

دور التنميط المناعي في تشخيص الابيضاض الحاد

رندا عوامة*

الملخص

خلفية البحث وهدفه: ابيضاض الدم الحاد اضطراب خبيث وحيد النسيلة يصيب طليعة الخلايا النقوية أو اللمفاوية، فتفقد هذه الخلايا قدرتها على النضج والتميز، وتتكاثر بشكل غير مسيطر عليه، وترتفع في أعضاء أخرى.

يعتمد تشخيص الابيضاض الحاد وتصنيفه على دراسة أشكال الخلايا وتلويحات الكيمياء الخلوية، وقد تطورت الطرائق التشخيصية، خاصة في مجال دراسة البيولوجيا الجزيئية والتنميط الخلوي المناعي، لذلك هدفت الدراسة إلى تقييم ومقارنة نتائج التنميط الخلوي المناعي في تشخيص الابيضاضات الحادة اللمفاوية والنقوية، ومقارنتها بنتائج التشخيص بالطرائق التقليدية التي تعتمد على دراسة شكل الخلايا (في لطاخة الدم المحيطي وفي بزالة نقي العظم)، وإجراء التلويحات الخمائرية (وهي تلوين أسود السودان الـ SBB وكاشف شيف الدوري الـ PAS).

مواد البحث وطرائقه: أجريت الدراسة بطريقة استرجاعية تحليلية في مستشفى المواساة الجامعي على 104 مريض ذكوراً وإناثاً، راوحت أعمارهم بين الـ 14 - 75 بين العام 2013 - 2016، وشُخص المرضى بناءً على الفحص السريري، ودراسة شكل الخلايا، والتلويحات الخمائرية، وإجراء التنميط الخلوي المناعي قبل تلقي العلاج، وفُورنت نتائج التشخيص باعتماد التنميط الخلوي المناعي مع نتائج التشخيص بالطرائق التقليدية.

النتائج: شُخصت 84 حالة (83%) بالاعتماد على الطرائق التشخيصية التقليدية (دراسة أشكال الخلايا، وإجراء التلويحات الخمائرية)، وحُدثت 55 حالة ابيضاض نقوي حاد (65,47%)، و29 حالة ابيضاض لمفاوي حاد (34,52%)، في حين لم يُحدد نوع الابيضاض الحاد بشكل دقيق في 18 حالة (17%)، و وحُدث النمط الفرعي في 30 حالة ابيضاض نقوي حاد (54,54%)، وفي 21 حالة ابيضاض لمفاوي حاد (72,41%)، بالمقابل أكد التنميط الخلوي المناعي تشخيص نوع الابيضاض الحاد وتحديده في 98 حالة (95% من الحالات)؛ وقد حُدثت 67 حالة ابيضاض نقوي حاد مع أنماطها الفرعية، و31 حالة ابيضاض لمفاوي حاد مع أنماطها الفرعية.

الاستنتاج: يجب استخدام الوسائل كلها التي تساعد في وضع التشخيص الصحيح للابيضاض الحاد، وتحديد نمطه، ونمطه الفرعي لما له من أهمية كبيرة في تحديد الإنذار، ووضع خطة المعالجة، إن تشخيص الابيضاض الحاد بالطرائق التقليدية مفيد لكنه غير كافٍ، من هنا تأتي أهمية اللجوء إلى الوسائل التشخيصية الحديثة، وخاصة التنميط الخلوي المناعي فقد أظهرت الدراسة أنه وسيلة تشخيصية مهمة ومفيدة في تشخيص الابيضاض الحاد، وخاصة في تحديد الزمر الفرعية.

الكلمات المفتاحية: التلويحات الخمائرية- التنميط الخلوي المناعي - ابيضاض حاد .

* عضو هيئة تعليمية - قسم الأمراض الباطنية - كلية الطب البشري - جامعة دمشق.

Role Of Flow Cytometry in Diagnosing Acute Leukemia

Randa Awameh*

Abstract

Background& Objective: Acute leukemia is a malignant neoplasm that affects the myeloid or lymphatic cells. These cells lose their ability to mature and differentiate, grow uncontrollably and become susceptible to other organs. The diagnosis and classification of acute leukrnia depends on the study of cell morphology and cell chemistry. The diagnostic methods have developed especially in the field of molecular biology and immunophenotyping. The study aimed to evaluate and compare the results of immunophenotyping in the diagnosis of acute myeloid leukemia and acute lymphocytic leukemia and comparing them with the results of the diagnosis using conventional methods based on the study of the shape of the cells (in the peripheral blood smear and bone marrow removal) and the conduct of the chemical coloring (SBB black coloration and PAS).

Research materials & methods: The study was conducted retrospectively in theAL- Mouwasat University Hospital on 104 patients, between the ages of 14 - 75 between 2013 and 2016. Patients were diagnosed based on clinical examination, cell shape study, Prior to receiving treatment, the results of the diagnosis were compared with the adoption of immunophenotyping with conventional diagnostic results

RESULTS: 84 cases (83%) were diagnosed based on traditional diagnostic methods (cell pattern study and sham coloring). 55 cases of acute myeloid leukemia (65.47%), 29 cases of acute lymphocytic leukemia (34.52%), while the type of acute leukemia was not determined accurately in 18 cases (17%). The subtype was identified in 30 cases of acute myeloid leukemia (54.54%) and 21 cases of acute lymphocytic leukemia (72.41%).In contrst , immunophenotyping confirmed the diagnosis and identification of acute leukemia in 98 cases (95% of cases). 67 acute myeloid leukemia cases were identified with their subtypes and 31 cases of acute lymphocytic leukemia with their subtypes

CONCLUSION: All methods should be used to help determine the correct diagnosis of acute leukemia and determine its pattern and subtype as it is of great importance in the identification of the alarm and the development of the treatment plan. The diagnosis of acute leukemia in conventional methods is useful but not sufficient, especially immunophenotyping I, the study showed that it is an important and useful diagnostic tool in the diagnosis of acute leukemia especiallyin the determination of subgroup.

Keywords: Chimera coloring- immunophenotyping - Acute leukemia

* Internal department, Faculty of Medicin, Damascus University.

المقدمة:

• تلوينات كيمياء الخلية (التلوينات الخمائرية): أكثر الملونات استخداماً:⁵

o تفاعل البيروكسيداز النقية (MPO)، و تلوين أسود السودان (SBB)، والاستيراز النوعية (SE)، والاستيراز غير النوعية (NSE): هذه التلوينات تكون إيجابية في الـ AML o كاشف شيف الدوري بحمض فوق اليود (PAS): يكون إيجابياً في الـ ALL. جدول (1) في الملحق.

الدراسة المناعية: يمكن تحديد هوية الخلايا عن طريق نمطها المناعي Immunophenotyping الذي يعتمد على دراسة واسمات الخلية Markers؛ وهي مستضدات غلوبينية مناعية (موجودة على سطح غشاء الخلية وهيولاه) والإنزيمات التي توجد في الهيولى أو النواة.⁷

الطرائق المستخدمة في دراسة التتميط الخلوي المناعي:⁷ الكيمياء النسيجية المناعية Immunohistochemistry.

الومضان المجهرى Fluorescence microscopy.

القياس الخلوي بالتدفق Flow cytometry .

إن طريقة القياس الخلوي بالتدفق هي الأكثر حساسية ونوعية، فهي تسمح بدراسة أعداد كثيرة من الخلايا، وتقدم معايير تصنيفية أكثر موضوعية من الطرائق الأخرى، وهي أكثر حساسية و نوعية في تحديد الزمر الخلوية النادرة (بسبب كثرة الخلايا المدروسة)، وقدرتها على جمع البيانات بشكل قائمة تمكن من إجراء دراسة لاحقاً.⁷

القياس الخلوي بالتدفق Flow cytometry:¹⁰

هو قياس صفات عدّة للخلية في أثناء مرورها في وسط سائل ملحي (نظام الجريان)، وتكون بواسطة آلة تعتمد على الليزر في عملها لقياس صفات حيوية متعددة لمجموعة من الخلايا غير متجانسة في آنٍ واحدٍ وبصورة سريعة ونوعية، وكل قياس يصدر عن خلية وحيدة يُجمع من قبل الكواشف يسمى معياراً.¹³⁻¹⁴ أصبحت دراسة التتميط المناعي بواسطة آلة القياس الخلوي بالتدفق

توصف ابيضاضات الدم الحادة بأنها تكاثر غير مضبوط لطلائع الخلايا الدموية، مع توقف عملية التمايز والنضج في هذه الخلايا، إذ تسيطر الخلايا السرطانية على النسيج النقوي وتستبدل عناصر النقي الطبيعية وتثبط عملية الإنتاج الطبيعي للخلايا الدموية، قد ترتشح في أعضاء أخرى (طحال، كبد، دماغ...الخ). مسببة الوفاة سريعاً إذا لم تُعالج.¹⁰

تقسم ابيضاضات الحادة إلى ابيضاض نقوي حاد AML (المشتق من الأرومات النقية)، و ابيضاض لمفاوي حاد ALL (المشتق من الأرومات اللمفاوية). من المهم التمييز بين نوعي ابيضاض لما بينهما من اختلاف في الإنذار، وطرائق المعالجة، فالنفيق بينهما يُعدّ الخطوة الأولى في تحديد نمط العلاج. قد يكون التمييز بين AML و ALL واضحاً وسهلاً اعتماداً على الصفات الشكلية للخلايا، ولكن يتطلب التشخيص في حالات كثيرة إجراء العديد من الفحوص والاختبارات النوعية كالتلوينات الكيميائية الخاصة، أو التتميط الخلوي المناعي؛ فضلاً عن إلى الشذوذات الصبغية والمورثية المعتمدة على الدراسة الصبغية والجينية الجزيئية.¹⁰

• دراسة شكل الخلايا: تختلف الخلايا ابيضاضية عن بعضها بعضاً، وعن الخلايا الطبيعية الناضجة؛ لذلك يمكن تصنيفها إلى أنماط فرعية وفقاً لـ:

- o حجم الخلية.
- o نسبة النواة إلى الهيولى.
- o وجود حبيبات سيتوبلاسمية.
- o ملامح أخرى.¹⁰

وتُعدّ الميزة الشكلية الوحيدة المحددة لنوع السلسلة الخلوية المصابة هي وجود جسيمات أور (بنى خطية حمراء اللون في الأرومة)، فهي مشخصة للسلسلة النقية.

طريقة مهمة وسريعة، وتستخدم على نطاق واسع في تشخيص الخباثات الدموية، ووضع التشخيص الصحيح للابيضاضات الدموية، والاضطرابات التكاثرية للمفاوية، فضلاً عن تقديم معلومات متعلقة بالإنذار والمعالجة. ويبقى الدور الأساسي لهذه الآلة هو دعم وإضافة معلومات إلى نتائج الدراسة الشكلية والخمائية، لا أن تحل محلها.⁷⁻⁸ إن الخلايا (CDs) المميزة للأنماط الخلوية.

أهم واسمات السلسلة النقية واللمفاوية:¹³⁻¹⁴ الجدول (1) و الجدول (2)

الجدول (1) : أهم واسمات السلسلة النقية.

أهم الواسمات الواسمة الإيجابية	النمط الفرعي	أهم الواسمات الواسمة الإيجابية	النمط الفرعي
DR,CD15,CD14 ^{+/} -CD33 ^{>} CD13,CD34 ^{+/}	M4	DR,CD13,CD33, /-, TdT ^{+/} /CD34,CD7	M0
CD56 ^{+/} M4 يشبه	M5	CD15 ⁺ عدا M0 يشبه	M1
DR,CD13 ^{+/} -CD33 ^{+/} -CD34,CD45weak, CD71,Glycophorin ⁺	M6	DR,CD13,CD33 moreCD15and lessCD34 than M1	M2
DR ^{+/} -,CD33 ^{+/} -,CD34,CD41,CD61	M7	DR(-)CD33,CD15, +/-,CD33,CD34,CD2	M3

الجدول (2): أهم واسمات السلسلة للمفاوية

أهم الواسمات الواسمة الإيجابية	النمط الفرعي	أهم الواسمات الواسمة الإيجابية	النمط الفرعي
CD19 ^{+/} -CD22 ^{+/} -2atleast TdT ⁺ CD10 ^{+/} -y cyto ⁺	Mat ure	CD19 ^{+/} -CD22 ^{2at} least DR ⁺ TdT ⁺ CD10 ⁻	ProB
CD3 ⁺ CD7 ⁺ CD2 ⁺ CD5 ^{+/} - CD8 ^{+/} -	preT	CD19 ^{+/} -CD22 ^{2at} least TdT ^{+/} -CD10 ⁺ DR ⁺	PreB
CD7 ⁺ CD2 ⁺ CD5 ⁺ CD10 ^{+/} - CD34-DR ^{+/} -	T ALL	CD19 ^{+/} -CD22 ^{2at} least DR ⁺ TdT ⁺ CD10 ⁺	commun

مأخوذة من الدم المحيطي ونقي العظم لم تجده هذه الدراسة اختلافاً مهماً في الحساسية التشخيصية بينهما.⁷ صُنِّقَت الابيضاضات الحادة وفقاً لنظام التصنيف ال FAB (التصنيف الفرنسي والأمريكي والبريطاني) إلى نمطين رئيسيين هما ALL و AML، يعتمد هذا التصنيف على دراسة أشكال الخلايا، و التلوينات الكيميائية الخلوية يعتمد التصنيف التقليدي لل AML على نظام التصنيف FAB على تقسيم ال AML إلى ثمانية أنماط فرعية وفقاً لسلسلة الأرومات المسيطرة في الدم المحيطي أو النقي

يجرى التتميط المناعي على عينات مأخوذة من:³
 • الدم المحيطي: يستخدم عندما تكون الخلايا الشاذة بأعداد كافية في الدم المحيطي، أو عند تعذر إجراء بزل نقي العظم.⁷⁻⁹
 • نقي العظم: يشكل مصدراً أكثر تجانساً للخلايا الشاذة.⁷ لا يوجد اختلاف مهم في الحساسية التشخيصية لهذين المصدرين المختلفين للعينات، فدراسة Griffin التي أُجريت اجريت عام 2003 على 31 مريضاً مصاباً بابيضاض نقوي حاد، وقرنت نتائج تحليل التتميط المناعي لزوج عينات

ودرجة تمايزها (من AML-M0 إلى AML-M7)،⁵ ويعتمد تشخيص AML حسب هذا التصنيف على وجود أرومات بنسبة تتجاوز 30% في النقي أو في الدم المحيطي. ويبيّن الجدول (2) الموجود في ملحق البحث ميزات الأنماط المختلفة من الـ AML بحسب تصنيف الـ FAB. و قُسمَ ALL حسب نظام التصنيف FAB إلى ثلاثة أنماط فرعية (من ALL1 إلى ALL3)⁵ حسب الصفات الشكلية للأرومات في الدم المحيطي، أو في نقي العظم (قد تكون الأرومات في الدم المحيطي غائبة، أو صعبة التمييز في 15% من الحالات) ويبيّن الجدول (3) في الملحق ميزات الأرومات في أنماط الـ ALL. و لكن شأن تصنيف الـ FAB محدود في توقع الإنذار واختيار العلاج الأكثر نوعية، لذا - برعاية منظمة الصحة العالمية (WHO) - تصنيف آخر سمي تصنيف WHO، سيحل مكان FAB في المستقبل، وهو تصنيف جديد يضم فضلاً عن تصنيف الـ FAB الشذوذات الجينية الخلوية والجزئية⁴⁻⁵ إنّ الهدف من دراستنا هو تقييم تشخيص الابيضاض الحاد ومقارنته بالاعتماد على الطرائق التشخيصية التقليدية المعتمدة على دراسة شكل الخلايا (بدراسة الخلايا في لطاخة الدم المحيطي، و في بزلة نقي العظم)، وتلويّنات كيميائ الخلية، أو التلويّنات الخمائرية (وهي ملون SBB، وملون الـ PAS) مع نتائج التشخيص التي اعتمدت على التتميط الخلوي المناعي، لبيان أهمية هذه الطريقة في وضع التشخيص الصحيح والدقيق للابيضاض الحاد بنوعيه، وتحديد النمط الفرعي.

طريقة البحث ومواده:

نمط الدراسة والعينة: أُجريت الدراسة بطريقة استرجاعية تحليلية في مستشفى المواساة الجامعي، بلغ عدد المرضى ضمن الدراسة 104 مرضى؛ ذكوراً وإناثاً تراوح أعمارهم بين 14-75، اختيروا من بين المرضى الذين راجعوا عيادة

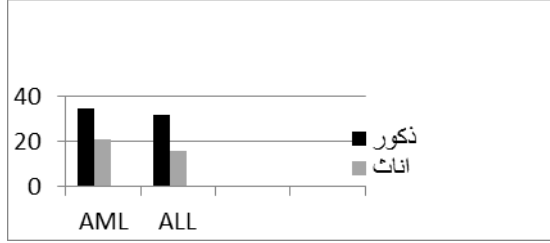
متغيرات الدراسة:

إجراء تعداد كامل لكريات الدم، ودراسة لطاخة الدم المحيطية، ودراسة بزلة نقي العظم وإجراء التلويّنات الخمائرية، والتتميط الخلوي المناعي.

طريقة العمل:

بعد أن يتم التقييم السريري للمرضى المراجعين لعيادة أمراض الدم في مستشفى المواساة الجامعي من قبل طبيب اختصاصي أمراض دم نأخذ عينة دم محيطي من المرضى الذين يشبه بوجود ابيضاض دم حاد لديهم، إذ يُجرى تعداد كامل لكريات الدم المحيطي في مخبر المستشفى، وبعدها تُحصَر وتُلَوّن شرائح لطاخة الدم المحيطي من قبل أطر طبية مؤهلة مؤلفة من كيميائيات وفنيات في مختبر أمراض الدم، ثم تُدرَس هذه اللطاخة من قبل الأساتذة والأطباء المختصين بأمراض الدم، إذ تُدرَس الكريات الحمر من ناحية الشكل والصبغ والحجم وتُدرَس الصفحات من ناحية العدد والتوزع وتُدرَس الكريات البيض من ناحية العدد والصبغة، وتُدرَس الخلايا الشاذة من ناحية حجم الخلية، ونسبة النواة إلى الهيولى، وشكل النواة، وعدد النويات فيها، والتحبب في الستوبلاسما، إن وجدت، فإن كان عدد الأرومات كافياً نجري التلويّنات الخمائرية على هذه الشرائح

دور التمييط المناعي في تشخيص الابيضاض الحاد



الشكل (1): توزع حالات الابيضاض الحاد بنمطيه حسب الجنس

راوحت أعمار المرضى في دراستنا بين الـ 14-75 سنة، ووُزعت الحالات حسب العمر في الجدول (3) نلاحظ في هذا الجدول زيادة معدل الإصابة بالـ AML بالعقد الثالث و السادس مع نسبة متساوية تقريباً في العقد الثاني والرابع والسابع، وبنسبة أقل بالعقد الخامس مع نسبة إصابة منخفضة بالعقد الثامن مع ازدياد معدل الإصابة بالـ ALL بالعقد الثاني والثالث، تليها الإصابة بالعقد الرابع، ونسبة قليلة بالعقد الخامس والسادس ولم توجد إصابات بالعقد السابع والثامن.

الجدول (3): توزع حالات الابيضاض الحاد حسب العمر

العمر	-70	-60	-50	-40	-30	-20	-10
عدد حالات AML	1	9	18	7	10	16	9
عدد حالات ALL	0	0	1	2	5	10	14
العدد الكلي	1	9	19	9	15	26	23

حُدّد نوع الابيضاض الحاد في 83 حالة بعد الدراسة بالطرائق التقليدية (79,80%)؛ أي بدراسة شكل الخلايا في لطاخة الدم المحيطية، وفي بزلة نقي العظم، ثم أُجريت التلويينات الخمائرية حسب خطة العمل. كان تعداد الكريات البيض مرتفعاً في 54 حالة؛ وتبيّن بعد دراسة أشكال الخلايا في لطاخة الدم المحيطي أنّ الأرومات تشكل 20-

أجربنا بزلاً لنقي العظم لمعظم المرضى، وبعدها حُضرت ولُوئت شرائح البزل في مختبر أمراض الدم، ثم دُرست بشكل مفصل من قبل أساتذة وأطباء الشعبة، بحيث تُدرّس السلاسل الدموية الثلاث، ويجري التركيز على الصفات الشكلية للخلايا الورمية وتُحدّد نسبتها بالنسبة إلى خلايا النقي، ثم يجري البدء بالتلوين بالـ SBB إذا كان التوجه المبدئي يتماشى مع AML، فإذا كان سلبياً نجري تلوين الـ PAS والعكس صحيح، و نظراً إلى أنّ نتائج ملون البيروكسيداز تماثل نتائج ملون SBB، فقد تم الاكتفاء بتلوين SBB الذي يُعدّ أكثر حساسية في تشخيص الـ AML، ثم يُجرى التمييط الخلوي المناعي بعد أخذ عينة من الدم المحيطي، أو من بزلة نقي العظم ضمن أنابيب خاصة، ويتم طلب الواسمات الخاصة بالابيضاض الحاد ثم مقارنة النتائج التي توصلنا إليها بعد الدراسة بالطريقة التقليدية مع نتائج الدراسة التمييطية المناعية.

النتائج: أُجريت الدراسة بطريقة استرجاعية تحليلية في مستشفى المواساة الجامعي على 104 مريض ذكوراً وإناً، راوحت أعمارهم بين 14-75 سنة، خلال المدة الزمنية 2013-2016، وجدنا بعد إجراء تعداد الدم الكامل أنّ تعداد الكريات البيض سويّاً في 30 حالة (28,8%) ومرتفعاً في 54 حالة (51,92%)، ومنخفضاً في 20 حالة (19,2%)، وترافقت 94 حالة مع فقر دم قبل العلاج (90,38%)، وترافقت 90 حالة مع نقص في الصفيحات (86,5%) بالنسبة إلى جنس المرض بلغ عدد الذكور في دراستنا 56 ذكراً (53,84%) 35 حالة AML (62,5%)، و 21 ALL (37,5%)، وبلغ عدد الإناث 48 أنثى (46,15%) 32 حالة AML (66,66%) و 16 ALL (33,33%) شكل 1؛ وهذا يشابه النسب في الدراسات العالمية.⁵

إيجابياً" في الأرومات المشاهدة في لطاخة الدم المحيطي أو بزل نقي العظم، في حين 29 (27,88%) كان فيها تلوين SBB والPAS سلبيين من بينها 8 حالات كانت دراسة شكل الخلايا فيها يتماشى مع ALL بوضوح لذلك شُخصَ ALL من النمط الذي يكون تلوين الـ PAS سلبياً في الأرومات، وبالنتيجة شُخصت 55 حالة AML (52,88%)، و 28 حالة ALL (26,92%) كان لدينا حالة واحدة كانت فيها بعض الأرومات تحمل صفات النمط النقوي، وبعضها تحمل صفات النمط للمفاوي في بزل نقي العظم؛ لذلك لُوّنَ SBB فكان إيجابياً، ولُوّنَ PAS أيضاً، وكان إيجابياً لذلك شُخصَ ابيضاض ثنائي النمط الظاهري شكل (2).



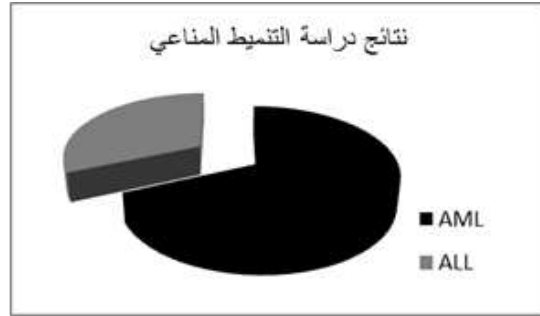
الشكل (2): نمط ابيضاض حسب شكل الخلايا والتلوينات الخمائرية أمّا بالنسبة إلى تحديد الزمر الفرعية، فقد حُدِّدَت الزمرة الفرعية في 30 حالة AML (54,54%) بعد تحديد صفات الأرومات، والنسبة المئوية لتلوين SBS للأرومات في لطاخة الدم المحيطية، أو بزل نقي العظم. وكانت النتائج حالة واحدة M0، و 3 حالات M1، و 7 حالات M2، و 8 حالات M3، و 8 حالات M4، وحالة واحدة M5، وحالتين M6 ولم تُحدَّد الزمرة الفرعية للابيضاض بدقة في 25 حالة (45,45%)، وحُدِّدَ النمط الفرعي في 21 حالة ALL (67,74%) حسب صفات الأرومات، وكانت النتائج 4 حالات L1، و 15 حالة L2، وحالتين L3، و 7 حالات (32,26) لم نحددها بدقة جدول (4).

100% من الخلايا، في حين كان تعداد الكريات البيض سويًا في 30 حالة، وتبيّن بعد دراسة شكل الخلايا في لطاخة الدم المحيطي أنّ الأرومات تشكل 12-80%، وكان تعداد الكريات البيض منخفضًا في 20 حالة، و بدراسة اللطاخة المحيطية أمكن مشاهدة نسبة قليلة من الأرومات لدى خمسة مرضى، والباقي لم تشاهد خلايا يمكن دراستها؛ لذلك اعتمد التشخيص فيها على بزل نقي العظم. كان التشخيص الأولي بعد دراسة اللطاخة المحيطية يتماشى مع AML في 44 حالة (42,3%)، ويتماشى مع ALL في 21 حالة (20,19%)، و 19 حالة (18,26%) لا يمكن تحديد نمط ابيضاض فيها بدقة و 20 حالة (19,23%) كان تعداد الكريات البيض فيها منخفضًا بشدة؛ لذلك يصعب تحديد نمط ابيضاض فيها، أجرينا بزل نقي العظم لـ 90 حالة من مرضى الدراسة، 14 حالة لم نجر فيها البزل لأنّ تعداد الكريات البيض في الدم المحيطي أكثر من 100 ألف كرية/100مل، ونسبة الأرومات مرتفعة وتمثل أكثر من 60% من الخلايا؛ لذلك أُجريت التلوينات الخمائرية على شرائح لطاخة الدم المحيطية. 5-7 بعد دراسة بزل نقي العظم تبيّن أنّ الأرومات نقوية في 51 حالة (56,66%)، ولمفاوية في 28 حالة (31,11%)، في حين 11 حالة (12,22%) كان من الصعب تحديد نمط الأرومة فيها بدقة. أُجريت التلوينات الخمائرية إلى مرضى الدراسة جميعهم حسب خطة العمل، 14 حالة كان تعداد الكريات البيض أكثر 100 ألف كرية/ 100مل؛ لذلك أُجريت التلوين الخمائري على عينة مأخوذة من الدم المحيطي، و 90 حالة أُجريت التلوينات الخمائرية على شرائح بزل نقي العظم، و 55 حالة (52,88%) كان تلوين SBB فيها إيجابياً، وكانت نسبة الإيجابية في الأرومات تراوح بين 2-100% من الأرومات المشاهدة في لطاخة الدم المحيطي، أو في بزل نقي العظم، و 20 حالة (19,23%) كان تلوين الـ PAS

الجدول(4): عدد حالات ALL حسب النمط الفرعي لتصنيف FAB

النمط الفرعي	L1	L2	L3
عدد المرضى	4	15	2

أما بالنسبة إلى دراسة حالات المرضى بعد إجراء التتميط المناعي الخلوي، أُجريت التتميط الخلوي المناعي على عينة مأخوذة من الدم المحيطي لدى 14 حالة ممن؛ كان تعداد الكريات البيض لديهم أكثر من 100 ألف كرية مع نسبة الأرومات أكثر من 60% من الخلايا، و90 حالة أُجريت على عينة مأخوذة من بزل نقي العظم، وقد بينت النتائج تشخيص 67 حالة AML أي بنسبة 95,71%، و32 حالة ALL بنسبة 96,87% و2 وحالتين ثنائية النمط الظاهري، النتائج في الشكل (3)

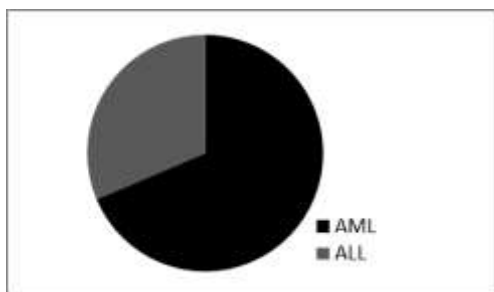


الشكل (3): يبين نمط الابيضاض حسب التتميط الخلوي المناعي

وهي تقارب النسب العالمية التي تؤكد قدرة هذه الطريقة على التمييز بين الـ ALL بنسبة 98%. بالنسبة إلى حالات AML كان CD45 إيجابياً في الحالات جميعها (100%) بنسبة تراوح بين 15-75% من الخلايا، وCD13 إيجابياً في 61 حالة (91,04%) و CD33 إيجابياً في 60 حالة (89,55%) بالنسبة إلى تحديد الزمر الفرعية، فقد كانت النتائج تتوافق مع M0 في 6 حالات إذ راucht إيجابية الـ CD13 بين 75-93% مع إيجابية CD33 بنسبة تراوح بين 72,5-98%. أما CD34 فكان سلبياً بحالة واحدة 12,9% وإيجابياً في باقي الحالات

راوحت نسبته بين 51,2-88%، و 4 حالات أبدت إيجابية CD11b، CD15 سلبياً في الحالات جميعها، والـ HLA-DR كان إيجابياً في الحالات جميعها، والواسمات للمفاوية كانت سلبية في 4 حالات، حالة واحدة كان فيها CD7 إيجابياً بنسبة 25,3% وحالة ثانية نسبته كانت 5,68%، وكانت نسبة الـ TDT بين 5-35,8%، وشخصت 15 حالة M1 كان فيها CD13 إيجابياً نسبته تراوح بين 64-99,5%، وكان CD33 سلبياً في حالتين، وباقي الحالات تراوح إيجابيته بين 44,1-76%، وكان الـ CD34 في الحالات جميعها بنسبة بين 25-55% كان الـ CD15 سلبياً بحيث نسبته راوحت بين 0,8-10,2 في 10 حالات، و 4 حالات راوحت فيها نسبته بين 12-18,6%، وحالة واحدة وصلت نسبته فيها إلى 74,6%، راوحت نسبة إيجابية الـ HLA-DR بين 12-78%، كما وجد أنّ 4 حالات راوحت فيها مجموع نسبة CD7+dim&MPO+dim بين 30,1-58,9%، كما شخصت 19 حالة M2، معظم الحالات كانت إيجابية الـ HLA-DR، ونسبته راوحت بين 56-75% وحالة واحدة نسبته فيها 4,45%، مع إيجابية الـ CD13 في الحالات جميعها وراوحت نسبته بين 75-99,8%، و كان الـ CD33 إيجابياً في 18 حالة، ونسبته بين 43-95,1%، وحالة واحدة إيجابيته ضعيفة 20,4%، وكان CD15 إيجابياً في الحالات جميعها ونسبته بين 22,4-73,2%، وراوحت نسبة إيجابية CD34 بين 0,1-64%، كما شخصت 9 حالات M3 كانت جميعها سلبية الـ HLA-DR، و راوحت نسبته بين 0,7-5,6%، وكانت إيجابية CD13 بين 4,1-13,4% الـ CD33 راوحت نسبته بين 4,1-85%، وراوحت نسبة إيجابية CD2 بين 0,3-77,2%، وكان CD34 سلبياً في الحالات جميعها ونسبته بين 4,2-25%، كما شخصت 12 حالة M4، و 3 حالات M5 بالتتميط المناعي فيها وجد أنّ الـ CD13 راوحت نسبته بين

6-92%، وراوحت نسبة إيجابية الـ CD33 بين 37-46%، وراوحت نسبة إيجابية الـ HLA-DR و MPO فقد كانا إيجابيين في الحالات جميعها وراوحت نسبة الإيجابية بين 7,19-84%، وكان الـ CD34 سليبياً في الحالات جميعها وراوحت نسبته بين 1-4% وشُخصت حالتان M6 كانت نسبة الـ CD13 35% بالأولى، و 56% بالثانية و كان CD33 و CD34 سليبين في الحالتين بنسبة 2-10% كان CD61 سليبياً بالحالتين أما CD71 فقد كان إيجابياً بالحالتين، وراوحت نسبته بين 76-89% وكان الـ HLA-DR سليبياً في الحالتين، وراوحت نسبته بين 5-7%، وكان Glycophorin A إيجابياً وتم تشخيص حالة واحدة M7، كان فيها CD13 بنسبة 53% و CD33 37% و CD34 5% و CD41 و 76% و CD61 88% أما نسبة الـ HLA-DR فقد كانت 36%، وكان TDT سليبياً، وشُخصت 32 حالة ALL؛ أي بنسبة 96,87% إذ كانت 25 حالة من النمط لمفاوي بائي الخلايا، وكانت 4 حالات من النمط Pro-BALL وكان CD19 فيها إيجابياً، وراوحت نسبته بين 25-79%، CD10 بين 0-3% وكانت نسبة إيجابية CD22 فيها بين 0,1-4%، وكان CD79a بين 0,9-3%، وكان HLA-DR و TDT إيجابيين وشُخصت 14 حالة من النمط Pre-BALL وراوحت فيها نسبة CD19 بين 5-75%، وكان CD22 بنسبة تراوح بين 4-5% و CD20 و 6,18-0%، وكان CD79a إيجابياً بنسبة بين 35-80%، وكان CD10 إيجابياً بنسبة 55-89%، وكان HLA-DR إيجابياً 45-67% وراوحت نسبة TDT بين 18_54%، وشُخصت 5 حالات من النمط Commun B وراوحت فيها نسبة CD19 بين 18-65%، ونسبة CD20 بين 9-59%، ونسبة CD22 بين 1,1-67%، ونسبة CD10 بين 39-94%، ونسبة HLA-DR بين 67-74%، مع إيجابية TDT، وشُخصت حالتان من النمط B



الشكل (4): يوضح توزيع نمط الابيضاض في دراستنا

بالمقارنة بالدراسات العالمية يشكل AML 80% و ALL 20% من الابيضاضات الحادة عند البالغين.⁵⁻¹⁰ بالنسبة إلى تحديد الأنماط الفرعية للـ AML، شُخصت 6 حالات AML- M0 (8,57%)، و 16 حالة AML-M1 (22,85%)، و 20 حالة AML- M2 (28,57%)، و 10

والتالث، وبالمقارنة بالدراسات المجراة في الولايات المتحدة الأمريكية التي أظهرت زيادة معدل الإصابة بال AML مع التقدم بالعمر، وزيادة معدل الإصابة بال ALL عند البالغين مع زيادة قليلة بعد ال 50 سنة⁵، قد يكون السبب في قلة عدد المصابين المتقدمين بالعمر في دراستنا هو أن نسبة لا بأس بها من المتقدمين بالعمر في مجتمعنا يرفضون مراجعة الأطباء و المستشفيات، لعدم قدرتهم على الوصول إلى المستشفى لأسباب مختلفة. بالنسبة إلى وضع التشخيص بعد دراسة شكل الخلايا في اللطاخة المحيطية فقد تم التوجه إلى AML في 44 حالة (42,3%) و ALL في 21 حالة (20,19%)، و 19 حالة (18,26%) لم يُحدّد نمط الأرومات فيها بدقة و 20 حالة (19,23%) كان تعداد الكريات فيها منخفضاً بشدة لذلك لم نتمكن من دراسة الأرومات في الدم المحيطي. بالمقارنة بعد دراسة الأرومات في بزل نقي العظم ارتفعت نسبة تشخيص ال AML إلى 51 حالة (56,66%)، ونسبة ال ALL إلى 28 حالة (31,11%)، وانخفضت نسبة الحالات التي لم نستطع تحديد نمط الأرومات فيها إلى 11 حالة فقط (12,22%)؛ وهذا يدل على أهمية إجراء بزل نقي العظم لدى مرضى الابيضاض لأنّ دراسة شكل الخلايا في البزل أدق من دراستها في اللطاخة المحيطية، ولأنّ 20% من المرضى كان تعداد الكريات البيض لديهم منخفضاً بشدة؛ لذلك يجب إجراء بزل نقي العظم لنتمكن من دراسة شكل الأرومات. بالنسبة إلى نتائج التلوينات الخمائرية كان تلوين SBB إيجابياً في 55 (88,52%) حالة؛ لذلك شُخصت AML، وكان تلوين ال PAS إيجابياً في 20 حالة (19,23%) لذلك شُخصت ALL، ووجدنا سلبية ل SBB وال PAS في 29 حالة (27,88%) من بينها 8 حالات دراسة شكل الأرومات فيها يتمشى مع ALL بوضوح؛ لذلك إعتمد التشخيص فيها ALL من النمط الذي

حالات AML-M3 (14,28%) و 12 حالة AML-M4 (17,14%)، و 3 حالات AML-M5 (2,8%) وحالتان AML-M6 (2,85%)، وحالة واحدة AML-M7 (1,4%) الجدول (5)

الجدول (5): عدد حالات ال AML موزعة حسب النمط الفرعي

النمط الفرعي	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
العدد	6	16	20	10	12	3	2	1

بالنسبة إلى تحديد النمط الفرعي في ال ALL جدول (6) فقد شُخصت 4 حالات Pro-BALL (12,5%)، و 14 حالة Pre-BALL (43,75%)، و 5 حالات (15,62%) و Commun BALL، و 2 حالة BmaturALL (6,25%)، و 4 حالات Pre-TALL (12,5%) 3 حالات TALL (9,3%)

الجدول (6): عدد حالات ال ALL موزعة حسب النمط الفرعي

النمط الفرعي	Pre-BALL	Commun BALL	Bmature ALL	Pre-BALL	Pro-BALL
العدد	4	5	2	14	4

المناقشة:

أجريت الدراسة بطريقة استرجاعية تحليلية في مستشفى الموساة الجامعي على 104 مرضى ذكوراً وإناثاً، خلال المدة الزمنية 2013-2016 راوحت أعمار المرضى في دراستنا بين ال 14-75 سنة، ووزع عدد حالات، ونوع الابيضاض المشخص في الجدول (1)، ونلاحظ من الجدول ازدياد معدل الإصابة بال AML في العقدين الثالث والسادس مع انخفاض شديد لنسبة الإصابة بالعقدين السابع والثامن، في حين يزداد معدل الإصابة بال ALL في العقدين الثاني

يكون فيه PAS سلبياً، وهو يشكل 25% من حالات ALL. ومن ثم بعد التدقيق في نتائج الدراسة الشكلية للخلايا، ونتائج التلوينات الخمائرية أمكن تحديد نمط الابيضاض في 83 حالة (79,80%)، بحيث شُخصت 55 حالة AML (52,88%)، و 28 حالة ALL (27,88%)، أي وُضِعَ التشخيص بنسبة 80% تقريباً من الحالات، وهذا يتوافق مع الدراسات العالمية التي أظهرت أنّ نسبة التشخيص بالطرائق التقليدية تصل إلى 80-90%⁵، وهذه النتيجة تدلّ على أنّ الطرائق التقليدية لاتزال تتمتع بدور مهم في تشخيص الابيضاض الحاد رغم تطور طرائق حديثة للتشخيص، وتدّل أيضاً على اتقان العمل والخبرة الجيدة التي تتمتع بها الأطر الفنية العاملة في مختبر أمراض الدم، وتدّل على الكفاءة والخبرة التي يتمتع بها الأساتذة والأطباء في شعبة أمراض الدم، حالة واحدة وجدنا فيها بعض الأرومات تحمل الصفات النقية، وبعضها تحمل الصفات اللمفاوية، تلوين SBB أعطى إيجابية خفيفة (2%) في بعض الأرومات، وتلوين PAS أيضاً أعطى إيجابية؛ لذلك وُضِعَ التشخيص المبدئي ابيضاض ثنائي النمط الظاهري والتنميط الخلوي المناعي لهذه الحالة أكد هذا التشخيص، وبقي 21 حالة (20,19%) لم يُحدّد الابيضاض فيها بدقة، من بينها 6 حالات كان فيها تلوين أسود السودان سلبياً، و PAS سلبياً، وشُخصَ M0 بعد إجراء التنميط الخلوي المناعي، 3 حالات شُخصت بعد إجراء التنميط المناعي عسرة تنسج نقي مع تحول ابيضاضي من نمط AML في حالتين، وواحدة من نمط ALL، وحالة واحدة شُخصت M7 بإجراء خزعة عظم وبالتنميط الخلوي المناعي من بزل نقي العظم بعد محاولات عدّة، حالتان شُخصت بعد إجراء الدراسة الجينية والتنميطية ابيضاض نقوي مزمن مع تحول لـ AML، إحداهما من زمرة M1، والثانية M2، 6 حالات شُخصت M1 بعد إجراء

التنميط الخلوي المناعي، حالة واحدة لكل من M3، M4، M5، حالة واحدة شُخصت ثنائية النمط الظاهري، أمّا بالنسبة إلى تحديد الزمر الفرعية بالطرائق التقليدية، فقد حُدِّت الزمرة الفرعية في 30 حالة AML (54,45%) (بحيث حُدِّت حالة واحدة M0 (أو L2، لأنّ الأرومات في M0 تشبه أرومات L2)، و 3 حالات M1، و 7 حالات M2، و 8 حالات M3، و 8 حالات M4، وحالة واحدة M5، وحالتان M6، أعلى نسبة كانت في القدرة على تمييز M6 بالطرائق التقليدية إذ أمكن تحديد الحالتين. وما يميز هذه الحالات، هو إيجابية التلوين بكاشف شيف للأرومات الحمر في نقي العظم، يليها ارتفاع نسبة القدرة على تمييز حالات الـ M3، إذ حُدِّت 8 حالات من أصل 10 (80%)، وُضِعَ التشخيص النهائي لها، يليها القدرة على تمييز حالات M4، إذ حُدِّت 8 حالات من أصل 12 (66,66%) وُضِعَ التشخيص النهائي لها، وكان M0 أقل الحالات في القدرة على تمييزها بالطرائق التقليدية تم تمييز حالة واحدة فقط (16%) من 6 حالات، وُضِعَ التشخيص النهائي لها، ولم تُحدّد الزمرة الفرعية في 25 حالة (45,54%). وحُدِّت الزمرة الفرعية في 21 حالة ALL (67,74%)؛ وذلك حسب تصنيف الـ FAB، فقد شُخصت 4 حالات L1 (19,04%)، و 15 حالة L2 (71,42%)، وحالتان L3 (9,52%)؛ وهذا يقارب النسب العالمية التي تدلّ على أنّ L2 يشكل 60-70%، و يشكل L3 أقل من 5% من حالات ALL لدى البالغين، ومن ثمّ فإن الطرائق التقليدية لها القدرة على تحديد الزمرة الفرعية بنسبة تصل إلى 58,9% تقريباً في النمطين AML و ALL. أمّا بالنسبة إلى الدراسة بالتنميط الخلوي المناعي فقد وُضِعَ تشخيص 67 حالة AML أي بنسبة 95,71% وُضِعَ تشخيص 31 حالة ALL؛ أي بنسبة 96,87%، وهي تقارب النسب العالمية في التمييز بين الـ AML

والـ ALL التي تصل 98%²⁻¹ بالنسبة إلى الزمر الفرعية، شُخِّصت 6 حالات M0، و16 حالة M1، و19 حالة M2، و9 حالات M3، و12 حالة M4، و حالتان M5، و حالتين M6، وحالة واحدة M7، وشُخِّصت حالتان ثنائية النمط الظاهري. ووُضِعَ التشخيص النهائي (ابيضاض حاد) بعد دراسة أشكال الخلايا وإجراء التلوينات الخمائية، وإجراء التتميط الخلوي المناعي للمرضى قبل البدء بالعلاج، وقد كانت النتائج كما يأتي: 70 حالة AML؛ أي بنسبة 67,30% من الحالات، و32 حالة ALL؛ أي بنسبة 30,76% من الحالات، وشُخِّصت حالتان ثنائية النمط الظاهري (1,9%) بسبب وجود مستضدات سطحية للخلايا النقوية واللمفاوية (شكل4) بالمقارنة بالنسب العالمية التي تبيّن أنّ الـ AML يشكل 80%، والـ ALL يشكل 20% من حالات الابيضاض الحاد لدى البالغين.¹⁰ نجد انخفاض نسبة حالات الـ AML مع زيادة نسبة حالات الـ ALL قد تعود أسباب اختلاف النسب في دراستنا هذه عن النسب العالمية بسبب زيادة عدد المرضى في العقدين الثاني والثالث؛ وهي المرحلة العمرية نفسها التي يزداد فيها عدد حالات الـ ALL مع زيادة خفيفة لعدد المرضى في العقد السادس، وانخفاض شديد في عدد المرضى في العقدين السابع والثامن، وهي المرحلة العمرية التي تزداد فيها نسبة الإصابة بالـ AML حسب الدراسات العالمية التي تبيّن ازدياد نسبة الإصابة بالـ AML مع التقدم بالعمر، 5، وقد يساعد في ذلك عوامل متعلقة بالعرق، أو البيئة الجغرافية، أو بسبب عدم قدرة بعض المرضى المشخصين حديثاً على إجراء التتميط الخلوي المناعي، ويعود ذلك لأسباب مختلفة. بالنسبة إلى تحديد النمط الفرعي فقد وُضِعَ التشخيص النهائي لـ 6 حالات (8,5% M0)، و 16 حالة M1 (22,85%)، و20 حالة (28,57% M2)، و 10 حالات (14,28% M3)، و 12 حالة (17,14% M4)، و3

حالات (4,28% M5)، و حالتان (62,85% M6)، وحالة واحدة (7,14% M7)، بالمقارنة بالدراسات العالمية التي تبيّن أنّ نسبة الإصابة بـ 5-10% M0، و 10-20% M1، و M2 45-30%، و 5-10% M3، و 15-25% M4، و 5-5% M5، و 8%، و 5% M6، و 8-10% M7، نجد زيادة خفيفة في عدد حالات M3 بالمقابل لدينا انخفاض في عدد حالات M6 و M7 قد يكون السبب هو انخفاض عدد المرضى في العقدين السابع والثامن في دراستنا، أو بسبب عدم القدرة على إجراء التتميط المناعي للمرضى كلّهم المراجعين للمستشفى. بالنسبة إلى الحالات الثلاث لدينا 3 حالات لم تُشخِّص بالتتميط الخلوي المناعي؛ و شُخِّصت بالطرائق الأخرى الحالة الأولى لشابة عمرها 14 سنة تعداد الكريات البيض لديها سوي، مع وجود متلازمة التخثر المنتشر داخل الأوعية (DIC)، بدراسة اللطاخة المحيطية تبيّن وجود سليفةا نقوية بنسبة 70%، و أرومات نقوية بنسبة 9% من الخلايا، النواة فيها تأخذ شكل الساعة الرملية أو شكل الكلية مع وجود حزم من جسيمات أور ضمن الهيولى، أجري لها بزل لنقي العظم تبيّن أنه مفرط الخلوية، ومعظم الخلايا سليفةا نقوية (75%) النواة فيها ثنائية الفص، أي تأخذ شكل الساعة الرملية، أو تأخذ شكل الكلية، مع وجود حزم من عصيات أور في الهيولى مع أرومات نقوية 15% تلوين SBB إيجابي بنسبة 100%، نتيجة التتميط المناعي تتماشى مع لمفوما أو B-ALL، الدراسة الصبغية بيّنت انتقال صبغي (15:17)T؛ لذلك ضمن هذه الموجودات وُضِعَ التشخيص النهائي AML-M3 وُضِعَ العلاج المناسب، ودخلت المريضة بعدها بحالة هدأة، ولا تزال قيد المراقبة والعلاج في عيادة أمراض الدم، الحالة الثانية سيدة 40 راجعت العيادة مع نتيجة خزعة عظم تتماشى مع آفة نقي تكاثرية، أجري لها دراسة اللطاخة المحيطية بيّنت وجود خلايا شاذة (أرومات) كبيرة الحجم

العظم، و كانت دراسة شكل الخلايا تتماشى مع أرومات لمفاوية تلوين PAS إيجابي، نتيجة التتميط الخلوي المناعي تتماشى مع AML، أجري لها دراسة صبغية تبيّن وجود $51XX+6+8+10+12+X$ ؛ وهذه من أكثر الشذوذات الصبغية شيوعاً "ي ALL"، ووجودها يحسن الإنذار أعيدَ بزل نقي العظم والتتميط الخلوي المناعي والبدء بمعالجة المريضة بوصفها ALL، نتيجة التتميط الثانية تتماشى مع ALL. الحالة الرابعة لشاب 25 سنة لديه نقص تعداد كريات كامل، بزل نقي العظم جاف، ومن ثم لا يمكن دراسة شكل الخلايا، ولا يمكن إجراء تلوينات خمائية أو تتميط مناعي، أجري له خزعة عظم، والنتيجة تتماشى مع Leukemia، أو مع Lymphoplastic Lymphoma أعيد بزل القص للمرة الثانية فكانت الخلوية منخفضة، ولذلك لا يمكن إجراء تتميط مناعي أُجريت SBB فكان سليبياً" أُجريت PAS فكان إيجابياً" ومن ثم أُعطيَ العلاج اللازم بتشخيص ALL حدث لديه هدأة، لكن بعد 6 أشهر حدث لديه نكس أُعيد بزل نقي العظم مع تتميط مناعي، كانت النتيجة تتماشى ALL لذلك نستنتج مما سبق أنّ بعض الحالات تم اللجوء فيها إلى الدراسة الصبغية، أو إلى خزعة العظم؛ وذلك لمساعدة الطرائق التقليدية للوصول إلى التشخيص في الحالات التي لم يتم حسم النتيجة فيها بالتتميط الخلوي المناعي.

الاستنتاج: إنّ تشخيص الابيضاض الحاد بالوسائل التقليدية ذو أهمية كبيرة، ولا غنى عنه لكنه غير كافٍ، لذلك يجب اللجوء إلى الوسائل التشخيصية الحديثة خاصة التتميط الخلوي المناعي لدقته و قدرته على تحديد الأنماط الرئيسية، وتحت الأنماط للابيضاض الحاد، وأيضاً يمتلك حساسية و نوعية تفوق مثلتها في الدراسة التقليدية، ومن ثمّ لم يعد بالإمكان الاعتماد على الطرائق التشخيصية التقليدية وحدها في وضع التشخيص الدقيق ورغم أهمية

لا يمكن تحديدها بدقة بنسبة 35%، أجري بزل نقي العظم، بدراسته تبيّن وجود أرومات نقوية غالباً بنسبة 84% معظمها كبيرة الحجم، نسبة النواة إلى الهيولى مرتفعة، النواة فيها تحوي نوية أو نويتين، مع سليفات نقوية بنسبة 10% تلوين SBB إيجابي بنسبة 7% من الأرومات نتيجة التتميط المناعي كانت غير حاسمة تماماً، أُجريت دراسة صبغية تبيّن وجود انتقال صبغي (8:21) T، وُضِعَ العلاج AML حسب المعطيات السابقة، الحالة الثالثة مريض 54 سنة راح طبيب أسنان بسبب وجود ألم مع نزف لثوي، تبيّن بالفحص السريري وجود ارتشاحات جلدية معممة مع وجود ضخامة لثة، وضخامة عقد رقبية، مع ضخامة طحالية متوسطة الشدة، تعداد الكريات البيض لديه 67000، تبيّن بدراسة اللطاخة المحيطية أنّ معظم الخلايا المشاهدة أرومات وحيدية الشكل، أجري له بزل لنقي العظم مع خزعة عظم، بدراسة نقي العظم تبيّن وجود أرومات وحيدية الشكل بنسبة 40-45%، كان تلوين SBB إيجابياً بشكل نقطي (هذا النمط من التلوين يوجد في AML-M4 و AML-M5) خزعة العظم أبدت خلوية 90% مع ارتشاح لخلايا غير ناضجة يأتي على معظم الخلايا المولدة للدم، أُجريت MPO على خزعة العظم فكانت سلبية نتيجة التتميط الخلوي المناعي كانت غير حاسمة تماماً، أُجريت للمريض خزعة جلد، وكانت النتيجة تتماشى مع ارتشاح ابيضاضي، أُجريت تلوينات مناعية على خزعة الجلد والعظم فكانت النتيجة تتماشى مع ابيضاض من النمط الوحيد، وُضِعَ العلاج المناسب للمريض بوصفه M5. أما بالنسبة إلى الحالة التي لم تُشخّص بالتتميط الخلوي المناعي تُشخّص بالطرائق الأخرى ALL هذه الحالة لشابة 15 سنة، الفحص السريري أظهر وجود ضخامة عقد بلغمية في العنق، وضخامة طحالية متوسطة الشدة تعداد الكريات البيض لديها منخفض بشدة، أجري لها بزل نقي

دور التمييز المناعي في تشخيص الابيضاض الحاد

الطرائق الحديثة فهي لاتحل محل الطرائق التقليدية، بل نوصي بضرورة توفير هذه التقنية في المستشفيات العامة تساعدنا في وضع التشخيص الدقيق؛ ومن ثم فإنّ الجمع بين الطريقتين يجعل التشخيص أكثر دقة خاصة من ناحية تحديد الزمر الفرعية.

التوصيات:

ملحق:

الجدول (1): الملونات الكيميائية الخمائرية الأكثر استعمالاً

الخلايا الإيجابية التلون	صفات الملون	الملون
الإيجابية في السلسلة المحببة- الحمضات وتزداد شدة الإيجابية طرداً مع نضج الخلية توجد ثلاثة أنماط للMPO في AML نمط I: 3-10% من الأرومات (+) M1 نمط II: 10-65% من الأرومات (+) M2 و M4 نمط III: أكثر من 65% من الأرومات (+) M3 أكثر نوعية لتشخيص AML	البيروكسيداز من أنزيمات الجسيمات الحالة موجود ضمن الحبيبات اللازوردية في هيولى بعض الخلايا يستفاد من هذا التفاعل في كشف هذه الحبيبات التي توجد في هيولى السلسلة المحببة والوحيدية والحمضات (إيجابية التفاعل)، السلسلة اللمفية والحمراء والبلازمية لا توجد فيها (سلبية التفاعل)	تفاعل البيروكسيداز النقية Myeloperoxidase reaction (MPO)
الإيجابية في العدلات والوحيدات والحبيبات النوعية للحمضات، تزداد الإيجابية مع نضج الخلية تكون الإيجابية في الأرومات النقية موضوعة في الهيولى، و تكون جسيمات أور شديدة الإيجابية، أكثر حساسية لتشخيص AML	يعتمد على تلوين أسود السودان للدم المعتملة والشحميات الفوسفورية والسيتروليات معظم الوحيدات إيجابية التفاعل بشكل خفيف ومميز إذ تظهر على شكل حبيبات مشتتة في الهيولة ومنفصلة عن بعضها ، للمفاويات سلبية التفاعل	تلوين أسود السودان Sudan Black B Staining SBB
تأخذ الأرومات اللمفية إيجابية متغيرة على شكل حبيبات ناعمة إلى خشنة أو كتلية في أكثر من 70% من ALL تتوضع الإيجابية في محيط الأرومات، ولا تنتشر داخلها وهيولى نقيه تماماً	يعتمد على وجود الغليكوجين في كريات الدم جميعها عدا الكريات الحمر، فهو موجود في السلسلة المحببة واللمفية، يبدو التفاعل إيجابياً برؤية ترسبات حمراء ناجمة عن تأكسد الغليكوجين بحمض فوق اليود	تفاعل شيف بحمض فوق اليود Periodic acid - Schiff (PAS) reaction
إيجابية نقطية في للمفاويات النائية إيجابية منتشرة في الوحيدات إيجابية أكثر من 50_25% M4 و أكثر من 50% في M5	أنزيم قادر على حلمة الركازات النفتولية للحموض الدسمة توجد في سلسلة الوحيدات و الصفيحات والنواءات والخلايا البلازمية حساسة لفلوريد الصوديوم	الاستراز غير النوعية Non specific esteraseNSE
إيجابي في سليفات النقيه و النقويات والعدلات السوية، الأرومات النقية الابيضاضية إيجابية	يوجد في سلسلة المحببات فقط لا ينتبط بفلوريد الصوديوم	الاستراز النوعية Specific esterase (SE)

الجدول (2): ميزات الأنماط المختلفة للـ AML حسب تصنيف الـ FAB

النمط	الصفات الشكلية والتلوينات الخمائية	ملاحظات
AML-M0	أرومات نقوية كبيرة غير حبيبية تشبه بعض الشيء الأرومات للمفاوية L2 تلوين أسود السودان سلبى .	يؤلف 5-10% من مجمل AML
AML-M1	أرومات نقوية كبيرة الحجم قليلة التمايز ، تشكل أكثر من 90% من الخلايا غير الحمراء بالنقي، 3% على الأقل من الأرومات إيجابية التلوين بأسود السودان .	يؤلف 10-12% من مجمل AML
AML-M2	30-90% من الخلايا غير الحمراء بالنقي أرومات غزيرة الهيولى تحوي حبيبات نشاهد جسيمات أورغالياً ، أكثر من 10% من الخلايا النقوية تبدي نضجاً، تلوين أسود السودان +	يؤلف 30-45% من مجمل AML
AML-M3	75% الخلايا السائدة سليفات تحوي على حبيبات هيولية كبيرة مع وجود جسيمات أور، حجم النواة متنوع وتأخذ شكل الكلية أو ثنائية الفص ، وهي شديدة الإيجابية لتلوين أسود السودان، 25% سليفات شاذة مع حبيبات هيولية صغيرة.	يؤلف 5-10% من مجمل AML خطورة عالية لحدوث تخثر منتشر داخل الأوعية DIC
AML-M4	أكثر من 20% من خلايا النقي وحيدات ، وتشكل الأرومات النقوية وطلائع النقويات والنقويات أكثر من 30% من الخلايا غير الحمر، لكن لا تشكل أكثر من 80% ، قد نجد جسيمات أور الاستراز اللانوعية إيجابية ، وجود وحيدات بالدم المحيطي .	يؤلف 15-25% من مجمل AML يميل إلى إصابة الأنسجة خارج النقي خاصة اللثة والجملة العصبية المركزية
AML-M5	تشكل الأرومات الوحيدة والوحيدات وطلائع الوحيدات 80% من الخلايا غير الحمر بالنقي	يؤلف 5-8% من مجمل AML
AML-M6	أكثر من 50% من خلايا النقي المنواة هي طلائع كريات حمر تلوين الـ PAS إيجابي ، أكثر من 30% من الخلايا غير الحمر أرومات نقوية .	يؤلف 5% من مجمل AML أكثر شيوعاً عند الكبار
AML-M7	ابيضاض بأرومات النواءات، أرومات النواءات صغيرة إلى كبيرة الحجم، نسبة النواة إلى الهيولى مرتفعة، الهيولى غير محببة، التلوينات الخمائية غير محددة	يؤلف 8-10% من مجمل AML أحياناً له علاقة مع تليف النقي

الجدول (3): ميزات الأنماط المختلفة للـ ALL حسب تصنيف الـ FAB

نمط الابيضاض	الصفات الشكلية للأرومات
L1	أرومات لمفاوية صغيرة و متجانسة الحجم، مدورة النواة ، قليلة الهيولى نسبة النواة / الهيولى زائدة كروماتين نووي متجانس مع نوية غير واضحة ، وهو النموذج الأكثر شيوعاً لدى الأطفال .
L2	أرومات لمفاوية كبيرة الحجم ، قليلة التجانس ، كبيرة النواة ، هيولها غزيرة ، نسبة النواة/الهيولى قليلة الغشاء النووي غير منتظم مع زيادة وضوح النوية ، وهو النموذج الأكثر شيوعاً لدى البالغين.
L3	أرومات لمفاوية كبيرة الحجم ، هيولها غزيرة تأخذ اللون الأزرق بشدة وتحوي فجوات

References

1. Bernier M, Massey M, Deleeuw N, Bron D, Debusscher L, Stryckmans P: Immunological definition of acute minimally differentiated myeloid leukemia (M0) and acute undifferentiated leukemia (AUL). *Leuk Lymphoma* 18:13, 1995
2. Creutzig U, Harbott J, Sperling C, Ritter J, Zimmermann M, Loffler H, Riehm H, Schellong G, Ludwig WD: Clinical significance of surface antigen expression in children with acute myeloid leukemia: Results of Study AML-BFM-87. *Blood* 88:3097, 1995
3. DiGiuseppe JA, Borowitz MJ. Clinical utility of flow cytometry in the chronic lymphoid leukemias. *Semin Oncol* 1998;25:6-10.
4. Drouet M, Lees O: Clinical applications of flow cytometry in hematology and immunology. *Biol Cell* 78:73, 1993
5. D.Gray Gilliland and Martin S. Tallman. *Blood Principles and practice of hematology, acute myelogenous leukemia, second edition, 2003.*
6. Farhi DC, Rosenthal NS. Acute lymphoblastic leukemia. *Clin Lab Med* 2000;20:17-28, vii..
7. Joan E. Etzell and Laurence M. Corash. *Blood principles and practice of hematology, laboratory hematology: methods for the analysis of blood, Second edition, 2003*
8. Johnson RL: Flow cytometry: From research to clinical laboratory applications. *Clin Lab Med* 13:831, 1993
9. Keren DF, Hanson CA, Hurtubise PE. *Flow cytometry and clinical diagnosis. Chicago: ASCP Press, 1994:664 pp..*
10. Lewis B. Silverman and Stephan E. *Blood principles and practice of hematology, acute lymphoblastic leukemia, Second edition, printed in USA 2003*
11. Mandy FF, Bergeron M, Minkus T. Principles of flow cytometry. *Cytometry* 1999;38:1-14.
12. Orfao A, Ruiz-Arguelles A, Lacombe F, Ault K, Basso G, Danova M. Flow cytometry: its applications in hematology. *Haematologica* 1995;80:69-81
13. Orfao A, Schmitz G, Brando B, Ruiz-Arguelles A, Basso G, Braylan R, et al. Clinically useful information Provided by the flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies: current status and future directions. *Clin Chem* 1999;45:1708-1717.
14. Ruiz-Arguelles A, Duque RE, Orfao A. Report on the first Latin American Consensus Conference of Flow Cytometric Immunophenotyping of Leukemia. *Cytometry* 1998;34:49-42.