3-12.

68.Fleming AE, Lynch W: Beta thalassemia minor during pregnancy, with particular reference to iron status. J Obstet Gynecol Br Comm 1969; 76:451-58

69.Nechalaes T: Obstetrics complication associated with hematoglobulinopathies. Clin Haematol 1980; 106:295-7

70.Jelkman W: Biology of erythropoietin. Clin Investig 1994; 72: 3-10

71.Faulds LD, Sorkin EM.: Epoetin (recombinant human erythropoietin). A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in anaemia and the stimulation of erythropoiesis. Drugs 1989; 38: 863-99

72.Eschbach JW, Abdulhadi MH, Browne JK, et al:. Recombinant human erythropoietin in anaemic patients with end-stage renal disease. Results of aphaseIII multicenter trial. Ann Intern Med 1989;1:992-1000

73.Kitamura T, Akahane K, Yuo A, et al: Heterogeneity of responsiveness to recombinant human erythropoietin in patients with myelodysplastic syndromes. Acta Haematol 1997; S3: 866-72

74.Yoshida Y, Anzai N, Kawabata H, et al: Serial changes in endogenous erythropoietin levels in patients with myelodysplastic syndromes and aplastic anaemia undergoing erythropoietin treatment. Ann Hemalol 1993; 66:175-80

75.Pincus T, Olsen NJ, Russell JJ, et al: Multicenter study of recombinant human erythropoietin in connection of anaemia in rheumatoid arthritis. Am J Med 1990; 89:161-8

76.Mercuriali F, Inghilleri G, Biffi E, et al : Erythropoietin treatment to increase autologous b donation in patients with low basal hematocrit undergoing elective orthopaedic surgery. Clin Investig 1994: 72: 516-8

77.Nielsen OJ,Thaysen JH: Response to erythropoietin in haemodialysis patients. J Intern Med 1989; 226: 89-94

78.Dessand EN Gulier SE Krinin SB, et al: Effects recombinant erythropoietin on the cycling status hemopoietic progenitor cells in vivo. Blood 1988:72:2-5

79.Berglund JJ Ekblom B: Effective recombinant human erythropoietin treatment on blood pressure and in haematological parameters in healthy men. J Intern Med 1991; 229: 125-34

80.Hulenpit CE, Mucres M, Kulz SA, et al: Comparative pharmacokinetic and pharmacodynamic of epoetin. Clin Pharmacol Ther 1997; 6:702-12

81.McMahon FG, Vurgas R, Ryun M. et al: Pharmacokinetics and effects of recombinant human erythropoietin after intravenus and subcutaneus injections in healthy volunteers. Blood 1990; 76: 1718-22

82.Urube A: Effect of recombinant human erythropoietin on the anaemia of chronic renal failure. An J Cell Cloning 1988; 6: 174-81

83.Salmons T, Danielson BG, Winston B: The pharmacokinetics of recombinant human erythropoietin after intravenous and subcutaneous administration to healthy subjecrs. BrJ Clin Pharmacol 1994;24:709-13

84.Rosse WF, Waldmann TA: The metabolism of erythropoietin in human bone marrow cells. Scand J of Clin Inv 1994; 43:34-54

85.Lorenz AW, Jendrisek AT, Eckardt KU, et al: Serial immunoreactive erythropoietin levels in autologous blood donors. Transfusion 1991;31:651-4

86.Price TH, Goodnough LT, Vogler W, et al: The impact of recombinant human erythropoietin administration on the efficacy of autologous blood strategies in patients with low haematocrits. Blood 1992;80:86-7

87.Canadian Orthopaedic Perioperative Erythropoietin Study Group. Effectiveness of perioperative recombinant human erythropoietin in elective hip replacement. Lancet 1993;341:1227-32

88.Vannucchi AM. Bosi A, Grossi A, et al : The use of erythropoietin in the treatment of post-bone marrow transplantation anaemia. Int. J Artif Organs 1993;16 Suppl.5:8-12

89.Bori A, Vunnucchi AM, Grossi A, et al: Serum erythropoietin levels in patients undergoing transplantation. Bone Marrow Transplant 1991; 7:421-5

90.Beguin Y, Oris R, Fillet G: Dynamics of erythropoietic recovery. Bone Marrow Transplant 1993; 11:285-92

91.Mitus AJ, Antin JH. Rulherford CJ, et al: Use of recombinant human erythropoietin in allogencic bone. Blood 1994; 83:1452-7

92.Bunn HF.: Anaemia associated with chronic disorders. Hill Inc.1991: 1529-30

93.Vreugdenhil G. Swaak JG: The role of erythropoietin in the anaemia of chronic disease in rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol 1990;4:22-7

94.Abels RI: Use of recombinant human erythropoietin in the treatment of anemia in patients who have cancer. Semin Oncol. 1996; 8:29-35

95.Bajetta E, Dibartolomfo M, Bunoni R, et al: Recombinant human erythropoietin in the treatment of anemia associated with solid tumours with or without bone marrow infiltration. Int J Oncol 1993; 3:1121-6

96.Ludwig H, Fritz E, Leitgeb C, et al: Erythropoietin treatment for chronic anaemia of selected hematological malignancies and solid tumours. Ann Oncol 1993; 4:161-7

97.Rose E, Rai K, Revicki D, et al: Clinical and health status assessments in anemic chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients treated with epoetin. Blood 1994; 84:526-8

98.Stenke L, Wallvik I, Celsing F, et al: Predictions of response to treatment with human recombinant erythropoietin in myelodysplastic syndromes. Leukemia 1993; 7:1324-7

99.Ludwig H: r-HuEPO for anaemia associated with haematological malignancies. Erythropoiesis: new dimensions in the treatment of anaemia. Blood 1994; 5:3-8

100.Levine EA, Vijay Kumar S: Blood transfusions in patients receiving radical radiotherapy. Oncology 1993; 16:2-10

101.Lavey RS, Dempsey WH: Erythropoietin increases hemoglobin in cancer patients during radiation therapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1993; 27:147-52

102.Zon L, Groopman J: Hematological manifestations of the human immunodeficiency virus (HIV). Semin Hematol 1988; 25:205-18

103.Phair JP, Abels RI, McNeill MV: Recombinant human erythropoietin treatment investigational new drug protocol for the anemia of the acquired immunodeficiency syndrome: overall results. Arch Intern Med 1993; 153:2669-75

104.Fessas Ph, Loukopoulos D: The thalassemias . Clin Haematol 1974; 3:411-35

105.Tanke HJk, Nieuwenhuis IAB, Koper GMJ, et al: Flow cytometry of human reticulocytes based on RNA fluorescence. Cytometry 1980; 1:313-20

106.Nagel RL, Vichinsky E, Shah M, et al: Anemia treated with Recombinant human erythropoietin. A Double-Blind Study. Blood 1993; 81:9-14

107.Zimmerman R, Breymann C, Richter C: RHuEPO treatment of post partum anaemia anemia. J Perinat Med 1995; 23:111-7

108.Huch R, Richter C: Erythropoietin reaches the pharmacy. Blood.1992; 79:533-7

109.VanBrunt J, Weiss G, Ulmer R: EPO's role as transfusion substitute expands. Biotechnology 1988; 6:1146-7

110.Davis HP: Erythropoetin for patients refusing blood transfusion. N Engl J Med 1990; 322:941-9

111.Gilbert I, Porter W, Brawn V: Postpartum haemorrhage-a continuing problem. Br J Obstet Gynaecol 1987; 94:67-7

112.Powars DR, Weiss JN, Chan LS, et al : Is there a threshold level of fetal hemoglobin that ameliorates morbidity in sickle cell anemia? Blood 1984; 63:321-26

113.Rhyner K, Egli F, Niemoller M, et al: Serum erythropoetin levels in various disease. Nephron 1989; 51:3-41

114.Bourantas K, Makrydimas G, Georgioy I, et al: Preliminary results with administration of rHuEPO in sickle cell/β-thalassemia patients during pregnancy. Eur J Haematol.1996;56:326-8.

115.Richter C, Huch A, Huch R: Erythropoiesis in postpartum period. J Perinat Med 1995; 23:51-9

116.Goldberg MA, Brugnaro C, Dover GJ, et al: Treatment of sickle cell anemia with hydroxyarea and erythropoietin. N Engl J Med 1990; 323 (6): 366-372

117.Howard JR, Tuck KMS, Pearson CT, et al: Pregnancy in sickle cell disease in the U.K. results of a multi center survey of the effect of prophylactic blood transfusion on maternal and fetal outcome. Br J Obstet Gynecol 1995; 102:947-51

118.Tuck SM, James CE, Brewster ME, et al: Prophylactic Blood Transfusion in maternal sickle cell syndromes. Br. J. Obstet. Gynecol. 1987; 94:121-5

119.Sbyrakis S, Karagiorga M, Voskaky I, et al: Simple index for initiatig transfusion treatment. Br J Haematol.1987; 67:479-84

120.Foa P, Phair JP, Abels RI: Erythropoetin: Clinical Application. Acta Haematol 1991; 86:162-5

121.Βοργία ΙΝ, Λαουτέρη ΠΝ: Αιματολογία 1991; 2:731-2 & 1106-8.

122.Milner PF, Jones BR, Doppler J: Outcome of pregnancy in sickle cell anaemia. Am J obstet Gynecol 1990; 138:239-45

123.Bourantas K, Georgiou J, Seferiadis K, et al: Fetal globin stimulation during ashourt-trial of erythropoetin in HbS/thal patients. Acta Haematol 1994; 92:79-82

124.Lolis D, Georgiou I, Loisou P, et al: High HbF in pregnancy is associated with the XmnI polymorphism at the 158bp of the Gγ-globin gene. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1995: in press

125.Breymann Ch, Major A, Richter Ch, et al: Recombinant human Erythropoietin and parenteral iron in the treatment of pregnancy anemia: a pilot study. J Perinat Med 1995; 23:89-98

126.Zimmerman R, Breymann Ch, Richten Ch, et al: rHuEPO treatment of postpartum anemia. J Perinat Med 1995:23:11-7

127.Weatherall DJ, Clegg J: The Thalassaemia Syndrome. Oxford, UK, Blackwell Scientific 1981; 1452-69

128.Χαλαβελάκης Γ: Αιμοσφαιρινοπάθειες. Αθήνα, Φωτοσύνθεση, 1991:84-5

129.Triadu P, Girot R, Pomarede R, et al: thalassemia intermedia. Clinical and laboratory study. Therapeutic suggestions. Nouv Presse Med 1982; 30:253-6

130.Yankowitz J, Piraino B, Leifer S, at al: Erythropoietin in pregnancies complicated by severe anemia of renal failure. Obstet Gynecol 1992; 80:485-8

131.Rachmilewitz E, Goldfard A, Dover G: Administration of EPO to patients with β-thalassemia intermedia. Blood.1991; 78:1145-7

132.Wainscoat S, Thein L, Weatherall J: thalassemia intermedia. Blood Rev. 1987; 4:273-9

133.Khatti A, Veith RW, Papayianopoulou T, et al: Stimulation of fetal hemoglobin synthesis bay erythropoetin in baboons. N Engl J Med 1987; 317:415-9