

الگوی ایمونوفنوتایپینگ لوسمی لنفوسیتی حاد بزرگسالان و ارتباط آن با پاسخ اولیه یا القایی

سید هادی چاوشی^۱، جمال عیوضی ضیایی^۲، علی اکبر موثق پور اکبری^۳، رویا دولت خواه^۴

چکیده

سابقه و هدف

لوسمی لنفوبلاستی حاد (ALL)، با میزان بالای مرگ و میر در بزرگسالان همراه است در حالی که میزان درمان این بیماران تقریباً ۴۰٪-۲۵٪ است. به منظور دستیابی به درمان‌های مناسب، تشخیص و افتراق آن‌ها از سایر زیرگروه‌های لوسمی مورد نیاز است. هدف اصلی از انجام این مطالعه، طبقه‌بندی زیرگروه‌های لوسمی لنفوبلاستی حاد با استفاده از روش فلوسیتومتری بود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی، ۱۳۴ نفر با تشخیص ALL از بیماران بستری در بخش هماتولوژی شهید قاضی طباطبایی از سال ۱۳۷۷ تا ۱۳۸۵ مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه، ۸۶ نفر از ۱۳۴ بیمار، توسط فلوسیتومتری ارزیابی شدند. یافته‌ها توسط آزمون‌های کای دو و دقیق فیشر و نرم‌افزار SPSS ۱۱/۵ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

۱۵/۵٪ از بیماران در زیر گروه Pro-B cell ALL، ۵۲٪ در Pre-B cell و سلول بالغ B-cell ALL و ۳۲٪ در گروه سلول بالغ T-cell ALL قرار داشتند. ۶۴٪ از بیماران مبتلا به B-cell پس از درمان القایی، بهبودی کامل به دست آوردند، در حالی که این درصد برای T-cell ALL ۴۴٪ بود. بر اساس شاخص‌های مورد مطالعه، تشخیص افتراقی Pre-T cell ALL از سلول بالغ T-cell ALL امکان‌پذیر نبود و پاسخ به درمان، در گروه T-cell ALL نسبت به B-cell کمتر بود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه فراوانی T-cell ALL بیشتر از آمار منظور شده در مراجع بود، با این حال لازم به ذکر است که T-cell Lymphoma با درجه بالا، از ALL متفاوت بود. هم چنین مدت زمان بهبودی و زنده ماندن در سلول B-cell ALL طولانی‌تر از T-cell ALL بود.

کلمات کلیدی: لوسمی لنفوبلاستیک حاد، ایمونوفنوتایپینگ، القای رمیسیون

تاریخ دریافت: ۱۹/۷/۲۵

تاریخ پذیرش: ۹/۹/۷۰

۱- فوق تخصص هماتولوژی و مدیکال انکولوژی - استادیار مرکز تحقیقات هماتولوژی و انکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز - ایران

۲- فوق تخصص هماتولوژی و مدیکال انکولوژی - استاد و رئیس مرکز تحقیقات هماتولوژی و انکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز - ایران

۳- PhD هماتولوژی - مرکز تحقیقات هماتولوژی و انکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز - ایران

۴- مؤلف مسؤول: پزشک عمومی - مرکز تحقیقات هماتولوژی و انکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز - خیابان دانشگاه - ایران - کدپستی: ۵۱۶۶۶۱۴۷۳۱

مقدمه

با توجه به این که لوسمی لنفوبلاستی حاد (Acute Lymphoblastic Leukemia = ALL) در بالغین از پیش آگهی خوبی برخوردار نیست، علی رغم پیشرفت های قابل توجه در درمان و تشخیص ایمونولوژیک، این بیماری در بزرگسالان با مرگ و میر بالایی همراه است و در مطالعه های مختلف، میزان درمان آن بین ۲۵٪ تا ۴۰٪ ذکر شده است.

از زمانی که مارکرهای سلولی یا آنتی ژن های سطحی سلول شناخته شد، برای تشخیص دقیق نوع بلاست، از این آنتی ژن ها استفاده شد. هر چند وجود و تظاهر این آنتی ژن ها روی سلول های نارس در همه موارد اختصاصی نیست، اما کمک بزرگی برای تشخیص انواع لوسمی و هم چنین ALL نموده است (۱-۳).

آنتی ژن های موجود در سطح سلول ها، جهت تعیین نوع لوسمی کمک کننده هستند. آنتی ژن های CD14، CD13، CD33 و CD34، هم در سلول های میلوئیدی طبیعی نارس و هم میلوبلاست ها یافت می شوند. البته در (Acute Myeloid Leukemia) نوع مگاکاریوسیتی و اریترئیدی، آنتی ژن های پلاکتی و اریترئیدی حضور دارند. بلاست ها در لوسمی میلوئیدی، HLA-DR را نیز بیان می کنند (۴).

در ۱۰٪ بیماران B-ALL، ایمونوگلوبولین داخل سیتوپلاسمی وجود دارد که تحت عنوان Pre-B cell ALL نام برده می شود. اگر ایمونوگلوبولین در سطح سلول قرار بگیرد، نوع بالغ B-cell ALL خواهد بود، که کمتر از ۵٪ B-ALL ها را شامل می شود (۵، ۶).

بهترین پاسخ درمانی (Therapeutic Outcome) در گروه Early Pre-B cell CD10+ دیده می شود. حدود ۲۵٪ ALL ها، آنتی ژن های T را روی بلاست ها بیان می کنند و کمتر از نصف این مورد، Pre-T cell ALL هستند که CD3 را همراه با CD4 و CD8 و یا بدون آن ها بیان می کنند (۵، ۴). اما اغلب T-cell ALL ها، آنتی ژن CD3 به علاوه یکی از آنتی ژن های CD4 و CD8 را روی بلاست های خود دارند. پیش آگهی T-cell ALL از Pre-T cell ALL بهتر است (۱-۳). ۲۵٪ بیماران ALL، آنتی ژن های میلوئیدی را بیان می کنند که این گروه از پیش آگهی

بدتری برخوردارند و نیاز به شیمی درمانی شدیدتری دارند.

در موارد نادر، بلاست های بیماران لوکمی هیچ آنتی ژنی را بیان نمی کنند که به این گروه لوکمی تمایز نیافته (Undifferentiated Leukemia) می گویند. اگر روی یک بلاست هر دو مارکر لنفوئیدی و میلوئیدی حاضر باشند، نام Biphenotypic و اگر بلاست های میلوئیدی و لنفوئیدی به صورت هم زمان وجود داشته باشند، به نام Bilineal خوانده می شود. در کل پیش آگهی بیماران در این سه دسته نسبت به لوسمی هایی با شناسنامه مشخص بدتر است.

در ALL با توجه به نوع ایمونولوژیک آن، درمان و پیش آگهی متفاوت است. بنابراین اولین اقدام در بیمار ALL، مشخص نمودن زیر گروه ایمونولوژیک با استفاده از فلوسیتومتری و به دنبال آن جمع آوری فاکتورهای پیش آگهی دهنده جهت طراحی برنامه درمانی است.

شروع علایم بالینی ALL به ندرت مخفیانه است و لوسمی بر وجود علایم و نشانه ها روی مغز استخوان و درگیری اکسترامدولاری تاثیر می گذارد. بررسی لام خون محیطی گاهاً برای تایید تشخیص ALL کافی است، ولی آزمایش های بالینی و آزمایشگاهی اضافی برای طرح یک دستورالعمل درمانی و ایجاد اطلاعات تشخیصی مهم، ضروری خواهد بود (۳). در حدود ۲۵٪ تا ۴۰٪ بالغین مبتلا به ALL درمان می شوند، اما سن هنوز به عنوان یک عامل محدود کننده برای تاثیر درمان در یک سوم بالغین مبتلا به ALL بالای ۶۰ سال محسوب می شود. بیشتر بیماران بالغ مبتلا به ALL، مبتلا به عود بیماری می شوند. تدابیر درمانی موفقیت آمیز برای ALL های عود شده و تکرارشونده اندک هستند (۳). بیش از ۸۰٪ بیماران مبتلا به ALL که درگیری CNS دارند، به صورت نامشابهی علایم ارجاعی را نشان می دهند که ممکن است به صورت سر درد، تهوع، سفتی گردنی، تغییرات در وضعیت ذهنی و اختلالات نورولوژیک ناحیه ای باشد. سایر مناطق درگیر اکسترامدولاری عبارتند از بیضه ها، شبکه و پوست که شایع ترین یافته ها در معاینه به صورت رنگ پریدگی، پتشی و اکیموز در پوست و مخاطها است (۱-۳).

از آن جایی که خوشبختانه در مرکز تحقیقات خون و

انکولوژی شهید قاضی، از چندین سال قبل فلوسیتومتری و تعیین ایمونوفنوتایپینگ در بیماران لوسمی انجام می‌شد، اقدام به بررسی بیماران ALL در این مرکز نمودیم، تا مشخص شود اولاً ایمونوفنوتایپینگ انجام یافته روی بیماران تا چه حد به صورت دقیق و با کارایی لازم، در جهت رساندن به تشخیص زیر گروه ایمونولوژیکی مساعدت می‌نماید و در غیر این صورت، تغییرات لازم و استفاده از مارکرهای اختصاصی تر جهت تشخیص، نیاز است. در ثانی درمان موارد ذکر شده و پاسخ به درمان چه تفاوت‌هایی داشته و یا باید داشته باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع توصیفی و تحلیلی بود. جامعه آماری پژوهش حاضر را تمامی بیماران بالای ۱۲ سال که به علت ابتلا به لوسمی حاد در مرکز تحقیقات هماتولوژی - انکولوژی شهید قاضی تبریز بستری بودند و توسط مورفولوژی تشخیص گذاشته شده و فلوسایتومتری برای آن‌ها انجام شده بود، تشکیل می‌دادند.

در مجموع ۱۳۴ بیمار ALL از میان افرادی که در مدت ۸ سال یعنی حد فاصل سال‌های ۱۳۷۷ تا ۱۳۸۵ با تشخیص ALL در این مرکز بستری شده بودند، به روش نمونه‌گیری در دسترس از نوع Consecutive (آسان در دسترس) انتخاب شدند.

اطلاعات آزمایشگاهی و پرونده‌های بیماران ALL فوق بررسی شد و مقادیر شاخص‌های هماتولوژیک آزمایشگاهی که با استفاده از روش فلوسیتومتری مشخص بودند، ثبت گردید. اطلاعات دموگرافیک، علایم بالینی بیماران و شاخص‌های ایمونوفنوتایپینگ بر اساس مطالعه خون محیطی، اسپیراسیون و بیوپسی مغز استخوان که مبنای تقسیم‌بندی بیماران ALL به گروه‌های Pre-B cell ALL، ALL، B-cell ALL و T-cell ALL می‌باشد، مطالعه و گروه‌بندی شد.

هم چنین رابطه عواملی از جمله سن و جنس با میزان پاسخ‌دهی به درمان و میزان پاسخ‌دهی کلی به درمان در حد رمیسین بر روی بررسی گردید. رژیم درمانی القایی مورد ارزیابی در این مطالعه شامل رژیم ۲۸ روزه حاوی

وین کریستین، داناروبیسین، سیکلو فسفاماید، L-آسپارازیناز و پردنیزولون بر اساس دستورالعمل تصویب شده بخش بود.

برای حصول اطمینان از صحت مارکرها و هم چنین مثبت بودن بلاست‌ها در نمونه سلولی، ابتدا بر اساس اندازه و مشخصات ضمایم درون سلولی (Side Forward Scatter) جمعیت سلولی بلاست هدف (gate) انتخاب شده و تمامی آنالیزهای مارکری بر روی جمعیت انتخاب شده انجام گرفت و سپس کلیه مارکرها بعد از تهیه، بر اساس فرآیند استاندارد شرکت سازنده (batch-control) مورد ارزیابی قرار گرفتند. ضمناً برای تمامی آزمایش‌های کنترل منفی مشتمل بر IgG-FITC، IgG-PE مورد استفاده قرار گرفت. لازم به توضیح است تعداد سلول‌ها بین ۵ تا ۱۰ هزار در هر میکرولیتر تنظیم شد و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به لوله فلوسایتومتری (Becton Dickinson) منتقل گردید. با آنتی‌بادی‌های کونژوگه شده با FITC (Fluorescein Isothiocyanate) و PE (Phyco Erythrin) به ازای هر آنتی‌بادی ۱۰ میکرولیتر به لوله‌های حاوی نمونه اضافه شد، مدت ۴۵ دقیقه در تاریکی و حرارت اتاق انکوبه گردید و توسط نرم‌افزار Cell Quest مورد ارزیابی قرار گرفت.

بعد از این که داده‌های دموگرافیک، داده‌های مبتنی بر علایم بالینی و داده‌های مربوط به شاخص‌های ایمونوفنوتایپینگ به این ترتیب جمع‌آوری شدند، تجزیه و تحلیل اولیه روی آن‌ها صورت گرفت و برای انجام تحلیل آماری آماده شد.

برای تعیین زیر گروه ایمونوفنوتایپینگ بیماران از معیارهای زیر مطابق با فرانس‌های متعدد استفاده شد:

Pro-B cell: CD19+, HLADR+, CD34 +
Early Pre-B cell: CD19+, CD10+, TdT+, CD22+, CD79+

Pre-B cell: CD19+, CD20+, CD21+, CD10-
Mature B-cell: CD19+, CD20+, CD21+, CD22+, sIg M, IgD

Pre-T cell: CD2+, CD7+, CD3+, CD8+, CD4+
or

Pre-T cell: CD2+, CD7+, CD3+, CD8-, CD4-

Mature T-cell: CD2+, CD7+, CD3+, CD4-, CD8+, TCR+

or

Mature T-cell: CD2+, CD7+, CD3+, CD4+, CD8-

مطابق معیار سازمان بهداشت جهانی (WHO)، اگر ۲۰٪

سلول‌های هسته‌دار آنتی‌ژن (مارکر) غیر معمول را بیان

کنند، مثبت تلقی می‌شوند (۵، ۶).

داده‌های حاصل از پژوهش حاضر با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ۱۱/۵ مورد تحلیل قرار گرفته و به تناسب اهداف پژوهش از روش‌های آمار توصیفی و آمار استنباطی استفاده شد. داده‌های کیفی به صورت درصد و فراوانی توصیف شدند. برای توصیف داده‌های کمی از آماره‌های مرکزی و پراکندگی استفاده گردید. میانگین‌ها به صورت میانگین $\pm$ دو برابر خطای استاندارد میانگین ($\pm 2 \text{ SEM}$) (Mean) نشان داده شد. رابطه بین متغیرهای کیفی با آزمون کای دو و دقیق فیشر سنجش شد. تفاوت میانگین‌ها در دو گروه با آزمون t مستقل (Independent student t test) بررسی گردید. در تمام موارد سطح معناداری، $p < 0/05$ نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مجموع از ۱۳۴ بیمار، ۱۱ مورد به علت قطعی نبودن تشخیص ALL از مطالعه کنار گذاشته شدند و از ۱۲۳ مورد باقی‌مانده، فقط ۸۶ بیمار فلوسایتومتری قابل قبول از نظر تعیین زیرگروه ایمونولوژیک داشتند (جدول ۱). از این تعداد، ۵۶ نفر (۴۵/۵٪) زن و ۶۷ نفر (۴۵/۵٪) مرد بودند. از نظر زیر گروه‌های ایمونولوژیک، تفاوت جنسی هر چند معنادار نبود اما مشخصاً نوع T-cell ALL در آقایان شایع‌تر بود.

میانگین سنی بیماران $28/5 \pm 1/56$ سال و حداقل سن ۱۲ و حداکثر ۸۰ سال بود. سن با زیر گروه‌های مورفولوژیک و ایمونولوژیک ارتباط معناداری نداشت. ۶۱/۳٪ بیماران ساکن شهر و ۳۸/۷٪ ساکن روستا بودند. در زیر گروه‌های مورفولوژیک و ایمونولوژیک، تفاوت معناداری از نظر محل سکونت وجود نداشت. بروز بیماری در فصل‌های گرم و سرد تقریباً یکسان بود و تفاوت معناداری نداشت.

توده مدیاستن در ۳ مورد (۲/۴٪) بیماران مشاهده شد و در زیر گروه ایمونولوژیک T به طور مشخص شایع‌تر بود. اسپلنومگالی در ۵۳ مورد (۴۳/۵٪) بیماران وجود داشت. وجود آدنوپاتی در ۶۰ بیمار (۴۸/۸٪) بیماران مشاهده شد که حداکثر شیوع آن به ترتیب در ناحیه گردنی، ساب

ماندیبولر، آگزیلاری و اینگوینال بود.

درگیری CNS حین بروز بیماری در ۷ مورد (۵/۷٪) وجود داشت. اما درگیری CNS در نهایت در ۲۵ بیمار (۲۰/۵٪) دیده شد و از نظر زیر گروه‌های ایمونولوژیک، در T-cell ALL کمتر از B-cell بود. از نظر پاراکلینیکی وجود بلاست در خون محیطی حین مراجعه در ۷۵ بیمار (۶۱٪) مشاهده شد که بین زیر گروه‌های مختلف تفاوت معناداری مشاهده نشد.

سندرم لیز تومور (Tumor lysis syndrome) در ۴ مورد (۳/۳٪) از کل بیماران ALL وجود داشت که به صورت معناداری در زیر گروه مورفولوژی L3 شایع‌تر بود و از این نظر زیر گروه‌های ایمونولوژیک، تفاوت معناداری با هم نداشتند. ESR در ۲۲ بیمار (۱۷/۸٪) ALL افزایش یافته بود و تفاوتی در زیر گروه‌ها مشاهده نشد. LDH در ۹۶ بیمار (۷۸/۴٪) بیماران افزایش یافته بود و باز تفاوتی در زیر گروه‌ها مشاهده نشد.

از نظر مورفولوژی؛ ۳ بیمار (۲/۴٪) در گروه L1، ۱۱۵ بیمار (۹۳/۵٪) در گروه L2 و ۵ بیمار (۴/۱٪) در گروه L3 قرار داشتند. از نظر زیر گروه‌های ایمونولوژیک به ترتیب شیوع: ۱۹ بیمار (۱۶٪) Pro-B cell ALL، ۶۳ بیمار (۵۱٪) Pre-T cell+ T-cell (۳۳٪) و ۴۱ بیمار (۳۳٪) Pre-B cell+ B-cell بودند.

بیماران در گروه مورفولوژی L1 هیچ کدام به دنبال درمان اولیه القایی به رمیسیون نرفتند، در زیر گروه L2، ۵۷/۹٪ به رمیسیون کامل رفتند و در زیرگروه L3، ۱۰۰٪ به رمیسیون کامل رفتند. طول مدت رمیسیون در بیماران گروه B از ۲۸ روز تا ۵۴۶ روز و متوسط ۱۷۷ روز بود و در گروه T از ۴۵ روز تا ۲۲۰ روز و متوسط ۱۸۹ روز بود. میزان بقا در گروه B و T نیز مقایسه شد؛ در گروه B که ۱۵ نفر حایز شرایط بودند و اطلاعات لازم در مورد آن‌ها در دست بود، بقا از ۳ تا ۲۰۰۰ روز متغیر و به طور متوسط ۵۸۸/۴۲ روز به دست آمد. در گروه T از ۱۶ نفر مذکور، بقا از ۹۵۰-۹ روز و به طور متوسط ۴۱۶/۴۱ روز بود. کلاً در گروه B از ۵۸ بیمار، ۲۴ بیمار و در گروه T-ALL، از ۲۸ بیمار ۱۱ بیمار به رمیسیون کامل راه یافتند که از نظر آماری، اختلاف معنادار نبود (جدول ۱).

مقایسه شده است؛ در گروه B که ۱۵ نفر حایز شرایط بودند و اطلاعات لازم در مورد آن‌ها در دست بود، بقا از ۳ تا ۲۰۰۰ روز (به طور متوسط ۵۸۸/۴۲ روز) متفاوت بود. در گروه T از ۱۶ نفر مذکور، بقا از ۹-۹۵۰ روز (به طور متوسط ۴۱۶/۴۱ روز) متفاوت و در مقایسه دو گروه معنادار نبود.

بحث

ایمونوفنوتایپینگ لوسمی‌ها اکنون به یکی از اجزای تشخیصی و تعیین نوع درمان آن‌ها تبدیل شده است و همه روزه، مارکرهای اختصاصی‌تری جهت تسهیل تمیز قطعی انواع لوسمی‌ها معرفی می‌شود.

تشخیص انواع لوسمی‌ها با تکیه بر مورفولوژی، به یک حادثه تاریخی در بلوغ علم هماتولوژی تبدیل شده و بدون استفاده از ایمونوفنوتایپینگ، سیتوزنتیک و شناسایی ژن‌ها توسط FISH (Fluorescence in situ hybridization) و غیره، تشخیص و درمان ممکن نخواهد بود.

در مطالعه‌های متعدد قبلی که اکنون به صورت مرجع در آمده است، بر اساس ایمونوفنوتایپینگ، بیماران ALL در نوع B-cell به Pre-Pre-B cell، Pre-B cell و B-cell و در نوع T-cell به دو نوع Pre-T cell و Mature T-cell گروه‌بندی می‌شوند (۱-۵). با این که به علت محدودیت در تهیه آنتی‌بادی‌ها امکان تعیین زیرگروه‌های T و B مقدور نبود، به طوری که در برخی از موارد ناچار به حذف بیماران از لیست کلی در این مطالعه شدیم، ولی سعی شد حتی‌الامکان پانل کامل مارکرها برای تعیین زیرگروه‌های ALL به کار گرفته شود. متأسفانه در مورد تقسیم‌بندی ایمونولوژیک با استفاده از فلوسیتومتری، با کم بودن مارکرهای مورد استفاده و نبود مارکرهایی که در تعیین دقیق زیرگروه‌های جدید ایمونولوژیک کمک می‌کنند، عملاً فقط تعیین زیرگروه‌های B، T و Pre-B ممکن شد. تعیین Pre-T ALL از T-ALL و هم چنین جداسازی Mature B-cell ALL از Pre-B ALL امکان‌پذیر نشد. پیش آگهی بیماران بر اساس دو گروه B-cell و T-cell به این ترتیب است که در گروه B-cell هر چه سلول بلاست نارس‌تر، پروگنوز بهتر و پاسخ به درمان بیشتر است، اما در

از نظر پاسخ به درمان و یا رمیسیون کامل به دنبال درمان القایی اولیه (Induction Therapy) در زیرگروه‌های مورفولوژیک، در گروه L1 و L3 که ۲ بیمار وجود داشت، هر دو به رمیسیون کامل رفتند. البته با توجه به کم بودن زیرگروه L1 و L3 از نظر آماری، اظهار نظر خاصی نمی‌توان کرد ولی در زیرگروه ALL (L2) در ۶۰/۴٪ موارد رمیسیون کامل حاصل شده بود که با مطالعه‌های انجام شده مطابقت دارد. با توجه به این که رمیسیون ALL تحت عوامل پروگنوستیک متفاوت می‌باشد، لزوم دخالت دادن این عوامل نیز در جواب به درمان کمک‌کننده است.

جدول ۱: تقسیم‌بندی ایمونوفنوتایپینگ بیماران ALL مورد مطالعه

نوع ALL	شیوع	درصد	میانگین (SD±)
Pro-B cell	۱۴	۱۰/۴	۲۵/۸۶ ± ۱۴/۷۹
Pre-B cell	۴	۳	۳۷/۲۵ ± ۲۵/۷۸
B-cell	۳۲	۲۳/۹	۲۹/۱۹ ± ۱۸/۶۷
Pro-T cell	۱	۰/۷	۱۲ ± ۰
T-cell	۳۵	۲۶/۱	۲۵/۶۳ ± ۱۵/۴۲
مجموع	۸۶	۶۴/۲	۲۷/۳۵ ± ۱۶/۹۹

از نظر پاسخ به درمان القایی در تقسیم‌بندی زیر گروه‌های ایمونولوژیک، در این مطالعه در زیرگروه Pro-B در ۳۶٪ موارد، در گروه Pre-B در ۷۳/۹٪ و در گروه T-cell، اعم از Mature T-cell و Pre-T cell، ۲۸/۶٪ به رمیسیون کامل رفتند که نشان‌دهنده درصد بالای رمیسیون کامل در نوع Pre-B می‌باشد. بررسی این مطلب که عوامل فوق به صورت جداگانه یا در ارتباط با عوامل دیگر باعث افزایش جواب به درمان شده است یا خیر، احتیاج به تحقیق بیشتر و مقایسه با نتایج مطالعه‌های دیگران دارد.

کلاً در گروه B از ۵۸ بیمار، ۲۴ بیمار و در گروه T-ALL از ۲۸ بیمار ۱۱ بیمار به رمیسیون کامل دست یافتند که از نظر آماری معنادار نبود. طول مدت رمیسیون در آن‌هایی که به رمیسیون رفتند یافته جانبی بود که در بیماران گروه B از ۲۸ روز تا ۵۴۶ روز (متوسط ۱۷۷ روز) و در گروه T از ۴۵ روز تا ۲۲۰ روز (متوسط ۱۸۹ روز) متغیر بود و از نظر آماری معنادار نبود. اما بقا در گروه B و T نیز

گروه T-cell پروگنوز Mature T-cell از Pre-T cell بهتر می‌باشد. با توجه به دخالت زیرگروه‌ها در انتخاب درمان بیماران ALL و لزوم جداسازی برای استفاده از درمان‌های تازه‌تر، اهمیت تکمیل مارکرهای بیشتر احساس می‌شود و این نقیصه یکی از محدودیت‌های مهم مطالعه حاضر می‌باشد.

در بقیه بیماران که ۸۶ نفر بودند، با توجه به معیارهای فلوسیتومتری و بیان آنتی‌ژن‌های سلولی این نتایج به دست آمد: تعداد بیماران در گروه Pro-B cell، ۱۴ (۱۶/۲۰٪) نفر بود و ۴۴ نفر (۵۱/۳٪) Pre-B cell و Mature B-cell بودند که امکان جداسازی Pre-B cell از Mature B-cell وجود نداشت. ۲۸ نفر (۳۲/۵٪) در گروه T-ALL قرار داشتند. البته امکان جداسازی Mature T-ALL و Pre-T ALL وجود نداشت. بروز آنتی‌ژن‌های میلوئیدی در بلاست‌های لنفوئیدی در مطالعه‌های مختلف، در ALL نوع بزرگسالان از ۱۰ تا ۵۰ درصد در مراجع مختلف ذکر شده است (۵). هم‌چنین بروز مارکرها و یا آنتی‌ژن‌های B روی بلاست‌های T-cell و مارکرهای T در B-ALL نیز در این مطالعه دیده شد.

در مورد بروز آنتی‌ژن‌های میلوئیدی مارکر CD13 که شایع‌ترین مارکر میلوئیدی است و در بلاست‌های لنفوئیدی به صورت جانبی بیان می‌شود، در مطالعه حاضر ۴۰٪ B-ALL ها آنتی‌ژن CD13 و ۵۰٪ T-ALL ها آنتی‌ژن CD13 را بیان کرده‌اند. مارکر CD33 ۲۹/۳٪ در B-ALL و ۳۱٪ در T-ALL به صورت نابه‌جا (aberrancy) بیان شده است که این نتایج مطابق با مطالعه‌های مشابه می‌باشد (۴، ۳). به عبارت دیگر بروز مارکرهای میلوئیدی CD33 و CD13 به صورت نابه‌جا در T-ALL، شایع‌تر از نوع B-ALL است.

در مطالعه‌ای دیگر در مرکز شهید قاضی تبریز، میزان شیوع مارکرهای لنفوئیدی روی بلاست‌های لنفوئیدی به شکل (۴۵٪) TdT، (۲۸٪) CD7، (۲۱٪) CD2 و (۱۴٪) CD10 بود که برخلاف سایر مطالعه‌ها، میزان (۵٪) CD19 و (۹٪) CD20، از شیوع پایینی برخوردار بود. شایع‌ترین مارکرهای میلوئیدی که روی بلاست‌های لنفوئیدی بیان شده بودند، CD13 و CD33 با شیوع ۱۶٪ و ۱۰٪ بودند. بروز آنتی‌ژن CD34 در ۶۴٪ بلاست‌های لنفوئیدی وجود

داشت که با پروگنوز خوب همراه بود (۷). در مطالعه‌ای که در دپارتمان پاتولوژی دانشگاه آقاخان کراچی پاکستان انجام شده، ۲۰۹ بیمار مبتلا به ALL از نظر تقسیم‌بندی ایمونوفنوتایپینگ مورد مطالعه قرار گرفتند که در نتیجه میزان T-ALL در کل ۱۷/۲۲٪ گزارش شد. سن متوسط بیماران مبتلا به T-ALL ۱۷/۲ سال و شیوع T-ALL در بزرگسالان نسبت به کودکان بیشتر بود (۱۴/۱۷٪). ۲۱/۹۵٪ T-ALL در مردان شیوع بیشتری نسبت به زنان داشت (۶۹/۴۰٪ به ۲۵/۳۶٪). مارکر CD7 حساس‌ترین مارکری بود که در T-ALL کودکان و بزرگسالان با شیوع ۹۴/۴٪ دیده شد. مارکرهای استفاده شده در این بیماران CD13، CD33، HLA-DR، CD17، CD20، CD22، CD1 و CD5 بودند (۸).

در مطالعه‌ای که توسط بخش هماتولوژی بیمارستان نانفی دانشگاه پزشکی ارتش چین توسط زو و همکاران انجام شد، میزان بروز آنتی‌ژن‌های میلوئیدی روی بلاست‌های ۲۹ بیمار ALL مورد مطالعه ۳۴/۵٪ بود. در این مطالعه هم‌چنین میزان بروز آنتی‌ژن‌های لنفوئیدی روی بلاست‌های ۷۱ بیمار AML، ۲۳/۹٪ گزارش شده است (۹). در مطالعه‌ای که در بیمارستان وست دانشگاه سیچوان چین توسط ژو و همکاران انجام گرفت نشان داده شد که میزان بروز آنتی‌ژن‌های میلوئیدی در ۲۸ بیمار ALL، ۳۰٪ می‌باشد و در ۱۰/۳٪ موارد CD13 و ۲۰/۷٪ مارکرهای CD33 بیان شده بود. در این مطالعه نشان داده شد که هیچ تفاوتی در میزان بروز آنتی‌ژن‌های میلوئیدی بر روی انواع T-ALL و B-ALL وجود ندارد اما در مطالعه حاضر، بروز CD33 در T-cell شایع‌تر بود و از نظر آماری $p < 0/001$ گزارش شد (۱۰).

البته در مطالعه ژو و همکارانش، بروز آنتی‌ژن‌های میلوئیدی در بیماران ALL که CD34 را بیان می‌کردند بیشتر از بیماران CD34 منفی بود (۰/۰۳۶، $p = 0/001$) در مقابل (۷۷/۸٪) (۱۰).

در این تحقیق، با توجه به کامل نبودن فایل فلوسیتومتری نتوانستیم بروز آنتی‌ژن‌های میلوئیدی روی بلاست‌های لنفوئیدی را بر اساس حضور و عدم حضور CD34 ارزیابی کنیم.

طبق کتاب مرجع هماتولوژی ویلیامز، میزان بروز آنتی‌ژن‌های میلوئیدی روی ALL کودکان از ۳۰٪-۵٪ و در بزرگسالان از ۵۰٪-۱۰٪ ذکر شده است. رابطه معناداری از نظر مورفولوژی و ارتباط آن با زیر گروه ایمونولوژی یافت نشد (۴). البته با توجه به کم بودن تعداد ALL (L3) و ALL (L1)، نمی‌توان مورفولوژی و ارتباط آن با ایمونوفنوتایپینگ را از نظر آماری مطالعه نمود. در بیماران این مطالعه، تعداد ALL (L1) ۲/۴٪ و تعداد ALL (L3) ۴/۱٪ بود و پر واضح است که ALL (L3) با نوع Mature B-cell همراه می‌باشد و در صورتی که تعداد بیماران ALL (L3) زیاد باشد، نتیجه معناداری از نظر آماری حاصل می‌شود.

در مطالعه‌ای که توسط ال گوایز و همکاران در بخش هماتولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه پادشاهی سعودی با استفاده از فلوسیتومتری و IHC (Immunohistochemical) انجام گرفت، نشان داده شد که از ۵۰ بیمار مورد مطالعه، ۳۷ بیمار (۷۴٪) دارای مارکرهای ALL Pre-B، ۱۰ بیمار (۲۰٪) T-ALL و ۳ بیمار (۶٪) Mature B-ALL بودند (۱۱).

در مطالعه‌های دیگر نیز میزان شیوع T-ALL ۲۵٪-۲۰٪ ذکر شده است و در مطالعه ما، این میزان ۳۲/۵٪ به دست آمد که نسبتاً بالاست (۱۲-۱۴). با توجه به این که گرفتاری مغز استخوان و خون محیطی در لنفوم‌هایی با درجه بالا ممکن است با ALL اشتباه گردد، لزوم استفاده از روش‌های تکمیلی بیشتر احساس می‌شود. در مطالعه‌های مشابه دیگر، درصد Pre-B cell ۷۵٪، T-ALL ۲۰٪ و B-ALL ۵٪ ذکر شده است (۵، ۲، ۱).

بدیهی است جهت تعیین نقش زیرگروه ایمونولوژیک

در لوسمی ALL بزرگسالان، تعیین بروز آنتی‌ژن‌های CD19، CD20، CD21، CD10، SIg، cIg، TdT، CD2، CD3، CD4، CD7 و CD1a و توجه به چند مارکر میلوئیدی (CD13 و CD33) و مارکر مشترک CD45 ضروری است (۱۷-۱۵). هم چنین در مواردی که بیان هم زمان آنتی‌ژن‌های خاصی مورد نظر باشد، انجام آن می‌تواند در تعیین بیان مارکرهای B روی T-cell و برعکس T روی B-cell ها کمک‌کننده باشد (۱۹، ۱۸).

دو مطالعه در بخش هماتولوژی بیمارستان مردم دانشگاه پکن انجام شده که بیان آنتی‌ژن‌های T (CD7، CD2) روی B-ALL مورد بررسی قرار گرفته است و نشان داده شده که بروز آنتی‌ژن‌های T به صورت نادری در بلاست‌های B-ALL بیان می‌شود (۲۰، ۱۹).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر در مورد پاسخ به درمان القایی با مطالعه‌هایی که T-cell ALL را جزو گروه‌هایی با پیش‌آگهی خوب می‌دانند، متفاوت است. توجه این تفاوت در عدم تمایز Pre-T cell ALL از T-cell ALL می‌باشد، زیرا در مراجع هماتولوژی، زیر گروه Pre-T cell از پروگنوز بدتر و T-cell ALL از پروگنوز بهتری برخوردار است. بروز مارکرهای میلوئیدی T-cell ALL شایع‌تر از B-cell ALL می‌باشد.

در مورد انجام ایمونوفنوتایپینگ و نقش آن در درمان و تعیین پروگنوز در بیماران لوکمی حاد، همه مراجع توافق نظر دارند و متأسفانه ایمونوفنوتایپینگ در مرکز شهید قاضی تبریز، با نقایص و کاستی‌هایی همراه است.

References :

- 1- Onciu M. Acute lymphoblastic leukemia. Hematol Oncol Clin North Am 2009; 23(4): 655-74.
- 2- Appelbaum FA. The Acute Leukemia. In: Goldman L, Ausiello D. Cecil Text Book of Medicine. 22nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 2004. p. 1161-1166.
- 3- Longo DL. Malignancies of lymphoid cells. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison's Principle of Internal Medicine. 17th ed. New York: McGraw-Hill; 2008. p. 687-99.
- 4- Ching-Hon Pu. Acute Lymphoblastic Leukemia. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT. Williams Hematology. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2006. P. 1321-42.
- 5- Itaruka H, Coutre SE. Acute Lymphoblastic Leukemia in adults. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B. Wintrobe's Clinical Hematology. 12th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009. p. 1820-1842.
- 6- Rosenthal DS, Schrier SL, Landaw SA. Evaluation of bone marrow aspirate smears [Up to Date]. Release: 20.5-c20.7: Up to Date Marketing Professional, Wolters Kluwer Health; 2012.
- 7- Asvadi Kermani I. Immunophenotyping of acute

- leukemia in northwestern Iran. *IJMS* 2002; 27(3): 136-8.
- 8- Khawaja MR, Allana SS, Akbarali AN, Adil SN, Khurshid M, Pervez S. Flow cytometric and demographic analysis of t cell acute lymphoblastic leukemia in Pakistani population. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2005; 17(4): 3-8.
 - 9- Xu B, Hu C, Miao XD, Wu YH, Yi ZS, Yang Y, *et al.* Immunophenotyping of 106 adult patients with acute leukemia by flow cytometry. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao* 2003; 23(10): 1043-6.
 - 10- Zhu H, NiuT, Meng W, XuC, Lei S. Immunophenotype of acute leukemia and its clinical significance. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2002; 33(1): 118-20.
 - 11- Al Gwaiz LA, Bassioni W. Immunophenotyping of acute lymphoblastic leukemia using immunohistochemistry in bone marrow biopsy specimens. *Histol Histopathol* 2008; 23(10): 1223-8.
 - 12- Lenormand B, Béné MC, Lesesve JF, Bastard C, Tilly H, Lefranc MP, *et al.* PreB1 (CD10-) acute lymphoblastic leukemia: immunophenotypic and genomic characteristics, clinical features and outcome in 38 adults and 26 children. *The Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies. Leuk Lymphoma* 1998; 28(3-4): 329-42.
 - 13- Chen W, Karandikar NJ, McKenna RW, Kroft SH. Stability of Leukemia-Associated Immunophenotypes in Precursor B-Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma, A Single Institution Experience. *Am J Clin Pathol* 2007; 127(1): 39-46.
 - 14- Goldberg JM, Silverman LB, Levy DE, Dalton VK, Gelber RD, Lehmann L, *et al.* Childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia: the Dana-Farber Cancer Institute acute lymphoblastic leukemia consortium experience. *J Clin Oncol* 2003; 21(19): 3616-22.
 - 15- Vitale A, Guarini A, Ariola C, Mancini M, Mecucci C, Cuneo A, *et al.* Adult T-cell acute lymphoblastic leukemia: biologic profile at presentation and correlation with response to induction treatment in patients enrolled in the GIMENIA LAL 0496 protocol. *Blood* 2006; 107(2): 473-9.
 - 16- Patte C, Auperin A, Michon J, Behrendt H, Leverger G, Frappaz D, *et al.* The Société Française d'Oncologie Pédiatrique LMB89 protocol: highly effective multiagent chemotherapy tailored to the tumor burden and initial response in 561 unselected children with B-cell lymphomas and L3 leukemia. *Blood* 2001; 97(11): 3370-9.
 - 17- Hamouda F, EL-Sissy AH, Radwan AK, Hussein H, Gadallah F, Al-sharkawy N, *et al.* Correlation of karyotype and immunophenotype in childhood acute lymphoblastic leukemia; experience at the National Cancer Institute, Egypt. *J Egypt Natl Canc Inst* 2007; 19(2): 87-95.
 - 18- Pui CH, Sandlund JT, Pei D, Rivera GK, Howard SC, Ribeiro RC, *et al.* Results of therapy for acute lymphoblastic leukemia in black and white children. *JAMA* 2003; 290(15): 2001-7.
 - 19- Qiu Y, Wang G, Liu YJ, Shan LJ. Analysis of immunophenotypes of acute lymphoblastic leukemia by three color flow cytometry. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2009; 17(2): 442-4.
 - 20- Wang H, Liu YR, Chen SS, Chang Y, Qin YZ, Li JL, *et al.* Analysis of immunophenotype of B-lineage acute lymphoblastic leukemia cells by 4-color flow cytometry. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2003; 11(2): 137-41.

Original Article

Immunophenotyping assessment of Acute Lymphoid Leukemia in adults and its relation to induction therapy

Chavoshi SH.¹, Eivazi Ziaei J.¹, Movasaghpour Akbari A.A.¹, Dolatkah R.¹

¹Hematology and Oncology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Abstract

Background and Objectives

Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) is associated with a high rate of mortality in adults and the cure rate of the affected patients is nearly 25-40%. In order to achieve a good treatment, diagnosis of ALL subtypes and their consequent differentiation from other types of leukemia are required. The main aim of this study was to classify ALL subtypes by Flowcytometry.

Materials and Methods

One hundred and thirty four patients with ALL were recruited from Shahid Ghazi Hospital (1998 to 2006). In these studies, 86 out of 134 patients were examined by Flowcytometry.

Results

About 15.5% of the patients were considered to have pro B-cell ALL, 52% pre B-cell and mature B-cell ALL, and 32% mature T-cell ALL; 64% of the patients with B-cell subtype achieved complete remission after induction therapy, while this percentage for T-cell ALL was 44%. Based on the examined markers, the differentiation of Pre T-cell ALL from mature T-cell ALL was not possible. The response to therapy was higher in the T-cell ALL group compared to B-cell.

Conclusions

In this study, the frequency of T-cell ALL was higher than the reference (32%). However, it must be mentioned that the high grade T-cell Lymphoma was differentiated from ALL. The duration of remission and survival in B-cell ALL was longer than T-cell ALL but this difference was not statistically significant.

Key words: Lymphoblastic Leukemia. Acute, Immunophenotyping, Induction of Remission

Received: 16 Mar 2011

Accepted: 6 Sep 2011

Correspondence: Dolatkah R., MD. Hematology and Oncology Research Center of Tabriz University of Medical Sciences, Daneshgah Street, Shahid Ghazi Hospital
P.O.Box: 5166614731, Tabriz, Iran. Tel: (+98411) 3343811-13; Fax : (+98411) 3361358
E-mail: royadolatkah@yahoo.com