

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 لطخة الدم المحيطي وفي بزالة نقي العظم)، وإجراء التلويحات الخمائرية (وهي تلويح 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 leukemia 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 the AL- 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 contrast, 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, the study showed that it is an important and useful diagnostic tool in the diagnosis of acute leukemia especially in the determination of subgroup.

Keywords: Chimera coloring- immunophenotyping - Acute leukemia

* Internal department, Faculty of Medicine, Damascus University.

المقدمة:

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

o تفاعل البيروكسيداز النقية (MPO)، و تلوين أسود السودان (SBB)، والاستيراز النوعية (SE)، والاستيرازغير 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 وهيولاهها) 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 الابيضاضات الحادة إلى ابيضاض نقوي حاد AML (المشتق من الأرومات النقية)، و ابيضاض لمفاوي حاد ALL (المشتق من الأرومات اللمفاوية). من المهم التمييز بين نوعي الابيضاض لما بينهما من اختلاف في الإنذار، وطرائق المعالجة، فالتفريق 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 الابيضاضية عن بعضها بعضاً، وعن الخلايا الطبيعية الناضجة؛ لذلك يمكن تصنيفها إلى أنماط فرعية وفقاً لـ:

- حجم الخلية.
- نسبة النواة إلى الهيولى.
- وجود حبيبات سيتوبلاسمية.
- 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 والمفاوية: الجدول (1) و الجدول (2)

الجدول (1): أهم واسمات السلسلة النقية.

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

الجدول (2): أهم واسمات السلسلة للمفاوية

النمط الفرعي	أهم الواسمات الواسمة الإيجابية	النمط الفرعي	أهم الواسمات الواسمة الإيجابية
ProB	CD19 ^{+/} -CD22 ^{2at} least DR ⁺ TdT ⁺ CD10 ⁻	Mat ure	CD19 ^{+/} -CD22 ^{2at} least TdT ⁺ CD10 ^{+/} -y cyto ⁺
PreB	CD19 ^{+/} -CD22 ^{2at} least TdT ^{+/} -CD10 ⁺ DR ⁺	preT	CD3 ⁺ CD7 ⁺ CD2 ⁺ CD5 ^{+/} -CD8 ^{+/} -
commun	CD19 ^{+/} -CD22 ^{2at} least DR ⁺ TdT ⁺ CD10 ⁺	T ALL	CD7 ⁺ CD2 ⁺ CD5 ⁺ CD10 ^{+/} -CD34DR ^{+/} -

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 أجريت اجريت عام 2003 على 31 مريضاً مصاباً بابيضاض نقوي حاد، وقارنت نتائج تحليل التتميط المناعي لزوج عينات مأخوذة من الدم المحيطي ونقي العظم لم تجدها الدراسة اختلافاً مهماً في الحساسية التشخيصية بينهما.⁷

صُنِّفَت الابيضاضات الحادة وفقاً لنظام التصنيف ال FAB (التصنيف الفرنسي والأمريكي والبريطاني) إلى نمطين رئيسيين هما AML و ALL، 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

ودرجة تمايزها (من AML-M0 إلى AML-M7)⁵، وأمرض الدم في المستشفى في المدة الزمنية بين العام 2013-2016، شُخِّصَ ابيضاض دم حاد لديهم والذين حققوا معايير الاشتغال من ناحية الدراسة الشكلية للخلايا، والتلوينات الخمائرية، والدراسة التتميطية المناعية، واستُبعدَ المرضى الذين أعمارهم أقل من 14 سنة، حيث يدرسون في مستشفى الأطفال، والمرضى المشخصون خارج المستشفى وعُولِجوا في المستشفى، والمرضى الذين لم تُدَوَّن طرائق و التشخيص ونتائج لديهم بشكل واضح وكامل، والمرضى الذين تم البدء بالتشخيص في المستشفى ولكن غادروا المستشفى قبل استكمال التشخيص والعلاج.

متغيرات الدراسة:

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

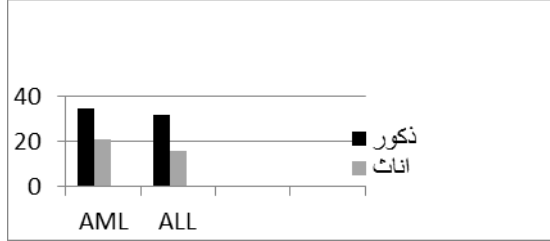
طريقة العمل:

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 تُحَصَّر وتُلَوَّن 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 والصباغ والحجم وتُدرَس الصفائح من ناحية العدد والتوزع وتُدرَس الكريات البيض من ناحية العدد والصيغة، 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 التلوينات الخمائرية على هذه الشرائح

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 ال AML بحسب تصنيف ال 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 ال ALL. و لكن شأن تصنيف ال 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 ال FAB الشذوذات الجينية الخلوية والجزئية⁴⁻⁵ إنَّ الهدف من دراستنا هو تقييم تشخيص ابيضاض الحاد ومقارنته بالاعتماد على الطرائق التشخيصية التقليدية المعتمدة على دراسة شكل الخلايا (بدراسة الخلايا في لطاخة الدم المحيطي، و في بزالة نقي العظم)، وتلوينات كيمياء الخلية، أو التلوينات الخمائرية (وهي ملون SBB، وملون ال 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



الشكل (1): توزيع 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): توزيع حالات الابيضاض الحاد حسب العمر

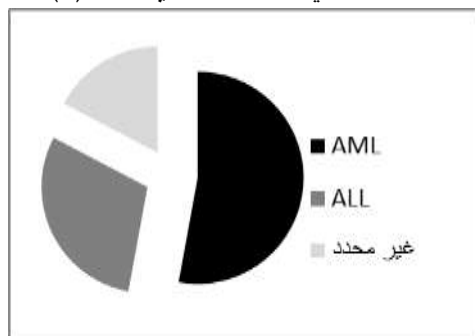
العمر	-10	-20	-30	-40	-50	-60	-70
	19	29	39	49	59	69	79
عدد حالات AML	9	16	10	7	18	9	1
عدد حالات ALL	14	10	5	2	1	0	0
العدد الكلي	23	26	15	9	19	9	1

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

أجرينا بزلقة لنقي العظم لمعظم المرضى، وبعدها حُصرت ولُوئت شرائح البزل في مختبر أمراض الدم، ثم دُرست بشكل مفصل من قبل أساتذة وأطباء الشعبة، بحيث تُدرس 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 يتمشى 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 التتميط الخلوي المناعي بعد أخذ عينة من الدم المحيطي، أو من بزلقة نقي العظم ضمن أنابيب خاصة، ويتم طلب الواسمات الخاصة بالابيضاض الحاد ثم مقارنة النتائج التي توصلنا إليها بعد الدراسة بالطريقة التقليدية مع نتائج الدراسة التتميطية المناعية.

النتائج: أُجريت الدراسة بطريقة استرجاعية تحليلية في مستشفى المواساة الجامعي على 104 مريض ذكراً وإناً راوحت أعمارهم بين 14-75 سنة، خلال المدة الزمنية 2013-2016، وجدنا بعد إجراء تعداد الدم الكامل أنّ تعداد الكريات البيض سوباً 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 والـ PAS سلبيين من بينها 8 حالات كانت دراسة شكل الخلايا فيها يتماشى مع ALL بوضوح لذلك شُخص 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 اللمفاوي في بزل نقي العظم؛ لذلك لُوّن SBB فكان إيجابياً، ولُوّن PAS أيضاً، وكان إيجابياً لذلك شُخص ابيضاض ثنائي النمط الظاهري شكل (2).



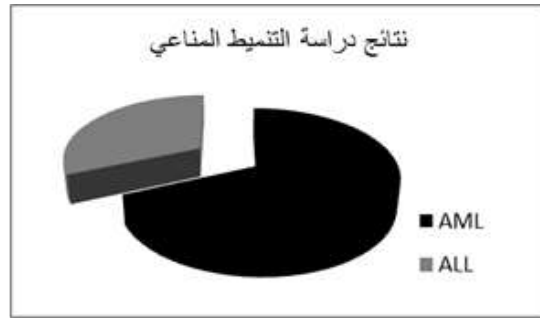
الشكل (2): نمط ابيضاض حسب شكل الخلايا والتلوينات الخمائرية أما بالنسبة إلى تحديد الزمر الفرعية، فقد حُدِّت الزمرة الفرعية في 30 حالة AML (54,54%) بعد تحديد صفات الأرومات، والنسبة المئوية لتلوين SBS للأرومات في لطاخة الدم المحيطية، أو بزل نقي العظم. وكانت النتائج حالة واحدة M0، و 3 حالات M1، و 7 حالات M2، و 8 حالات M3، و 8 حالات M4، وحالة واحدة M5، وحالتين M6 ولم تُحدّد الزمرة الفرعية للابيضاض بدقة في 25 حالة (45,45%)، وحُدِّد 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 سوياً" في 30 حالة، وتبيّن بعد دراسة شكل الخلايا في لطاخة الدم المحيطي أنّ الأرومات تشكل 12-80%، وكان تعداد الكريات البيض منخفضاً" 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 الابيضاض فيها بدقة و 20 حالة (19,23%) كان تعداد الكريات البيض فيها منخفضاً" بشدة؛ لذلك يصعب تحديد نمط الابيضاض 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/100 مل، 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 تبين 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/ 100 مل؛ لذلك أُجريت التلوين الخمائري على عينة مأخوذة من الدم المحيطي، و 90 حالة أجرينا 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، و 90 حالة أُجريت على عينة مأخوذة من بزل نقي العظم، وقد بينت النتائج تشخيص 67 حالة AML أي بنسبة 95,71 %، و 32 حالة ALL بنسبة 96,87 % و 2 وحالتين ثنائية النمط الظاهري، النتائج في الشكل (3)



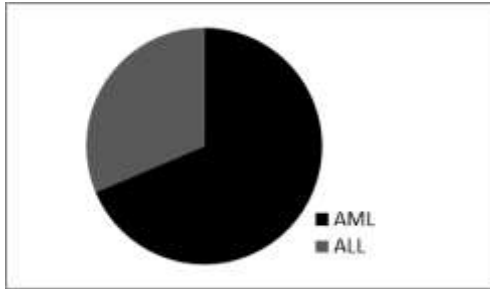
الشكل (3): يبين نمط الابيضاض حسب التتميط الخلوي المناعي

وهي تقارب النسب العالمية التي تؤكد قدرة هذه الطريقة على التمييز بين الـ AML و الـ ALL بنسبة 98 %.

بالنسبة إلى حالات AML كان CD45 إيجابياً في الحالات جميعها (100 %) بنسبة تراوح بين 15-75 % من الخلايا، و CD13 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 راوت 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

راوت 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 %، وشُخصت 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 راوت بين 0,8-10,2 في 10 حالات، و 4 حالات راوت فيها نسبته بين 12-18,6 %، وحالة واحدة وصلت نسبته فيها إلى 74,6 %، راوت نسبة إيجابية الـ HLA-DR بين 12-78 %، كما وجد أنّ 4 حالات راوت فيها مجموع نسبة CD7+dim & MPO+dim بين 1-30,1 %، كما شُخصت 19 حالة M2، معظم الحالات كانت إيجابية الـ HLA-DR، ونسبته راوت بين 56-75 % وحالة واحدة نسبته فيها 4,45 %، مع إيجابية الـ CD13 في الحالات جميعها وراوت 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 %، وراوت نسبة إيجابية CD34 بين 0,1-64 %، كما شُخصت 9 حالات M3 كانت جميعها سلبية الـ HLA-DR، و راوت نسبته بين 0,7-5,6 %، وكانت إيجابية CD13 بين 4,1-13,4 % الـ CD33 راوت نسبته بين 3-77,2 %، وراوت نسبة إيجابية CD2 بين 4,2-85 %، وكان CD34 سلبياً في الحالات جميعها ونسبته بين 25-98 %، كما شُخصت 12 حالة M4، و 3 حالات M5 بالتتميط المناعي فيها وجد أنّ الـ CD13 راوت نسبته بين

6-92%، وراوحت نسبة إيجابية الـ CD33 بين 37-84%، أما الـ HLA-DR و MPO فقد كانا إيجابيين في الحالات جميعها وراوحت نسبة الإيجابية بين 19,7-84%، وكان الـ CD34 سلبياً 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 سلبيين في الحالتين بنسبة 2-10% كان CD61 سلبياً بالحالتين أما CD71 فقد كان إيجابياً بالحالتين، وراوحت نسبته بين 76-89% وكان الـ HLA-DR سلبياً في الحالتين، وراوحت نسبته بين 5-7%، وكان GlycophorinA إيجابياً وتم تشخيص حالة واحدة M7، كان فيها CD13 بنسبة 53% و CD33 37% و CD34 5% و CD41 76% و CD61 88% أما نسبة الـ HLA-DR فقد كانت 36%، وكان TDT سلبياً، 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 5-32,5%، وكان CD22 بنسبة تراوح بين 0,4-5% و CD20 0,6-18%، 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



الشكل (4): يوضح توزيع نمط الالتهاب في دراستنا

بالمقارنة بالدراسات العالمية يشكل AML 80% و ALL 20% من الالتهابات 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

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 الـ 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 الـ ALL جدول (6) فقد شُخِّصَت 4 حالات Pro-BALL (12,5%)، و 14 حالة Pre-BALL (43,75%)، و 5 حالات (15,62%) Commu BALL، و 2 حالة BmaturALL (6,25%)، و 4 حالات Pre-TALL (12,5%) 3 حالات TALL (9,3%)

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

النمط الفرعي	Pro-BALL	Pre-BALL	Commun BALL	Bmature ALL	Pre-TALL	TALL
العدد	4	14	5	2	4	3

المناقشة:

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

والثالث، وبالمقارنة بالدراسات المجراة في الولايات المتحدة الأمريكية التي أظهرت زيادة معدل الإصابة بالـ AML مع التقدم بالعمر، وزيادة معدل الإصابة بالـ ALL عند البالغين مع زيادة قليلة بعد الـ 50 سنة⁵، قد يكون السبب في قلة عدد المصابين المتقدمين بالعمر في دراستنا هو أنّ 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 الـ AML إلى 51 حالة (56,66%)، ونسبة الـ 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 مريض 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 الخمائية كان تلوين SBB إيجابياً في 55 (88,52%) حالة؛ لذلك شُخِّصَت AML، وكان تلوين PAS إيجابياً في 20 حالة (19,23%) لذلك شُخِّصَت ALL، ووجدنا سلبية لـ SBB والـ 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

يكون فيه PAS سلبياً، وهو يشكل 25% من حالات ALL. ومن ثم بعد التدقيق في نتائج الدراسة الشكلية للخلايا، ونتائج التلويحات 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 أنَّ نسبة التشخيص بالطرائق التقليدية تصل إلى 80-90%⁵، وهذه النتيجة تدل على أنَّ الطرائق التقليدية لا تزال تتمتع بدور مهم في تشخيص الابيضاض الحاد رغم تطور طرائق حديثة للتشخيص، وتدُل أيضاً على اتقان العمل والخبرة الجيدة التي تتمتع بها الأطر الفنية العاملة في مختبر أمراض الدم، وتدُل على الكفاءة والخبرة التي يتمتع بها الأساتذة والأطباء في شعبة أمراض الدم، حالة واحدة وجدنا فيها بعض الأرومات تحمل الصفات النقية، وبعضها تحمل الصفات للمفاوية، تلوين SBB أعطى إيجابية خفيفة (2%) في بعض الأرومات، وتلوين PAS أيضاً أعطى إيجابية؛ لذلك وُضِعَ التشخيص المبدئي ابيضاض ثنائي النمط الظاهري والتميط الخلوي المناعي لهذه الحالة أكد هذا التشخيص، وبقي 21 حالة (20,19%) لم يُحدَّد الابيضاض فيها بدقة، من بينها 6 حالات كان فيها تلوين أسود السودان سلبياً، و PAS سلبياً، وشُخص M0 بعد إجراء التتميط الخلوي المناعي، 3 حالات شُخصت بعد إجراء التتميط المناعي عسرة تنسج نقي مع تحول ابيضاض من نمط AML في حالتين، وواحدة من نمط ALL، وحالة واحدة شُخصت M7 بإجراء خزعة عظم وبالتتميط الخلوي المناعي من بزل نقي العظم بعد محاولات عدة، حالتان شُخصت بعد إجراء الدراسة الجينية والتميطية ابيضاض نقوي مزمن مع تحول لـ AML، إحداها من زمرة M1، والثانية M2، 6 حالات شُخصت M1 بعد إجراء

التميط الخلوي المناعي، حالة واحدة شُخصت ثنائية النمط الظاهري، أما M4, M5، حالة واحدة شُخصت ثنائية النمط الظاهري، أما بالنسبة إلى تحديد الزمر الفرعية بالطرائق التقليدية، فقد حُدِّت الزمرة الفرعية في 30 حالة AML (54,45%) (بحيث حُدِّت حالة واحدة M0 (أو L2، لأنَّ 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 تُحدَّد 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 تدل على أنَّ L2 يشكل 60-70%، و يشكل L3 أقل من 5% من حالات ALL لدى البالغين، ومن ثم فإن الطرائق التقليدية لها القدرة على تحديد الزمرة الفرعية بنسبة تصل إلى 58,9% تقريباً في النمطين AML و ALL. أما بالنسبة إلى الدراسة بالتميط 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، شُخِّصَت 6 حالات M0، و16 حالة M1، و19 حالة M2، و9 حالات M3، و12 حالة M4، و حالتان M5، وحالتين M6، وحالة واحدة M7، وشُخِّصَت 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، وشُخِّصَت حالتان ثنائية النمط الظاهري (1,9%) بسبب وجود مستضدات سطحية للخلايا النقوية واللمفاوية (شكل 4) 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 (M0 8,5%)، و 16 حالة M1 (22,85%)، و 20 حالة (M2 28,57%)، و 10 حالات (M3 14,28%)، و 12 حالة (M4 17,14%)، و 3

حالات (M5 4,28%)، وحالتان (M6 2,85%)، وحالة واحدة (M7 1,42%)، بالمقارنة بالدراسات العالمية التي تبيّن أنّ نسبة الإصابة بـ M0 5-10%، و M1 10-20%، و M2 30-45%، و M3 5-10%، و M4 15-25%، و M5 5-8%، و M6 5%، و M7 8-10%، 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 تشخّص بالتتميط الخلوي المناعي؛ و شُخِّصَت 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 سليفات 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 أنّه مفرط الخلوية، ومعظم الخلايا سليفات 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 تبين وجود $51XX+6+8+10+12+X$ ؛ وهذه من أكثر الشذوذات الصبغية شيوعاً في 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 تنميط 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 تنميط مناعي أجري SBB فكان سليباً" أجري PAS فكان إيجابياً" ومن ثم أُعطي العلاج اللازم بتشخيص ALL حدث لديه هدأة، لكن بعد 6 أشهر حدث لديه نكس أعيد بزل نقي العظم مع تنميط مناعي، كانت النتيجة تتماشى ALL لذلك نستنتج مما سبق أن 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 بالتنميط الخلوي المناعي.

الاستنتاج: إن تشخيص الالبيضا 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 للالبيضا الحاد، وأيضاً يمتلك حساسية و نوعية تفوق مثيلتها في الدراسة التقليدية، ومن ثم لم يعد بالإمكان الاعتماد على الطرائق التشخيصية التقليدية وحدها في وضع التشخيص الدقيق ورغم أهمية

لا يمكن تحديد نمطها بدقة بنسبة 35%، أجري بزل نقي العظم، بدرسته تبين 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 تبين وجود انتقال صبغي (8:21) T، وُضِع العلاج AML حسب المعطيات السابقة، الحالة الثالثة مريض 54 سنة راح طبيب أسنان بسبب وجود ألم مع نزف لثوي، تبين بالفحص السريري وجود ارتشاحات جلدية معممة مع وجود ضخامة لثة، وضخامة عقد رقبية، مع ضخامة طحالية متوسطة الشدة، تعداد الكريات البيض لديه 67000، تبين بدراسة اللطاخة المحيطية أن معظم الخلايا المشاهدة أرومات وحيدية الشكل، أجري له بزل لنقي العظم مع خزعة عظم، بدراسة نقي العظم تبين 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، أجري MPO على خزعة العظم فكانت سلبية نتيجة التتميط الخلوي المناعي كانت غير حاسمة تماماً، أجرينا للمريض خزعة جلد، وكانت النتيجة تتماشى مع ارتشاح ابيضاضي، أُجريت تلوينات مناعية على خزعة الجلد والعظم فكانت النتيجة تتماشى مع ابيضاض من النمط الوحيددي، وُضِع العلاج المناسب للمريض بوصفه M5. أما بالنسبة إلى الحالة التي لم تُشخص بالتنميط الخلوي المناعي تُشخص 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 التتميط المناعي في تشخيص الالبيضااض الحاد

الطرائق الحديثة فهي لاتحل محل الطرائق التقليدية، بل نوصي بضرورة توفير هذه التقنية في المستشفيات العامة تساعدنا في وضع التشخيص الدقيق؛ ومن ثم فإن الجمع ولاسيما المستشفيات التعليمية الجامعية لما لها من أهمية، بين الطريقتين يجعل التشخيص أكثر دقة خاصة من ناحية ولدقة نتائجها. تحديد الزمر الفرعية.

التوصيات:

ملحق:

الجدول (1): الملونات الكيميائية الخمائرية الأكثر استعمالاً

الخلايا الإيجابية التلوين	صفات الملون	الملون
الإيجابية في السلسلة المحببة- الحمضات وتزداد شدة الإيجابية طردأمع نضج الخلية توجد ثلاثة أنماط لـMPO 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	البيروكسيدازمن 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 والوحيديةوالحمضات (إيجابية التفاعل)،السلسلة اللمفية والحمراء والبلازمية لا توجد فيها (سلبية التفاعل)	تفاعل البيروكسيداز النقية Myeloperoxidasereaction (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 للدسم المعتدلة والشحميات الفوسفورية والسيتروليات ' معظم الوحيدات إيجابية التفاعل بشكل خفيف ومميز إذ تظهر على شكل حبيبات مشتتة في الهيولة ومنفصلة عن بعضها ، اللمفاويات سلبية التفاعل	تلوين أسود السودان Sudan Black B Staining SBB
تأخذ الأرومات اللمفية إيجابية متغيرة على شكل حبيبات ناعمة إلى خشنةأو كتلية في أكثر من 70% من ALLتتوضع الإيجابية في محيط الأرومة، ولا تنتشر داخلها والهيولى نقية 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 اللمفاويات التائية إيجابية منتشرة في الوحيدات إيجابية أكثر من 50_25% M4 و أكثر من 50% في M5	أنزيم قادر على حلمهة الركازات النفولية للحموض الدسمة توجد في سلسلة الوحيدات و الصفيحات والنواءات والخلايا البلازمية حساسة لفلوريد الصوديوم	الاستراز غير النوعية Non specific esteraseNSE
إيجابي في سليفات النقية و النقويات والعدلات السوية، الأرومات النقية الالبيضاضية إيجابية	يوجد في سلسلة المحببات فقط لا يتنبط بفلوريد الصوديوم	الاستراز النوعية Specific esterase (SE)

الجدول (2): ميزات الأنماط المختلفة لـ 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 سلبي .	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 سليفة 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% سليفة 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 لـ 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. Ofrao 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.