

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۲۸ شماره ۳ پاییز ۱۳۸۵ صفحات ۲۴-۱۷

تظاهر مارکرهای ایمنولوژیک در بیماران مبتلا به اختلالات لنفوپرولیفراتیو مزمن سلول B: مطالعه، فلوسیتومتریک تعداد وسیعی از مارکرهای سلولی و ارائه پانل ایمنوفنوتایپ

دکتر ایرج اسودی کرمانی: استاد بیماریهای داخلی، فوق تخصص خون و مدیکال انکولوژی، مرکز تحقیقات هماتولوژی و انکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

E-mail: irajkermani@hotmail.com

دکتر سید هادی ملجائی: دانشیار گروه بیوشیمی و آزمایشگاه بالینی، مرکز تحقیقات هماتولوژی و انکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر جمال عیوضی ضیائی: دانشیار بیماریهای داخلی، فوق تخصص خون و مدیکال انکولوژی، مرکز تحقیقات هماتولوژی و انکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دکتر علیرضا نیکانفر: استادیار بیماریهای داخلی، فوق تخصص خون و مدیکال انکولوژی، مرکز تحقیقات هماتولوژی و انکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۴/۶/۱۹، پذیرش: ۸۴/۱۱/۱۲

چکیده

زمینه و اهداف: اختلالات لنفوپرولیفراتیو مزمن سلول B - گروه هتروژنی از بیماریهاست که بر اساس مورفولوژی، مارکرهای ایمنولوژی و یافته های بالینی شناسائی می شوند. ایمنوفنوتیپ برای افتراق اختلالات سلول B از T و نیز تشخیص لوسمیهای مزمن نوع B از همدیگر یكروش اساسی میباشد و انجام آن بدون محدودیت و با دقت بیشتری میباشد. بمنظور اطلاع از نحوه تظاهر مارکرهای ایمنولوژیک در بیماران مطالعه همه جانبه و آینده نگری در ۵۴ بیمار انجام دادیم تا ضمن مقایسه با مطالعات دیگران اطلاعات لازمه را جهت طراحی پانلهای مناسب در تشخیص و تعیین پیش آگهی بیماران مورد استفاده قرار دهیم.

روش بررسی: نمونه خون ۵۴ بیمار مبتلا به لوسمی مزمن لنفوسیتی سلول B (B-CLL) تیپیک و آتیپیک و بیمار مبتلا به لوسمی-لنفوم سلول T بالغین (ATLL)، لوسمی پرولنفوسیتی سلول B (B-PLL)، لنفوم غیر هوچکینی B در فاز لوسمیک (B-NHL) و لوسمی سلول موئی (HCL) با استفاده از ۲۶ معرف ضد سلولهای T, B, سلول NK و ضد مارکرهای اختصاصی با روش ایمنوفلورسانس مستقیم بوسیله فلوسیتومتری چند پارامتری مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته ها: به جز B-CLL (تیپیک و آتیپیک) تظاهر همزمان CD5، CD19، CD23 و در سایر بیماران مشاهده نشد. بیماران B-CLL تیپیک مارکرهای سلول B مخصوصا CD19 و CD22 را با شدت کمی نسبت به سایر اختلالات در سطح خود بیان می دارند ولی برخلاف بعضی منابع فقط درصد محدودی از بیماران B-CLL تیپیک CD22 منفی بودند. با این حال اختلاف مهمی در شدت بروز CD20 در نزد بیماران مشاهده نمی شود. در هیچکدام از اختلالات لنفوپرولیفراتیو مزمن سلول B، مارکرهای سلول T به جزء CD5 تظاهر ندارد. در همین گروه از بیماران، سایر مارکرهای مختلف لنفوییدی با چند استثنا همانند یافته های سایر کشورها بود.

نتیجه گیری: فلوسیتومتری نقش با اهمیتی در تشخیص بیمارها داشته و بنابراین بمنظور استفاده بهینه از معرفها سه نوع پانل: پانل اول - برای همه بیماران جدید مبتلا به اختلالات لنفو پرولیفراتیو مزمن سلولهای B، T، بکار برده میشود، پانل دوم - جهت تعیین هویت سلولهای T و NK مورد استفاده قرار میگیرد و پانل سوم - که جهت تعیین هویت سلولهای B- در اختلالات لنفو پرولیفراتیو مزمن نوع B برای مطالعه این قبیل بیماران پیشنهاد می نماید.

کلید واژه: ایمنوفنوتایپ، لنفوپرولیفراتیو، مارکرها

مقدمه

خون در مسیر ثانویه خود که تحت عنوان سندرومهای لوسمی/ لنفوم تعریف شده اند نیز در این طیف از بیماری ها گنجانده شده و اغلب مشکلاتی در تشخیص افتراقی با لوسمی اولیه ایجاد می نمایند. بخاطر پیچیدگیهای عمده ای که در تعیین پیش آگهی و

پرولیفراسیون های بد خیم سلول B - بالغ؛ گروه هتروژنی از اختلالات لنفوپرولیفراتیو را شامل میشوند که سیر بیماریشان مزمن بوده و با گرفتار کردن خون و مغز استخوان بعنوان لوسمی های لنفوییدی تعریف می شوند. همچنین تعدادی از لنفومهای غیر هوچکینی با درجه پائین نیز بواسطه گرفتار نمودن مغز استخوان و

و در تاریکی انکوبه شدند. سپس سلولها سه بار با PBS مورد شستشو قرار گرفتند.

بمنظور جلوگیری از اتصال غیر اختصاصی Ab، ۵۰ لانداز سرم فرد AB با غلظت ۲٪ در PBS قبل از انکوباسیون با آنتی بادیهای مربوطه به لوله ها اضافه میگردد. بالاخره نیم میلی لیتر از محلول پارآ فورمالدئید یک درصد در بافر ایزوتونیک بعنوان فیکساتیو به هر لوله اضافه می گردید.

بعد از نیم تا یک ساعت سلولهای داخل لوله ها را با استفاده از نرم افزار Cell Quest وارد دستگاه فلوسیتومتری فاکس کالیبر کرده و سپس با همان نرم افزار نسبت به آنالیز سلولها از نظر منفی/مثبت بودن و همچنین بررسی شدت تظاهر مارکرهای سطحی سلولها اقدام گردید.(۴)

مطالعه TdT بروش ایمنوفلورسانس مستقیم با فلوسیتومتری: سوسپانسیون سلولی قبل از انکوباسیون با آنتی بادی ضد TdT، بمدت ۱۰ دقیقه با دو سی سی محلول پارافورمالدئید ۲ درصد فیکس و سپس بعد از خارج کردن فیکساتیو، سلولها بمدت ۱۰ دقیقه با دو سی سی محلول نیم درصد tween 20 در PBS پرمابلیزه گردیدند.

بعد از خارج کردن محلول پرمابلیزان، بمدت ۳۰ دقیقه سلولهای داخل لوله ها در حرارت اتاق و در شرایط تاریک با مقدار توصیه شده از آنتی بادی ضد TdT مخلوط و انکوبه شدند. جهت بلوکه کردن FC ریسپتور و جلوگیری از مثبت کاذب، سلولها قبل از افزودن آنتی بادی با ۵۰ میکرولیتر AB سرم ۲٪ در PBS انکوبه می شدند. بقیه مراحل همانند روش شماره یک بود با این تفاوت که شستشوی سلولها بعد از انکوباسیون با Ab بوسیله محلول پرمابلیزان انجام می گرفت.(۴).

تنظیم دستگاه فلوسیتومتری برای این قبیل نمونه ها انجام و تا پایان تحقیق ثابت می ماند. برای اطمینان از درستی عملکرد دستگاه کنترلهای لازم با استفاده از معرفهای استاندارد بطور مرتب اعمال میگردد.

همراه هر نمونه بیمار سه لوله کنترل منفی با آنتی بادی غیر اختصاصی کونژکه با FITC یا PE ایزو گروپ با آنتی بادی های اولیه، و یک لوله کنترل بدون آنتی بادی جهت تعیین مناطق منفی در هیستوگرام و یا سیتوگرام به سری لوله ها اضافه میگردد. روشهای مذکور با توجه به انواع آنتی بادیهای کونژکه با رنگهای مختلف فلورسانس بطریقه تک رنگ برای TdT و کاپا و لامبدا یا دو رنگی برای سایر مارکرها طراحی شدند.

داده های گردآوری شده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۲ تجزیه و تحلیل شدند. بطوریکه برای مقایسه گروه ها به لحاظ داده های کمی از تحلیل واریانس و آزمون LSD^۵ استفاده شده است.

درمان این قبیل بیماران وجود دارد شناسائی و تعیین هویت هر کدام از این بیماریها ضروری می باشد (۱ و ۲ و ۳).

تشخیص این اختلالات، مستلزم استفاده از تکنولوژیهای متعددی از قبیل مورفولوژی سلولی، هیستوپاتولوژی، سیتوتنیک، بیولوژی مولکولی و مطالعه مارکرهای ایمنولوژیک سلولی می باشد. ایمنوفنوتیپ یک تست کلیدی بوده طوریکه امروزه مطالعه بدخیمی های لنفوئیدی بدون استفاده از آنتی بادیهای منوکلنال امکانپذیر نمی باشد(۲ و ۳).

استفاده روزمره از معرفهای منوکلنال آنتی بادی و وجود فلورو کرهای مختلف و توسعه فلوسیتومتری مولتی پارامتر شناخت ما را نسبت به ماهیت هر چه بیشتر این بیماریها افزایش می دهد.

بمنظور اطلاع از ماهیت و نحوه تظاهر مارکرهای ایمنولوژیک تعداد ۵۴ بیمار مبتلا به اختلالات لنفو پرولیفراتیو مزمن از جمله لوسمی لنفوئید مزمن سلول B که از ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۲ به این مرکز مراجعه نمودند را با استفاده از انواع مختلفی از آنتی بادیهای منو و پلی کلنال اختصاصی ضد سلولهای B, T, NK^۱ و ضد مارکرهای ویژه در سیستم فلوسیتومتری مولتی پارامتر مرکز مورد مطالعه همه جانبه قرار دادیم تا ضمن طراحی پانل یا پانلهای مناسب از نتایج حاصله در تشخیص و تعیین پیش آگهی بیماران خود استفاده بنمائیم.

مواد و روش ها

از سال ۱۳۸۰ لغایت اواسط ۱۳۸۳ بعد از پذیرش بیمار در مانگاه و انجام معاینات اولیه و تشکیل پرونده و انجام آزمایشات روتین و تهیه اسمیر خون محیطی، اسپیراسیون و بیوپسی مغز استخوان و مطالعه و خواندن آنها جهت تکمیل پروسه تشخیص، نمونه به شرح زیر برای آزمایشگاه فلوسیتومتری ارسال میگردد. ۱۰ الی ۲۰ میلی لیتر خون هپارینه که در حرارت اتاق (۲۲-۲۵ درجه) نگهداری می شدند حداکثر تا دو ساعت مورد آزمایش قرار گرفتند.

معرفهای منوکلنال آنتی بادی نشاندار با فلوروکرهای FITC^۲ یا PE^۳: CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD10, CD11c, CD16, CD19, CD20, CD22, CD23, CD25, CD38, CD45, CD56, CD103, HLA-DR, FMC-7, IgG, IgM (ساخت شرکتهای BECTON & DICKENSON آمریکا و DAKO دانمارک) معرفهای پلی کلنال آنتی بادی نشاندار با فلوروکر FITC TdT^۴, Lambda, Kapa, ساخت شرکت داکو دانمارک.

مطالعه مارکرهای سطح سلول بروش ایمنو فلورسانس مستقیم با فلوسیتومتری:

ابتدا سلولهای تک هسته ای را بوسیله فایکول از خون جدا کرده و بعد از شستشو با محلول هنگس یا بافر فسفات (PBS) یک میلیون سلول در هر لوله با مقدار ۲۰-۱۰ میکرو لیتر از منوکلنال یا پلی کلنال آنتی بادی بمدت ۱۵-۳۰ دقیقه در حرارت توصیه شده

1. Natural Killer

2. Fluorescein Isothiocyanate(FITC)

3. Phycoerythrin (PE)

4. Terminal deoxynucleotidyl Transferase(TdT)

5. Least Significant analyse Difference

جدول ۱. خلاصه ایی از علائم بالینی و آزمایشگاهی گزارش شده در منابع خارجی در بیماران مبتلا به B-CLL و مطالعه حاضر

متغیرها	مقادیر رفرانس شماره ۱ ۹۳ مورد (۱۹)	مقادیر رفرانس شماره ۲ ۲۱۸ مورد (۷)	مقادیر مطالعه حاضر
میانگین سن (سال)	۶۳/۲	۶۲	۶۵
(طیف)	(۸۵/۳-۲۳)	(۸۳-۲۹)	(۸۷-۳۹)
جنس مذکر : مونث	۲۸:۶۵	۸۳:۱۳۸	۱۴:۲۸
میانگین شمارش گلبول سفید به ۱۰۰۰ در میکرولیتر	۲۹/۳	۸۳	۳۴/۵
(طیف)	(۳۶۷/۲-۷)	(۶۵۲-۳)	(۴۴۶-۳)
میانگین شمارش مطلق لنفوسیت به ۱۰۰۰ در میکرولیتر	۲۲/۴	۷۷	۲۷/۵
(طیف)	(۳۳۶-۳/۴)	(۳۴۰-۶)	(۲۶۲-۱/۳)
میانگین مقدار هموگلوبین g/dl	۱۳/۹	۱۲/۵	۱۲/۵
(طیف)	(۱۶/۶-۷/۶)	(۱۷/۴-۴)	(۱۸/۵-۵/۹)
میانگین شمارش پلاکت به ۱۰۰۰ در میکرولیتر	۲۰۴	۱۶۰	۱۴۰
(طیف)	(۴۹۵-۸۳)	(۵۴۱-۱۲)	(۴۳۸-۳۸)
Rai stage*			
۰	۴۸	۱۶۰ (۲ تا ۰)	۱۵
۱	۲۳		۶
۲	۱۸		۸
۳	۳	۵۸ (۴ تا ۳)	۳
۴	۱		۱۰
Binet stage*			
A	۷۵	A+B= ۱۶۳	
B	۱۷		
C	۱	۵۵	
لنفادنوپاتی >۲	۲۴	۲-۳ (یا بیشتر) = ۱۱۳	۲۴= بلی

جدول ۲- مارکرهای ایمنولوژیک در ۵۴ بیمار مبتلا به اختلال لنفویرولیفراتیو مزمن

ایمنو فنو تیپ f	نمونه
CD5+, CD19+, CD20+, CD22+, CD23+, CD25-, CD38+/-, CD45+, CD79b-, CD103-, FMC-7-, Smlg-/+	Typical B-CLL (42)
CD5+, CD19+, CD20+/CD22+, CD23+, CD25-, CD38+/-, CD45+, CD79b-, CD103-, FMC-7-, Smlg-/-, CD5+, CD19+, CD23+, CD25-, CD38-, CD45+, CD103-, FMC-7+, Smlg+	Atypical B-CLL (4)-CLL/PLL(1)
CD5-, CD19+, CD20+, CD22+, CD23-, CD25+, CD38-, CD45+, CD79b+, CD103+, FMC-7+, Smlg+s	HCL(2)
CD5+, CD19+, CD20+, CD22+, CD23+, CD25-, CD38+, CD45+, CD79b+, CD103-, FMC-7-/+ , Smlg+/-, CD5-, CD19+, CD20+, CD22+, CD23-, CD25-, CD38-, CD45+, CD79b+, CD103-, FMC-7-, Smlg+s	B-NHL(3)
CD5+, CD19+, CD20+, CD22+, CD23-, CD25-, CD38+, CD45+, CD79b+, CD103-, FMC-7+, Smlg+s	B-PLL(1)
CD5+, CD19+, CD20+, CD22+, CD23+, CD25-, CD38+, CD45+, CD79b+, CD103-, FMC-7+, Smlg+s, CD2+, CD3+, CD4+, CD5+, CD7-, CD8-, CD19-, CD20-, CD22-, CD23-, CD25+, CD38+, CD45+, TdT-	ATLL(1)

* (-): Negative expression, (-/+): dim expression, (+): positive expression, S: bright expression.

f: All B cell cases were CD2-, CD3-, CD7-, CD10-, CD16-, CD56-, CD138-, HLA-DR+ and TdT-

B cell markers particularly CD22 was dim in typical CLL. 52% of cases with typical CLL, and 75% of cases with atypical CLL had CD38. Also see text.

جدول ۳. مقایسه تظاهر مارکرهای ایمونولوژیک در بیماران مبتلا به B-CLL با سه منبع خارجی

مارکرها	منبع ۶	منبع ۴	منبع ۱	در این مطالعه
SIg	مثبت ضعیف	مثبت ضعیف	مثبت ضعیف	مثبت ضعیف
CD5	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت
CD10	منفی	منفی	منفی	منفی
CD11c	NA	مثبت ضعیف	بعضی موارد	بعضی موارد
		در بعضی موارد		
CD19	مثبت	مثبت	بعضی موارد	مثبت
CD20	مثبت	مثبت ضعیف	بعضی موارد	NA
CD22	NA	منفی	بعضی موارد	در اغلب موارد
CD23	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت
CD25	NA	بعضی موارد	بعضی موارد	در موارد کم
CD38	منفی	NA	منفی	بعضی موارد
CD43	NA	+	NA	+
CD79a	NA	+	NA	NA
CD79b	NA	NA	منفی	منفی
CD103	منفی	منفی	منفی	منفی
FMC-7	منفی یا + ضعیف	NA	بعضی موارد	در موارد کم
HLA-DR	NA	مثبت	مثبت	مثبت

NA: در دسترس نیست یا انجام نشده است.

به HCL آنتی ژن CD25 را به مقدار زیاد نسبت به بقیه بیماران بروز داده و دو بیمار دیگر از همین گروه که بعد با توجه به نتایج مارکرها بصورت B-CLL آنتیجک تایید شدند نسبت به CD25 منفی بودند.

همانطوریکه در گزارشات موجود است (۱ و ۶) فقط بعضی از نمونه های B-CLL و B-PLL و LCL آنهم با شدت کم CD25 را در سطح سلولهای خود ظاهر می کنند و همینطور شدت تظاهر CD25 با استناد به منابع مذکور در HCL و ATLL بیشتر بوده و میتواند یک پارامتر قابل توجهی برای تمایز دادن بیماران مختلف بکار گرفته شود.

برخلاف گزارشات قبلی (۱ و ۶) تعداد قابل توجهی از بیماران CLL در این مطالعه CD38 مثبت بودند. این یافته با نتایج مطالعات جدیدتر هماهنگ می باشد (۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴) CD45 بعنوان پان لکوسیت آنتی ژن و با شدت های مختلف در سطح تمامی گلبولهای سفید طبیعی خون ظاهر می شود. در مطالعه حاضر ۲۴ نفر از بیماران مبتلا به B-CLL تیپیک و همه بیماران B-CLL آنتیجک و پنج بیمار از گروه non B-CLL از نظر درصد و شدت تظاهر آنتی ژن CD45 مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تمامی سلولها در منطقه لنفوسیتهای بالغ قرار دارند. با این حال همانطوریکه قبلا گزارش نموده ایم (۱۸) در مقایسه با گروه های دیگر CLL تیپیک از CD45 کمتری برخوردار هستند.

برابر یافته های محققین مختلف (۱، ۵ و ۶) آنتی ژن CD23 علاوه بر B-CLL در سلولهای بعضی از بیماران مبتلا به FL و لوسمی پرولنفوسیتیک سلول B نیز وجود دارد؛ با اینحال در FL سلولها فاقد آنتی ژن CD5 بوده و علاوه بر مثبت بودن برای CD10، تظاهر شدیدتر ایمونوگلوبین سطح سلولی آنها از B-CLL متمایز می سازد (۵، ۶). بعضی از بیماران B-PLL دارای آنتی ژنهای CD5 و CD23 هستند؛ با اینحال شدید بودن تظاهر آنتی ژنهای CD22 ایمونوگلوبین سطح سلولی و FMC-7 نسبت به B-CLL کمک می کند که B-PLL از B-CLL متمایز گردد (۱).

همه بیماران گروه ۱ و ۲ و چهار بیمار از گروه ۳ نسبت به CD23 مثبت بودند؛ این یافته در مورد بیماران مبتلا به B-CLL تیپیک و آنتیجک با یافته های سایر محققین (جدول ۱) مطابقت داشته و در مورد دو بیمار از گروه ۳ بخاطر تظاهر همزمان آنتی ژن های CD5 و CD19 و همچنین ضعیف بودن تظاهر آنتی ژنهای CD22 و FMC-7 و ایمونوگلوبین های سطحی در گروه B-CLL آنتیجک قرار داده می شوند. بروز مارکر CD25 (رستپور 2-IL) فقط در تعداد اندکی (۱۲ درصد) از بیماران مبتلا به B-CLL تیپیک مشاهده گردید. هیچکدام از بیماران مبتلا به B-CLL آنتیجک آنها از خود بروز ندادند و در ۵۰ درصد از بیماران گروه non B-CLL آنتی ژن CD25 با شدت بیشتری نسبت به بقیه تظاهر داشته است. شدت بروز CD25 در بین بیماران B-CLL تیپیک در مقایسه با گروه non B-CLL کمتر بوده و این یافته با بیماران گزارش شده در رفرنس شماره ۱ مطابقت دارد. در بین گروه ۳ دو بیمار مبتلا

شدت بروز آن در نزد بیمار مبتلا به HCL با اختلاف معنی داری کمتر بوده ($p=0/008$) و لذا با یافته های دو گزارش مذکور مطابقت دارد. مطابق رفرانسهای (۱، ۲، ۵، ۶) شدت تظاهر زنجیره های سبک و سنگین ایمنوگلوبین ها در نزد گروه بیماران B-CLL تیبیک و B-CLL آتیبیک با اختلاف معنی داری کمتر از تظاهر آنها در گروه non-CLL ($p=0/021$ و $p=0/002$) بود.

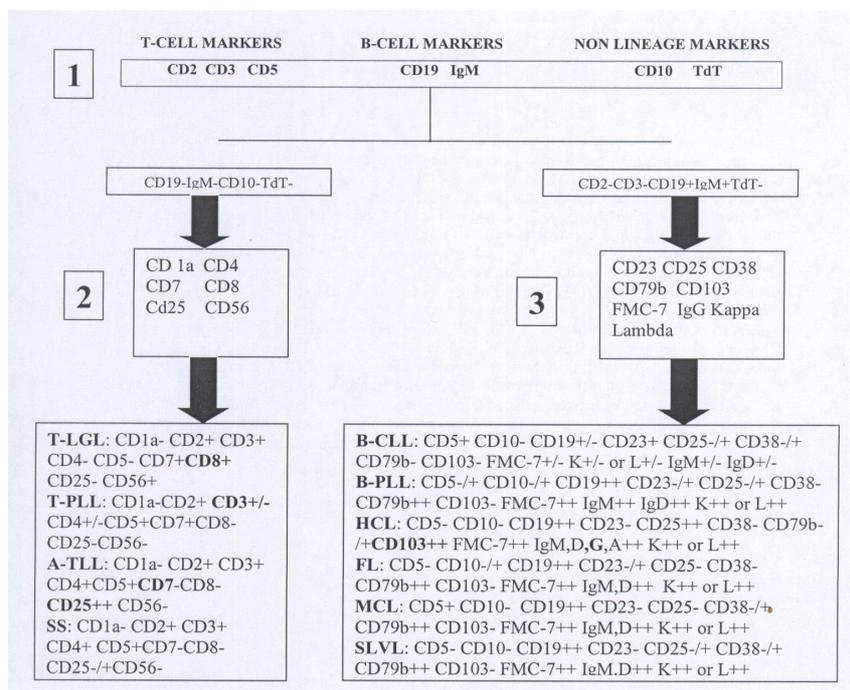
نتیجه گیری

در هیچکدام از اختلالات لنفوپرولیفراتیو مزمن سلول B به استثناء CD5 مارکرهای ایمنولوژیک مربوط به سلول T تظاهر ندارد. شدت و تظاهر نابجای CD5 در B-CLL کمتر از شدت تظاهر آن در سلولهای CD5+/CD19- که بنظر می رسد با قیمانده سلولهای T طبیعی باشند است. همه بیماران B-CLL مارکرهای عمومی سلول B یعنی CD19, CD20, CD22 را با شدت کمی نسبت به سایر اختلالات در سطح خود بیان می دارند و برخلاف بعضی منابع فقط درصد خیلی اندکی از این بیماران CD22 منفی هستند. در همین گروه از بیماران سایر مارکرهای مختلف لنفوتییدی همانند یافته های سایر کشورها بود. هر چند تفاوت اندکی در بعضی از پارامترهای مربوط به بیماران مورد مطالعه با منابع غربی مشاهده می شود با اینحال بیماران زیادی بایستی مورد مطالعه قرار گیرند.

با توجه به مقادیر مختلف بدست آمده هتروژن بودن درصد و شدت بروز بعضی از آنتی ژنهای از قبیل CD19, CD23, CD45, CD22, CD20 در B-CLL تیبیک را نیز می توان مشاهده نمود. با اینحال هنوز این قبیل سلولها بایستی از لحاظ وجود و یا عدم وجود اختلال کروموزومی و DNA و RNA و ارتباط آنها با هم مورد مطالعه گسترده تری قرارگیرد و همانگونه که وجود ارتباط بین B-CLL آتیبیک و تریزومی کروموزوم ۱۲ و اختلال در کروموزوم ۱۳ (۷) گزارش گردیده؛ دلیل ویا دلایل واضحتر و کارگشتری در ارتباط با ایمنوفنوتیپ برای هتروژن بودن B-CLL بدست آید.

بروز FMC-7 در اکثر بیماران مبتلا به B-CLL اعم از تیبیک و آتیبیک منفی بود فقط ۱۷ درصد از B-CLL های تیبیک آنهام باشدت کمتری نسبت به non-B-CLL آنها بیان داشته اند ($p<0/05$) بنابراین یافته های ما یافته های سایر محققین (۱، ۶) را تا ئید و می توان از آن بعنوان مارکر افتراق دهنده B-CLL از موارد non-B-CLL استفاده نمود.

به استناد حداقل دو گزارش (۱ و ۵) آنتی ژن CD11c در بعضی از بیماران مبتلا به B-CLL؛ B-PLL؛ LCL بصورت ضعیف مثبت گزارش گردیده درحالیکه این آنتی ژن در سلولهای HCL بشدت تظاهر دارد. در حدود ۵۲ درصد از بیماران گروه B-CLL در این مطالعه مارکر CD11c را در سلولهای خویش بیان و در مقایسه با



شکل شماره ۱: پانلهای پیشنهادی برای ایمنو فنوتایپ اختلالات لنفوپرولیفراتیو مزمن:

- ۱- پانل عمومی، ۲- پانل مخصوص اختلالات رده سلولی T، ۳- پانل مخصوص رده سلولی B -
 - منفی +/- مثبت ضعیف ++ مثبت قوی
 - /+ مثبت در بعضی از بیماران
- حروف پر رنگ: بیانگر اختصاصیت است.

بروز همزمان CD4,CD8 در T-PLL/۲۰ ها و بندرت در SS,ATLL و بعضی T-NHL ممکن است اتفاق بیفتد

پیشنهادهات

همانطوریکه در شکل شماره ۱ نشان داده شده؛ بمنظور استفاده بهینه از معرفها که از طریق واردات تامین می شوند؛ بر اساس رده سلول؛ سه نوع پانل از آنتی بادیها طراحی و پیشنهاد گردیده است: پانل شماره یک، مجموعه ای از آنتی بادیهاست که در مرحله اول برای همه بیماران جدید مبتلا به اختلالات لنفو پرولیفراتیو مزمن بکار برده شوند. این پانل کمک می کند تا اولاً رده سلولی سلولهای هدف مشخص گردد؛ ثانياً ضمن تأیید بلوغ سلولی با آگاهی قبلی و بدون استفاده از معرفهای غیر ضروری که هزینه آزمایش را بالا می برد پانل بعدی که فرایند ایمونوفنوتیپ را تکمیل خواهد نمود روی سلولها اعمال گردد. پانل شماره ۲، جهت تعیین هویت سلولهای T و NK در اختلالات لنفو پرولیفراتیو مزمن نوع T مورد استفاده قرارگیرد؛ در مورد NK چنانچه CD3 منفی و CD56 مثبت باشد با استفاده از آنتی بادیهای معرف ضد CD57 که بر روی سلول NK تظاهر می نماید هویت سلول تعیین و تشخیص بطرف NK-LGL^۱ سوق داده می شود. پانل شماره ۳ جهت تعیین هویت سلولهای B- در اختلالات لنفو پرولیفراتیو

مزمن نوع B می باشد. علیرغم یکنواخت بودن مورفولوژی سلول در B-CLL تیپیک؛ مارکرها در شدت های متفاوتی در این گروه از بیماریها مشاهده می شود؛ بنابراین پیشنهاد می گردد که در مطالعات بعدی روشهای سیتوژنتیک معمولی و FISH و مولکولار بیولوژی نیز اعمال گردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از آقای دکتر کامران صداقت به بخاطر کمک در تجزیه و تحلیل آماری داده ها واز پرسنل محترم آزمایشگاه مخصوصاً آقای محمد حسین مقدسی کارشناس ارشد که درمرحله ای از آزمایشات فلو سیتومتری همکاری داشته اند و از سرکار خانم دکتر رویا دولتخواه به منظور ویراستاری و کادر محترم پرستاری درمانگاه و پرسنل محترم کتابخانه مرکز آموزش ودرمانی شهید قاضی طباطبایی مخصوصاً خانم رسولیان بخاطر تهیه مقالات مورد نیاز و از آقای سید مصطفی حدودی و خانم زارعی بخاطر تایپ صمیمانه سپاسگزاری و تشکر مینمایم.

References

- Catovsky D. Chronic lymphoid leukemia, In: Hoffbrand et al ed. *Postgraduate Hematology*, forth edition. Oxford Butlerworth-Heinmann international edition. 1999; PP: 405-433.
- Jennings CD, Kenneth AF. Recent advances in flow cytometry application to the diagnosis of hematologic malignancy. *Blood* 1997; **90**, (8): 2863-2892.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel T-M, Flandrin G, Galton DAG, Gralnck HR, et al. Proposals for the classification of chronic(mature)B and T lymphoid leukaemias. *Chronic Lymphoid Leukemia. J Clin Pathol* 1989; **42**: 567-584.
- Maljaie SH, Brito-Babapulle V, Matutes E, Hiorns LR, De Schouwer PJC, and Catovsky D. Expression of c-myc oncoprotein in T-cell Leukemias. *Leukaemia* 1995; **9**: 1694-1699.
- Jennings CD, Kenneth AF, Flow Cytometry: Recent advances in diagnosis and monitoring of leukemia. *Cancer Investigation* 1997; **15**(4): 384-399.
- Serke S. Multiparameter flow cytometry. In: Huhn D, ed. *New Diagnostic Methods in oncology and hematology*. 1 st ed. Belin Heidelberg, Springer Verlag, 1998, pages: 39-80.
- Matutes E, Oscier D, Garcia-Marco J, Ellis J, Copplestone A, Gillingham R, et al. Trisomy 12 defines a group of CLL with atypical morphology: correlation between cytogenetic, clinical and laboratory features in 544 patients, *British Journal of Haematology* 1996; **22**: 382- 388.
- Ibrahim Sh, Keating M, Do KA, O' Brien S, Huh YO, Jilani I, et al. CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic Lymphocytic leukemia. *Blood* 2001; **98**(1): 181-186
- Ibrahim Sh, Jialani I, O' Brien S, Rogers A, Manshoury T, Giles F, et al. Clinical relevance of the CD31 ligand for CD38 in patients with B-CLL chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2003; **97**(8): 1914-1919.
- Mainou – Fowler T, Dignum H, Taylor RAP, Dickinson MA, Saunders WGP, et al. Quantification improves the prognostic value of CD38 expression in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *British Journal of Hematology* 2002; **118**: 755-761.
- Montserrat E. Classical and new prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia: where to now? , *Hematology* 2002; **3**: 7-9.
- Hsi ED, Kopecky KJ, Appelbaum FR, Boldt D, Frey T, Loftus M, et al Prognostic significance of CD38 and CD20 expression as assessed by quantitative flow cytometry in chronic lymphocytic leukaemia, *Br J Haemato* 2003; **120**(6): 1017-25.
- Hamblin JT, Orchard AJ, Ibbotson ER, Davis Z, Thomas WP, Stevenson KF et al. CD38 expression and immunoglobulin variable region mutations are independent prognostic variables in chronic lymphocytic leukemia, but CD38 expression may vary during the course of the disease. *Blood* 2002; **99** (3): 1023-1029.
- Rajendran ND, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, Valetto A, Allen LS, et al. IgV gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in

1. Natural Killer-Large Granular Lymphocyte

- chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; **94**(6): 1840 - 1847.
15. Yuille RM, Matutes E, Marssoy A, Hilditch B, Catovsky D, Houlston RS. Familial chronic lymphocytic leukaemia: a survey and review of published studies. *British Journal of Hematology* 2000; **109**: 794-799.
 16. Rawstron CA, Yuille MR, Fuller J, Cullen M, Kennedy B, Richard S, et al. Inherited predisposition to CLL is detectable as subclinical monoclonal B-lymphocyte expansion. *Blood* 2002; **100**(7): 2289-2291
 17. Rawstron CA, Green JM, Kuzmicki A, Kennedy B. Monoclonal B lymphocytes with the characteristics of indolent chronic lymphocytic leukemia are present in 3.5% of adults with normal blood counts. *Blood* 2002; **100**(2): 635-639.
 18. Maljaei SH, Asvadi I, Eivazi J, Nikanfar A, Vaez J. Usefulness of CD 45 density in the diagnosis of B-cell chronic lymphoproliferative disorders *Indian J Med Sci* 2005; **59**(5): 187-94