تشخیص و طبقه‌بندی انواع لوسمی با استفاده از معیارهای مورفولوژیک، سیتوشیمیائی و ایمونولوژیک در بیمارستانهای تهران*

دکتر احمد کاظمی[۱]
دکتر پروانه وثوق[۱]
دکتر عبدالمجید معاضدی[۱]
دکتر پروین شاهنده[۲]
دکتر فاضل شکری[۳]
دکتر سودابه حسینی[۴]
دکتر فرانک احمدیه[۴]
دکتر آذرمیدخت فرح‌بخش[۴]

چکیده

سلولهای‌خونی ۲۲۱ بیمارمبتلا به‌لوسمی از نظر خصوصیات مورفولوژیک، سیتوشیمیائی وایمونولوژیک‌موردبررسی قرار گرفت. این بیماران شامل ۶۳کودک و ۱۵۸ بزرگسال بودند. از گروه بزرگسالان ۱۱۰ مورد دارای لوسمی‌های حاد شامل ۶۷درصد *AML* و ۳۳ درصد *ALL* بودند. در این گروه همچنین ۲۴ مورد *CML*، ۱۹ مورد *CLL*، ۴ مورد *HCL* و یک مورد *Plasma cell leukemia* تشخیص داده شد. از ۶۳ مورد لوسمی کودکان ۷۹/۴ درصد *ALL*، ۱۹ درصد *AML*و ۱/۶ درصد *JCML* تشخیص داده شد. در گروه بزرگسالان زیرگروه‌های *AML*مشخص شدند که در مقایسه با نتایج منتشره در کشورهای غربی فقط اختلاف معنی‌دار در زیرگروه *M4*مشاهده شد که در این مطالعه در حد بیشتری بوده‌است *(p<0.001)*.

زیرگروههای *ALL* درکودکان بیشتر از نوع *L1* و در بزرگسالان از نوع *L2* بود. در گروه بزرگسالان وفور *CML* شامل ۱۵/۲ درصد و *CLL* ۱٫۲ درصد بود که در مقایسه با ارقام منتشره از کشورهای آمریکا و اروپا کمتر می‌باشد. این اختلاف فقط در وفور *CLL* معنی‌دار می‌باشد *(p<0.001)*. ضمناً همه موارد *CLL* در این مطالعه از نوع *B-CLL*بوده و *T-CLL* که نسبتاً نادر است مشاهده نگردید.

بیشترین ایمونوفنوتیپ در گروه *ALL* کودکان متعلق به *C-ALL* (۶۸ درصد) و در گروه *ALL*بزرگسالان مربوط به *T-cell ALL* (۵۳ درصد) بود.

کلید واژه‌ها: ۱-لوسمی ۲-مورفولوژی ۳-سیتوشیمیائی ۴-ایمونولوژی

*- این مقاله در کنگره سالانه پاتولوژی در آذرماه ۱۳۷۵ در بیمارستان امام خمینی (ره) ارائه شده‌است.

۱- عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران
۲ - عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
۳- عضو هیأت علمی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴- دکترای علوم آزمایشگاهی

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:54 IRDT on Saturday July 21st 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-17]

مقدمه

انواع لوسمی‌ها گروه ناهمگونی را تشکیل می‌دهند که از نظر اتیولوژی، پاتوژنز و پیش‌آگهی با یکدیگر متفاوتند، لذا دستیابی به یک طبقه‌بندی جامع برای لوسمی‌ها آرزوی دیرین محققین بوده و هست. به هر حال در سالهای اخیر با استفاده از تکنیکهای ایمونولوژیک، سیتوژنیک و ژنتیک مولکولی پیشرفتهای شایان توجهی در زمینه طبقه‌بندی لوسمی‌ها حاصل شده‌است (۱۲و۱۰،۹،۶،۴).

اساس طبقه‌بندی لوسمی‌ها بر پایه مورفولوژی و بر مبنای معیارهای تعیین‌شده توسط گروهی از هماتولوژیستهای فرانسوی، آمریکایی و انگلیسی معروف به گروه *FAB* می‌باشد که اولین بار در سال ۱۹۷۶ منتشر شد (۲). از آن پس نیز توسط این گروه مرتباً تغییراتی در آن داده شد و علیرغم ایراداتی که به آن وارد است امروزه در سراسر جهان کاربرد دارد (۱۵و۵،۳).

در مورد تشخیص *ALL* بر اساس معیارهای گروه *FAB* مشکل خاصی وجود ندارد ولی برای تشخیص افتراقی بین *Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL)* و *Lymphoblastic Lymphoma* این معیارها کافی نبوده و نیاز به بررسی‌های دیگری می‌باشد. مواردی از *Acute myelocytic leukemia* می‌باشد که با *Myelodysplastic syndrome (MDS)* قابل اشتباه است و نظر به پروگنوز بهتر *MDS* و متفاوت بودن درمان *AML* با *MDS*، استفاده از معیارهای جدید گروه *FAB* برای تشخیص صحیح کمک‌کننده خواهد بود(۴و۳).

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده که فاکتورهای محیطی، شغلی و ژنتیک در پاتوژنز لوسمی دخالت دارند، لذا شیوع لوسمی در کشورهای پیشرفته و صنعتی بیشتر از کشورهای غیرصنعتی گزارش شده‌است. در مطالعه‌ای که در آمریکا صورت گرفته لوسمی ششمین نوع سرطان در مردها و هفتمین سرطان در زنها بوده‌است. در بالغین بیشتر از ۸۰ درصد لوسمی‌های حاد از نوع *AML* و در کودکان از نوع *ALL* می‌باشد(۲۱و۲۰،۴).

ALL شایعترین لوسمی اطفال بوده و در جنس مذکر بیشتر از مؤنث و در نژاد سفید بیشتر از سیاه دیده می‌شود. ۸۰-۷۰ درصد موارد *ALL* کودکان از نوع *L1* و یک چهارم موارد *ALL* از نوع *L2* و فقط ۲-۱ درصد از کل موارد *ALL* از نوع *L3* می‌باشد. شیوع *L1* با افزایش سن کاهش یافته ولی شیوع *L2* با سن بیمار ارتباطی ندارد و پروگنوز *L2* در کودکان بدتر از *L1* ست ولی در بزرگسالان تفاوتی ندارد (۲۲و۲۱،۴).

رنگ‌آمیزی‌های سیتوشیمیایی غالباً به تشخیص و طبقه‌بندی لوسمی‌ها کمک می‌کند، از میان آنها میلوپراکسیداز، سودان بلاک *B* و *ASD* کلر و استات استراز جهت تشخیص سلولهایی که در حال تمایز گرانولوستیک هستند استفاده می‌شود. در *ALL* کمتر از ۳ درصد بلاستها پراکسیداز مثبت هستند در حالی که در *AML* همیشه بیشتر از ۳ درصد و گاهی تا ۹۰ درصد سلولها واکنش مثبت می‌دهد. از استرازهای غیراختصاصی مثل آلفانفتیل بوتیرات یا استات استراز جهت تمایز سلولهای رده منوسیتیک استفاده می‌گردد. پریودیک اسید شیف *(PAS)* نیز با سلولهای لنفوسیتیک و اریتروئیدی واکنش می‌دهد (۴و۲۲).

امروزه در سلولهای مختلف و در مراحل مختلف تمایز آنتی‌ژنهای پروتئینی را با استفاده از آنتی‌بادیهای منوکلونال شناسایی کرده‌اند و این آنتی‌ژنها را بر حسب شماره گروه تمایز *Cluster of differentiation(CD)* شماره‌گذاری نموده‌اند. انواع خاصی از این آنتی‌ژنها عمدتاً بر روی رده مشخصی از سلولها و همچنین در مراحل مختلف تمایز عرضه می‌گردند که شناسایی این آنتی‌ژنها پایه تشخیصهای ایمونولوژیک در لوسمی‌ها می‌باشد (۵و۴). برای بررسی مارکرهای سلولی از میکروسکوپ فلورسنت، روشهای ایمونوآنزیماتیک، فلوسیتومتر و *(FACS)Fluorescent activated cell sorter* می‌توان کمک گرفت (۲۱و۱۳،۴).

اگرچه بجز *B-ALL* هیچ ارتباطی بین ایمونوفنوتیپ *ALL* و طبقه‌بندی مورفولوژیک به دست نیامده ولی در *AML* یافته‌های مورفولوژیک با ایمونوفنوتیپ سلولها تطابق بیشتری دارد. اکنون مشخص شده که علاوه بر فاکتورهای مؤثر در پیش‌آگهی لوسمی نظیر سن بیمار، شمارش *WBC* در زمان تشخیص، ناهنجاریهای خاص سیتولوژیک و محتویات *DNA* موجود در سلول، فنوتیپ ایمنی نقش مهمی در پیش‌آگهی

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:54 IRDT on Saturday July 21st 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-17]

داراست، به طوری که مثلاً *T-ALL* در بزرگسالان حاکی از پیش آگهی بهتر بوده و در کودکان این طور نیست. همچنین مشخص شده که حدود ۲۰-۵ درصد لوسمی‌های حاد در مطالعات ایمونولوژیک حالت *Mixed Lineage* و *Biphenotyping* داشته چیزی که قبلاً با مشخصات مورفولوژیک قابل تشخیص نبود، لذا به علت تشخیص غلط درمان موفق صورت نمی‌گرفت[۲۱و۱۰،۴].

در نوع خاصی از زیر گروه *M3(M3-Variant)* سلولها از نظر مورفولوژیک بسیار شبیه به رده منوستیک بوده و در ۲۵ درصد موارد حتی با استرازهای غیر اختصاصی واکنش شدید می‌دهند و نظر به متفاوت بودن درمان *M3* با سایر زیرگروههای *AML* لزوم شناسایی مارکرهای ایمنی برای تشخیص دقیق لوسمی ضروری است [۱۸و۴].

روش بررسی

۲۲۱ بیمار مبتلا به لوسمی در بیمارستانهای حضرت علی‌اصغر (ع)، کودکان مفید، شهید مدرس، امام خمینی، طالقانی، حضرت رسول اکرم (ع) مورد مطالعه قرار گرفتند. خون محیطی بیماران روی ماده ضد انعقاد *EDTA*(۱/۲ میلی‌گرم بازای هر سی‌سی خون) تهیه و در اسرع وقت تعداد ۲۰ گستره از هر کدام تهیه گردید و پس از گذشت یک ساعت جهت خشک شدن دو عدد از لامهای خون محیطی و مغز استخوان به وسیله رنگ رایت رنگ‌آمیزی و مورد بررسی مورفولوژیک قرار گرفتند. سپس بر حسب نیاز تعدادی جهت رنگ‌آمیزی‌های سیتوشیمیایی استفاده شد. مابقی لامها تک تک بسته‌بندی و تا زمان آزمایش در حرارت ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سلولها بر اساس خصوصیات هسته (کروماتین، هستک، نسبت *N/C*، شکل هسته و ...) و همچنین خصوصیات سیتوپلاسم (مقدار، رنگ واکوئل، گرانول و *Auer Rod*) بر طبق معیارهای موجود گروه *FAB* طبقه‌بندی گردیدند[۵و۴،۳،۲]. از رنگ‌آمیزی‌های سیتوشیمیایی *Acid phosphatase, Sudan Black B Alpha, Periodic acid shiff (PAS), Alpha naphthyl acetated esterase, Alpha Naphthol ASD chloroaetate esterase* نیز به عنوان مکمل تشخیصهای مورفولوژیک استفاده گردید [۱۸و۴] و بالاخره مارکرهای سلولی با روش *(Alkaline phosphatase anti alkaline APAAP phosphatase)* که یک روش ایمونوآنزیماتیک می‌باشد و آنتی‌بادیهای منوکلونال تجارتی *(Dako)* چون *CD10,CD13,CD19,CD20,CD22,CD33 HLA-DR,Glycophorin A,TdT,CD2,CD5,* بررسی شدند، از مزایای این روش علاوه بر حساسیت بالای آن محدود نبودن زمان انجام آزمایش است که می‌توان ماهها لامها را در ۲۰- تا ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد بدون اینکه تغییر چندانی در ماهیت آنتی‌ژنها داده شود و از طرف دیگر مورفولوژی و ایمونوفنوتیپ سلولها را می‌توان توأماً مورد مطالعه قرار داد[۱۴و۱۱،۸،۵]. لامهای حاصل از رنگ‌آمیزی‌های سیتوشیمیایی و ایمونوآنزیماتیک تک‌تک توسط میکروسکوپ بررسی و درصد سلولهایی که واکنش مثبت داشتند دقیقاً مشخص گردید. در این مطالعه وقتی بیشتر از ۲۰ درصد سلولها مارکر خاص را بیان می‌کردند برای آن مارکر مثبت تلقی شدند. با این استثناء که حد مرز *(Cut off value)* برای مارکر *TdT* ۱۰ درصد تعیین گردید به طوری که وقتی بیشتر از ۱۰ درصد سلولها بلاست واکنش مثبت نشان دادند *TdT* مثبت ثبت شد.

نتایج

در این مطالعه ۲۲۱ بیمار مبتلا به لوسمی مورد بررسی قرار گرفت که شامل ۶۳ کودک (تا ۱۴ سال) و ۱۵۸ بزرگسال (بیشتر از ۱۴ سال) می‌باشند.

از ۶۳ مورد لوسمی کودکان ۵۰ مورد *ALL*، ۱۲ مورد *AML* و تنها یک مورد *JCML* تشخیص داده شد. از ۵۰ مورد *ALL* کودکان ۳۲ مورد از نوع *L1*، ۱۷ مورد از نوع *L2* و تنها یک مورد از نوع *L3* بود. در گروه کودکان ۱۲ مورد *AML* وجود داشت که ۸ مورد از نوع *M4*، ۲ مورد *M1* و ۲ مورد *M2* می‌باشد. و از لوسمی‌های مزمن فقط یک مورد *Juvenile CML* در یک دختر ۸ ساله مشخص شد.

از ۱۵۸ مورد لوسمی بزرگسالان ۳۴ مورد *ALL*، ۷۶ مورد *AML*، ۱۹ مورد *CLL*، ۲۴ مورد *CML*، ۴ مورد *HCL* و یک مورد *Plasma cell leukemia* تشخیص داده شد. *ALL* در

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:54 IRDT on Saturday July 21st 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-17]

بزرگسالان ۳۴ مورد بود که شامل ۱۶ مورد *L1* و ۱۸ مورد *L2* می‌باشد. (جدول شماره ۱)

در مجموع ۷۶ بیمار بزرگسال مبتلا به *AML* بودند که زیرگروههای آن در جدول شماره ۲ آمده‌است.

ضمناً *CML* در بزرگسالان نیز شامل ۲۴ مورد بود که فقط سه مورد از آنها در موقع تشخیص در فاز بلاستیک بودند. یک مورد *Plasma cell leukemia* در یک مرد ۲۳ ساله به طور اولیه تشخیص داده شد که هیچ سابقه قبلی میلوم مولتیپل نداشته‌است *(De novo case)* در خون محیطی این فرد ۲۸ درصد و در مغز استخوان ۷۵ درصد پلاسموسیت وجود داشت.

جدول ۱- فراوانی انواع لوسمی‌ها در دو گروه کودکان و بزرگسالان

نوع لوسمی	گروه کودکان		گروه بزرگسالان	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
ALL	۵۰	۷۹/۴	۳۴	۲۱/۵
AML	۱۲	۱۹	۷۶	۴۸/۱
CLL	–		۱۹	۱۲
CML	۱	۱/۶	۲۴	۱۵/۲
HCL	–		۴	۲/۵
Plasma cell leukaemia	–		۱	۰/۶
جمع	۶۳	۱۰۰	۱۵۸	۱۰۰

جدول ۲- انواع زیرگروه‌های *AML* در بیماران بزرگسال

زیر گروه‌های *AML*	تعداد	درصد
M_1	۹	۱۱/۹
M_2	۱۹	۲۵
M_3	۸	۱۰/۵
M_4	۲۳	۳۰/۳
M_5	۱۴	۱۸/۴
M_6	۱	۱/۳
M_7	–	–
M_0	۲	۲/۶
جمع	۷۶	۱۰۰

* ۱۴ مورد *M5* شامل ۹ مورد *M5a* و ۵ مورد *M5b* بود.

برای تمام بیماران رنگ‌آمیزی *Sudan Blak B* انجام شد که در ۸۶ مورد از کل ۸۸ مورد *AML* واکنش مثبت بود، و از مجموع ۸۴ مورد *ALL* در ۸۱ مورد واکنش *SBB* منفی بود.

رنگ‌آمیزی *PAS* برای تمام موارد *ALL* انجام گرفت که در مجموع با ۶۱ درصد از موارد *ALL* کودکان واکنش مثبت داد.

در بین زیرگروههای ایمونولوژیک *ALL*، موارد *PAS* مثبت در گروه *C-ALL* بیشتر از گروههای دیگر بود. در گروه بزرگسالان واکنش *PAS* جمعاً در ۵۲ درصد موارد *ALL* گزارش شد که در مجموع اختلاف معنی‌داری با گروه اطفال نداشته‌است.

در مطالعات مورفولوژیکی مشخصات سلولی در ۷ مورد شباهت زیادی به *ALL-L2* داشت ولی واکنش مثبت استراز غیراختصاصی و سودان بلاک *B* و منفی‌بودن مارکرهای لنفوئیدی نهایتاً تشخیص M_5 و M_4 را مطرح ساخت.

آلفانفتیل استات استراز همچنین در یک مورد از ۳ مورد M_{3v} واکنش مثبت قوی نشان داد.

پس از تشخیص اولیه گروه و زیرگروه لوسمی بر پایه یافته‌های مورفولوژیک و واکنشهای سیتوشیمیایی فنوتیپ ایمنی سلولهای لوسمیک در گستره‌های تهیه شده از خون محیطی و یا مغز استخوان با استفاده از مجموعه‌ای از آنتی‌بادیهای منوکلونال مورد بررسی قرار گرفت.

تمام نمونه‌های *AML* از نظر مارکرهای *HLA-DR*، $CD_{13}, CD_{14}, CD_{33}$ مورد آزمایش قرار گرفتند مارکر CD_{13} در ۳۸ مورد از ۸۸ مورد *AML* نشان داده شد که شامل ۸ مورد M_1، ۱۸ مورد M_2، ۲ مورد M_0 و ۱۰ مورد M_5 بود.

مارکر CD_{33} در ۸۴ مورد از کل ۸۸ مورد *AML* مثبت بود. در این گروه سلولها بین ۹۰-۲۰ درصد (به طور متوسط ۷۴ درصد) این آنتی‌ژن را بیان می‌کردند.

۳۷ مورد *AML* برای مارکر CD_{14} مثبت بود که شدت بیان این مارکر در موارد M_{5b} بیشتر (۷۴ درصد) و در موارد M_4 و M_{5a} کمتر و به ترتیب ۴۰ درصد و ۵۷ درصد می‌باشد. *HLA-DR* در ۶۶ مورد از ۸۸ مورد *AML* در دو گروه کودکان و

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:54 IRDT on Saturday July 21st 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-17]

بزرگسالان مثبت بود. موارد منفی بیشتر متعلق به زیرگروههای M_{5b} و M_3 بود که در ۳ مورد M_{3v} نیز بر خلاف موارد تیپیک M_3، مارکر HLA-DR بیان شد.

فنوتیپ ایمنی برای انواع موارد ALL و موارد مشکوک AML انجام گرفت، با الهام از اطلاعات موجود در منابع، سلولهائی که مارکرهای CD_{10},TdT,HLA-DR و CD_{19} را قویاً بیان کرده و فاقد آنتی‌ژنهای CD_2,CD_5,CD_{20},CD_{22},CD_{21} می‌باشند را به عنوان Early pre-B-cell All یا Common All و سلولهایی که دارای مارکرهای CD_{19},CD_{10} HLA-DR، CD_{22} و CD_{20}، (به عنوان Cytoplasmic antigen) و TdT بوده و فاقد CD_5 CD_{21},CD_2 می‌باشند در دسته pre B-ALL طبقه‌بندی گردیدند.

همچنین سلولهایی که آنتی‌ژنهای CD_{21},CD_{20},CD_{19} HLA-DR را بیان کرده و فاقد مارکرهای CD_2,CD_5,CD_{22},TdT در دسته B-cell ALL قرار داده شدند و بالاخره آن دسته از موارد ALL که آنتی‌ژنهای CD_5,CD_2 را قویاً بیان کردند T-cell ALL تقسیم‌بندی شدند.

انواع زیرگروههای ایمونولوژیک ALL در دوگروه کودکان و بزرگسالان در جدول شماره ۳ نشان داده شده‌است.

در میان گروههای ایمونولوژیک اختلاف معنی‌دار در بروز T-cell ALL در دو گروه کودکان و بزرگسالان وجود دارد ($P<0.001$) بیان مارکر TdT در ۷۹ مورد از ۸۴ بیمار ALL مورد بررسی (۹۴ درصد) نشان داده شد که چهار مورد TdT منفی متعلق به سه بیمار با زیرگروه C-ALL و یک مورد B-Cell ALL در گروه کودکان و تنها یک مورد TdT در زیرگروه C-ALL بزرگسالان مشاهده گردید.

۳ مورد از مجموع ۲۹ مورد T-ALL علاوه بر مارکرهای لنفوسیتهای T دارای مارکرهای سلولهای B نیز بودند. در گروه کودکان زیرگروههای ALL هر یک از نظر بیان مارکرها گروه هتروژنی را تشکیل می‌دهند که در C-ALL بیشترین ایمونوفنوتیپ مربوط به فنوتیپ تیپیک C-ALL (CD_{10}^+,CD_5^-,CD_{19}^+,CD_{33}^-,TdT^+,$HLA\text{-}DR^+$) بود.

جدول ۳- انواع زیرگروههای ایمونولوژیک ALL در دو گروه کودکان و بزرگسالان

زیرگروههای ایمونولوژیک ALL	گروه کودکان		گروه‌بزرگسالان	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
Early Pre-B cell ALL or Common-ALL	۳۴	۶۸	۱۴	۴۱
Pre-B-ALL	۴	۸	۲	۶
B-cell-ALL	۱	۲	–	
T-cell-ALL	۱۱	۲۲	۱۸	۵۳
جمع	۵۰	۱۰۰	۳۴	۱۰۰

در گروه بزرگسالان نیز C-ALL ایمونوفنوتیپ یکسانی نداشتند و مانند کودکان گروه هتروژنی را تشکیل می‌دهند.

در مجموع، موارد T-ALL در این مطالعه از هموژنیسیته بیشتری برخوردار بودند، به طوری که در ۲۴ مورد از ۲۹ مورد دارای ایمونوفنوتیپ زیر بودند:

CD_2^+,CD_5^+,CD_{10}^-,CD_{19}^-,CD_{20}^-,$HLA\text{-}DR^-$,TDT^+,CD_{33}^-

از مجموع ۸۴ مورد ALL مورد مطالعه فقط یک مورد B-CeLL ALL در گروه کودکان مشاهده شد که دارای ایمونوفنوتیپ زیر بود.

CD_2^-,CD_5^-,CD_{10}^-,CD_{19}^+,CD_{20}^+,CD_{21}^+,CD_{22}^+ $HLA\text{-}DR^+$,TDT^-

ایمونوفنوتیپ بیمارانی که از نظر مورفولوژیک CLL تشخیص داده شده بودند نیز با استفاده از آنتی‌بادیهای منوکلونال CD_2^-,CD_5^-,CD_{19}^+,CD_{22}^+,HLA-DR, مورد مطالعه قرار گرفت CD_2 در همه ۱۹ مورد CLL دارای واکنش منفی و بر عکس HLA-DR در همه موارد و به طور قوی (بیش از ۷۵ درصد) بیان شد. CD_5 که مارکر لنفوسیتهای T است در همه موارد CLL با درجه متفاوت (۵۵-۲۸درصد) بیان شد مولکولهای CD_{19} در غشاء سلولها به دو صورت ضعیف (۳۹ درصد) و قوی (۶۱ درصد) بیان گردیدند CD_{22} در ۱۲ مورد از ۱۹ مورد CLL در بیشتر از ۲۰ درصد سلولها و در بقیه به طور متوسط در ۸ درصد سلولها مثبت بود. بنابراین تمام موارد CLL

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:54 IRDT on Saturday July 21st 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-17]

در این مطالعه از نوع B-CLL بوده و T-CLL که لوسمی نادری می‌باشد مشاهده نشد.

در این مطالعه ۴ مورد HCL از نظر مورفولوژیک و کلینیکی تشخیص داده شد که در واکنش به Tartarte-resistant acid phosphatase در سه مورد مثبت و یک مورد منفی بود. ایمونوفنوتیپ HCL با CD22,HLA-DR واکنش مثبت داد ولی با مارکرهای CD5,CD10 واکنش منفی بود.

۳ مورد از ۲۵ مورد CML که در خون محیطی دارای درصد بالایی از بلاست بودند (بیش از ۲۰ درصد)، وجود مارکرهای CD5,CD10,CD33 در آنها بررسی شد. در ۲ مورد بلاستها از نوع میلوئید با مارکرهای $CD5^-,CD10^-,CD33^+$ و یک مورد از نوع لنفوئیدی با مارکرهای $CD5^-,CD10^+,CD33^-$ مشخص گردیدند.

سلولهای خون محیطی بیمار مبتلا به Plasma cell leukemia دارای ایمونوفنوتیپ $CD2^-,CD5^-,HLA\text{-}DR,CD22^-$ بود.

بحث و نتیجه‌گیری

تشخیص نوع لوسمی (خصوصاً لوسمی‌های حاد) برای پیش‌بینی وضعیت بیماری و انتخاب روش درمان در همه موارد با بررسی خصوصیات مورفولوژیک سلولها امکان‌پذیر نبوده و لذا برای رسیدن به تشخیص صحیح به انجام تستهای سیتوشیمیایی و تعیین فنوتیپ ایمنی سلولها و حتی مطالعات سیتوژنیک نیاز می‌باشد. از ۲۲۱ بیمار دچار لوسمی تعداد ۶۳ مورد در کودکان بود که ۷۹/۴ درصد ALL و ۱۹ درصد AML می‌باشد. این نتایج با مطالعات انجام شده در کشورهای غربی که ۸۰ درصد ALL و ۲۰ درصد AML و سفیدپوستان آفریقای جنوبی که ۸۱ درصد ALL و ۱۹ درصد AML لوسمی‌های حاد کودکان را تشکیل می‌دهند کاملاً مطابقت دارد[۲۱و۱۷،۴].

این ارقام برای سیاه‌پوستان آفریقای جنوبی به ترتیب ۵۴ و ۴۶ درصد برای ALL و AML گزارش شده‌است که با این مطالعه اختلاف معنی‌دار نشان‌می‌دهد ($p<0.01$).

در گروه بزرگسالان ۶۷ درصد مبتلا به AML و ۳۳ درصد مبتلا به ALL می‌باشند که با گزارشات کشورهای غربی که AML در ۸۰ درصد و ALL در ۲۰ درصد گزارش شده اختلاف دارند[۲۱و۴].

از ۱۵۸ بیمار بزرگسالان مبتلا به لوسمی‌های حاد و مزمن ۱۵/۲ درصد CML و ۱۲ درصد CLL تشخیص داده شد که به ترتیب با ۲۰ و ۳۰ درصد ذکرشده در کشورهای شمال آمریکا و اروپا و نسبتاً نادر در مورد CLL در کشورهائی چون چین و ژاپن اختلاف دارد[۲۱و۴]. این اختلاف در مورد CLL معنی‌دار می‌باشد ($p<0.01$).

زیرگروههای ALL کودکان بر اساس سیستم طبقه‌بندی FAB با اعداد ذکرشده در منابع همخوانی دارد[۱۶و۴]. در گروه کودکان بیشترین زیرگروه AML مربوط به M_4 (۶۶/۶ درصد) بود.

در گروه بزرگسالان نیز ۴۷/۱ درصد L_1 و ۵۲/۹ درصد L_2 تشخیص داده شد که این نتایج با گزارشات قبلی که درصد وقوع L_2 را در بزرگسالان بالاتر از L_1 عنوان کرده‌است مطابقت دارد[۱۹و۴].

وجود گرانولهای آزروفیلیک در لنفوبلاست‌ها ممکن است تشخیص AML را مطرح سازد از این رو در این مطالعه لنفوبلاست‌بودن این سلولها با واکنش منفی با سودان بلاک B و بیان مارکرهای مخصوص لنفوبلاستها مورد تأیید قرار گرفت.

درصد انواع زیرگروههای AML بر اساس معیارهای گروه FAB[۲۱و۴] با نتایج حاصل از این مطالعه در اکثر موارد هماهنگی دارد و تنها اختلاف معنی‌دار ($P<0.001$) در زیرگروه M_4 مشاهده گردید که در این مطالعه بیشتر از کشورهای غربی می‌باشدسودان بلاک B که در موارد لوسمی‌های حاد انجام شد، در تمام موارد ALL و فقط ۲ مورد از AML منفی بود، مطالعات بیشتر نشان داد که این ۲ مورد AML شبه ALL دارای مارکرهای میلوئیدی و فاقد مارکرهای لنفوئیدی‌اند، لذا با توجه به خصوصیات مورفولوژیکی و ایمونولوژیکی تشخیص Mo برای آنها داده شد. ایمونوفنوتیپ این دو شامل:

$CD5^-,CD10^-,CD13^+,CD33^+,TdT^+,HLA\text{-}DR^+$ و واکنش PAS در آنها منفی بود.

واکنش PAS در ۶۴ درصد موارد ALL کودکان مثبت گردید. در مطالعه‌ای که توسط Lilleyman و همکاران در کودکان گروه سنی ۶-۱ سال انجام گرفت این واکنش را در ۵۵ درصد موارد

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:54 IRDT on Saturday July 21st 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-17]

مشاهده کردند[۱۶]. در مجموع ۵۲ درصد از موارد ALL بزرگسالان PAS^+ و ۴۸ درصد PAS^- و ۴۸ درصد PAS^- بودند، لذا این نتایج ارزش کم PAS را برای تشخیص افتراقی ALL از AML مشخص می‌سازد.

در این بررسی از ۵۰ مورد ALL کودکان ۶۸ درصد C-ALL ۸ درصد Pre B-ALL، ۲ درصد B-cell ALL و ۲۲ درصد T-cell ALL بودند مطالعاتی که در کشورهای غربی انجام شده زیرگروههای ایمونولوژیک ALL را برابر ۶۰-۵۵ درصد C-ALL، ۱۵ درصد Pre B-ALL، ۱ درصد B-cell ALL و ۲۰ درصد T-cell ALL ذکر می‌کنند[۱۲و۷]. مطالعه‌ای که در شیراز روی ۵۵ مورد ALL انجام شده [۱] نشان دهنده درصد بیشتری C-ALL (۸۸/۶ درصد) و B-ALL (۵/۸ درصد) و درصد کمتری Pre B-ALL (۲/۸ درصد) T-cell ALL (۰ درصد) Unclassified (۲/۸ درصد) می‌باشد. که در همه موارد اختلاف معنی‌دار را با این مطالعه نشان می‌دهد ($p<0.05$).

تمامی ۱۹ مورد CLL دارای مارکرهای لنفوسیتهای B بودند بنابراین T-CLL در این مطالعه دیده نشد. در این مطالعه بیشترین ایمونوفنوتیپ متعلق به C-ALL در گروه کودکان (۶۸ درصد) و T-cell ALL در ALL گروه بزرگسالان بودکه با مطالعات دیگر مطابقت دارد.[۱۲و۱۰،۷].

این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که جهت تشخیص صحیح و انتخاب درمان مناسب و دانستن پیش‌آگهی بیماری بررسی‌های مورفولوژیک به تنهایی همیشه پاسخگو نیست و از آنجا که رنگ‌آمیزی‌های سیتوشیمیایی نیز گاهاً نتایج گمراه‌کننده دارد بررسی مارکرهای سلولی از اهمیت زیادی برخوردار است.

تذکر: این مقاله خلاصه طرح تحقیقاتی کد ۱۰۱ تحت عنوان «استفاده توأم از روشهای مورفولوژیک، سیتوشیمیائی و ایمونولوژیک جهت تشخیص و طبقه‌بندی انواع لوسمی‌ها در تهران» می‌باشد که در شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران به تصویب رسیده‌است.

REFERENCES

۱- امیر غفران زهرا، تعیین فنوتیپ ایمونولوژیکی لوسمی لنفوبلاستیک حاد، پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه علوم پزشکی تربیت مدرس سال ۱۳۶۷

2) Bennett, Catovsky, D.et al; Proposal for the classification of the acute leukemias; Br.J. Haematol 33: 1976: 451-458

3) Bennett.J.M, Catovasdy D,Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Grlnick HR & Sultan C; Proposed revised criteria for classification myeloid leukemia; Annals of internal medicine, 103: 1985: 629-920

4) Bain, B.J; Leukaemia diagnosis, A Guide to the FAB Classification; Gower Medical Publishing, 1990: 1-112

5) Bennett J.M, Catovsky D, Daniel M. T, Flandrin G, Galton DAG Gralnick HR & Sultan C; Proposals for the classification of chronic (mature)B and T lymphoid Leukaemias; Journal of clinical pathology,(42) 1989: 567-584

6) Borowitz M.J; Immunologic markers in childhood ALL; Hematology, Oncology Clinics of North America; Vol 4, 1990: 729-735

7) Cabrera M.E; Immunologic classification of acute lymphoblastic leukemia; The American Journal of Pediatric Hematology/Oncology, 12: 1990: 283-291

8) Cordell J.L, Falini B, Erber W.N, et al; J-Histochem, Cytochem (32): 1984: 219

9) Erber W.N. & Mason D.Y; Immuno alkaline phosphatase labelling of terminal transferase in haematologic samples; Am. J Clin Pathol (88) 1987: 43-50

10) Furst MIC Cooperative study group;

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:54 IRDT on Saturday July 21st 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-17]

Morphoglogic, immunologic and cytogenetic (MIC working classification of acute lymphoblastic leukaemia; cancer genetics and cytogenotics 23: 1989: 189-197

11) Immunological reagents and kits for research and clinical laboratories; product catalogue, Dako Tech mate, 1995: 139-150

12) Janossy G. et al; Terminal transferase enzyme assay and immunlogical memberane markers in the diagnosis of leukemia; British Journal of Haematology (44) 1980: 221-224

13) Lilleyman J.S. et al; Blast vacuoles in childhood lymphoblastic leukemia; Br; J. of haematol(70) 1988: 283-286

14) Mason D.Y. Erber W.N. et al; Methods in Haematology, Monoclonal antibodies; Churchil Livingstone 13: 1986, 145-181

15) Mc Michael AJ; Leucocyte typing III, White cell differentiation antigens; Oxford; Oxford University Press, 1987: 25-47

16) Mc Kenna RW et al; Cytochemical; profiles in ALL; AM.J. Pediatr. Hematol oncol, 1: 1979-263

17) Mac Dougall LG; Acute childhood Leukemia in johaunesburg Leuk; Res,(4) 1995: 765

18) Nelson DA, Davey FR; leukocyte studies in: Wiliams WJ, et al, Hamatology, Fourth edition Mc Graw-Hill, 1991: 1747-1753

19) Riberio RC et al; Vertebral compression fractures as a presenting feature of acute lymphoblastic leukemia in childern; Cancer(61) 1988: 589

20) Silver berg E, Lubera J.A; Cancer Statistics CA,(39) 1989:3

21) Sullivan A,K; Classification, Pathogenesis, and etiology of neoplastic disease of the hematopoietic system, Wintrobes Clinical Hemotology, 9th ed, volume (2), 1993: 1725

22) William J.W et al; Hematology, 4th edition, 1991: 236-250

تعریف فرآورده‌های گیاهی

گیاهان و یا قسمتی از گیاهان و فرآورده‌های حاصل از آنها به صورت خام و یا فرآوری شده در صورتی که برای پیشگیری، درمان، سلامتی جسم و روان و یا تأثیر بر اعمال فیزیولوژیک بدن بکار روند فرآورده گیاهی تلقی می‌شود.

شورای بررسی و تدوین داروهای گیاهی ایران

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:54 IRDT on Saturday July 21st 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-17]

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 10:54 IRDT on Saturday July 21st 2012

DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF LEUKEMIAS USING MORPHOLOGIC, CYTOCHEMICAL STAINING PATTERN AND IMMUNOLOGIC CRITERIA IN TEHRAN HOSPITALS

A. Kazemi, Ph.D., P. Vossough. M.D.*, A. M.Moazedi, M.D.*,*
*P. Shahandeh,M.D**. F. Shokri, Ph.D.***, S. Hosseini.Ph.D.****,*
*F. Ahmadieh,Ph.D****., A. Farahbakhsh,Ph.D****.*

ABSTRACT

221 samples of leukemic patients were studied, using morphologic, cytochemical staining pattern and immunophenotyping criteria. Patients included 63 children and 158 adults. Out of the adult group, 110 cases had acute leukemia including 67% AML, 33% ALL. In this group, 24 cases of CML, 19 cases of CLL, 4 cases of HCL and one case of plasma cell leukemia were classified. Out of 63 cases of leukemia in children, 79.4% diagnosed as ALL, 19% AML and 1.6% JCML.

Among subgroups of AML in adults, only M_4 showed to have significant differences (p= 0.001) with the results from Wester countries.

According to FAB criteria, L_1 and L_2 morphology were the most common types of ALL, respectively in children and adults. In adults 15.2% of chronic leukemia belonged to CML and 12% to CLL. The comparsion of present results with other studies in Western countries showed the lower incidence of CML and CLL in Tehran. The difference was significant only in CLL.

Immunophenotype of all CLL cases was B-CLL and no T-CLL was observed. The most common immunophenotype of ALL was C-ALL (68%) and T cell ALL (53%) , respectively in children and adults.

Key words: **1) Leukemia** **2) Morphology** **3) Cytochemical** **4) Immuno phenotypin criteria**

* *Faculty Member of Iran University of Medical Sciences and Health Services*

** *Faculty Member of Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services*

*** *Faculty Member of Tehran University of Medical Sciences and Health Services*

**** *Dr. of Lab Medicine*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-05-17]