جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

دراسة وراثية و فسلجية لعينة من مرضى ابيضاض الدم النيقياني الحاد في محافظة كربلاء

اطروحة مقدمة الى

مجلس كلية التربية /جامعة كربلاء ،قسم علوم الحياة وهي جزء من متطلبات نيل درجة

دكتوراه فلسفة في علوم الحياة /وراثة جزيئية

من قبل

ياسمين خضير خلف الغانمي

بأشراف

الأستاذ الدكتور

علي حمود السعدي

الأستاذ الدكتور

حيدر كامل زيدان

بسم الله الرحمن الرحيم

يرفع الله الذين امنوا منكم والذين اوتوا العلم درجات ۞

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة / الآية 11

الأهداء

إلى من أزال الأشواك عن دربي ليمهد لي طريق العلم . . . .

إلى القلب الكبير . . . . . .والدي

إلى رمز الحب وبلسم الشفاء . . . .

إلى القلب الناصع . . . . . .أمي

إلى القلوب الطاهرة الرقيقة والنفوس البريئة . . . .

إلى رياحين حياتي . . . . . إخوتي

إلى توأم روحي ورفيقة دربي . . . . . أختي

ياسمين

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين ، والصلاة والسلام على سيدنا محمد خاتم الأنبياء والمرسلين وعلى اله الطيبين الطاهرين اما بعد ،

فلا يسعني إلا أن أتقدم بجزيل الشكر وعظيم الامتنان إلى استاذي المشرفين الأستاذ الدكتور علي حمود السعدي والأستاذ الدكتور حيدر كامل زيدان لاقتراحهما مشروع هذا البحث و ابدائهما النصائح القيمة والتوجيهات السديدة لإتمام مشروع البحث ومتابعتهما المستمرة وإشرافهما المباشر .

وأتقدم بالشكر إلى عمادة كلية التربية / جامعة كربلاء ورئاسة قسم علوم الحياة لما أبدوه من تسهيلات خلال مدة إنجاز مشروع البحث .

كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى وحدة الحمض النووي-كلية العلوم /جامعة بابل واخص بالشكر الآنسة منى لما أبدته من مساعدة .

وأخيرا أتقدم بالشكر والتقدير إلى كل من أبدى لي النصيحة القيمة والتوجيه نحو الطريق الصحيح في البحث العلمي والله ولي التوفيق .

ياسمين

قائـــــمة الجـــداول

ت	العنوان	الصفحة
3-1	يبين الأجهزة المستخدمة في إنجاز البحث والمنشأ والشركة	28
3-2	يبين الأدوات الزجاجية والبلاستيكية المستخدمة في إنجاز البحث .	29
3-3	يبين المواد الكيميائية المستخدمة في أنجاز البحث .	30
3-4	تسلسل البرايمرات المستخدمة في انجاز البحث المجهزة من قبل شركةAlpha DNA	39
4-1	معامل الانقسام الخلوي MI ومعامل التحسس لدى الذكور والإناث المصابين بـ AML قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية	48
4-2	معامل الانقسام الخلوي MI ومعامل التحسس لدى الذكور والإناث المصابين بـ AML بعد العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية	49
4-3	النسبة المئوية للتشوهات الكروموسومية لدى الذكور ،الإناث المصابين بـ AML بعد العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية	55
4-4	مستويات هرمون الاريثروبايوتين ،مستويات هرمون الـ ANP ومستويات البروتين البولي ألمجهري لدى الذكور والإناث المصابين بـ AML قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية	62
4-5	مستويات هرمون الاريثروبايوتين ،مستويات هرمون الـ ANP ومستويات البروتين البولي ألمجهري لدى الذكور والإناث المصابين بـ AML بعد العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية	63
4-6	مستويات الحديد ،قابلية ارتباط الحديد الكلية ومستويات الفيريتين لدى الذكور والإناث قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية	66

4-7	مستويات الحديد ،قابلية ارتباط الحديد الكلية ومستويات الفيريتين لدى الذكور والإناث المصابين بـ AML بعد العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية	67
4-8	العدد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض وعدد الصفيحات الدموية لدى الذكور والإناث المصابين بـ AML قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية	68
4-9	العدد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض وعدد الصفيحات الدموية لدى الذكور والإناث بعد العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية	69

قائـــــمة الاشـــــكال

ت	العنوان	الصفحة
3-1	الاختبارات المستخدمة في البحث	34
4-1	كروموسومات احد مرضى اللوكيميا قبل العلاج الكيميائي محضرة بطريقة التحزيم اذ يلاحظ حدوث تغيرات عددية وتركيبية (1) del, (1 -) 45,XY	46
4-2	كروموسومات أحد مرضى اللوكيميا بعد العلاج الكيميائي محضرة بطريقة التحزيم اذ يلاحظ حدوث تغيرات عددية وتركيبية 45,XY t (9:22)	46
4-3	الخلايا الارومية المتحسسة لدى إحدى المريضات بعد العلاج الكيميائي	47
4-4	اشكال كروموسومية شاذة لكروموسومات الطور الاستوائي (Metaphase) لخلايا الدم اللمفاوية لمرضى بعد العلاج الكيميائي . أ- التقاء النهايات الكروموسومية . ب – (a) التصاقات كروموسومية ، (b) كروموسوم حلقي .	51
4-5	اشكال كروموسومية شاذة لكروموسومات الطور الاستوائي (Metaphase) لخلايا الدم اللمفاوية لمرضى بعد العلاج الكيميائي أ- تكثف غير تام مع تطاول كروموسومي. ب -تكثف بسيط جداً مؤدياً إلى تكوين أشكال كروموسومية خيطية غير منتظمة.	52
4-6	قلة المجموعة الكروموسومية لخلايا الدم اللمفاوية لأحد المرضى بعد العلاج الكيميائي .	53

4-7	تكثف شديد مع قصر كروموسومي وفرط المجموعة الكروموسومية لخلايا الدم اللمفاوية لاحد المرضى بعد العلاج الكيميائي .	53
4-8	كروموسومات متجزأة خلال الطور الاستوائي لخلايا الدم اللمفاوية لأحدى المريضات بعد العلاج الكيميائي .	54
4-9	التصاق سنترومير ي للكروموسومات المتناظرة في الطور الاستوائي (Metaphase) لخلايا الدم اللمفاوية لمرضى بعد العلاج الكيميائي .	54
4-10	الترحيل الكهربائي للـ DNA المستخلص من الدم لمرضى اللوكيميا النخاعية الحادة acute Myeloid leukemia .	57
4-11	الترحيل الكهربائي للـ DNA المستخلص من الدم لمرضى اللوكيميا النخاعية الحادة acute Myeloid leukemia .	58
4-12	تحليل سجلات النسب لأحد المريضات بعد العلاج الكيميائي	59
4-13	تحليل سجلات النسب لأحد المرضى قبل العلاج الكيميائي	60
4-14	العلاقة بين معامل الانقسام الخلوي ومعامل التحسس لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي	71
4-15	العلاقة بين معامل الانقسام الخلوي ومعامل التحسس لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي	71
4-16	العلاقة بين مستويات هرمون الـANP ومستويات البروتين البولي المجهري لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي	72
4-17	العلاقة بين مستويات هرمون الـANP ومستويات البروتين البولي المجهري لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي	72

4-18	العلاقة بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي	73
4-19	العلاقة بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي	73
4-20	العلاقة بين مستويات الفيريتين وقابلية ارتباط الحديد الكلية لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي	74
4-21	العلاقة بين مستويات الفيريتين وقابلية ارتباط الحديد الكلية لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي	74
4-22	العلاقة بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي	75
4-23	العلاقة بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي	75
4-24	العلاقة بين معامل الانقسام الخلوي ومستويات الفيريتين لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي	77
4-25	العلاقة بين معامل التحسس ومستويات البروتين البولي المجهري لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي	77
4-26	العلاقة بين معامل التحسس ومستويات الحديد لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي	78
4-27	العلاقة بين معامل التحسس وعدد الخلايا اللمفاوية لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي	78
4-28	العلاقة بين معامل التحسس وعدد الخلايا العدلة لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي	79
4-29	العلاقة بين معامل التحسس وعدد الخلايا الحمضة لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي	79
4-30	العلاقة بين معامل التحسس وعدد الخلايا القعدة لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي	80
4-31	العلاقة بين معامل الانقسام الخلوي ومستويات الحديد لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي	80

4-32	العلاقة بين معامل الانقسام الخلوي وعدد الخلايا الحمضة لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي	81
4-33	العلاقة بين معامل الانقسام الخلوي ومستويات الحديد لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي	81

المحتـــويات

ت	الموضوع	الصفحة
1	الفصل الاول المقدمة	3-1
	الفصل الثاني	27-4
2	استعراض المراجع	4
1-1-2	عوامل الخطورة للاصابة بسرطان الدم النيقياني الحاد	5
1	التدخين	5
2	التعرض لبعض المواد الكيميائية	5
3	التعرض للاشعة	5
4	بعض اضطرابات الدم	5
5	المتلازمات الولادية	6
6	الجنس	6
7	العمر	6
8	عوامل اخرى	6
9	العوامل الوراثية	7
2-1-2	تصنيف ابيضاض الدم النيقياني الحاد	7
3-1-2	الفسيولوجيا الامراضية	8
4-1-2	التشخيص	9
5-1-2	الاعراض	10
2-2	التحاليل الوراثية الخلوية لأبيضاض الدم النيقياني الحاد	11
1-2-2	البايولوجية الجزيئية لمرض ابيضاض الدم النيقياني الحاد	12
3-2	هرمون الاريثروبايوتين	15

1-3-2	ميكانيكية عمل هرمون الاريثروبايوتين	16
2-3-2	تأثير الاريثروبايوتين في عملية تكوين كريات الدم الحمر	17
4-2	هرمون الـ ANP	18
5-2	الفيريتين	19
6-2	الحديد وعلاقته بابيضاض الدم	21
1-6-2	قابلية ارتباط الحديد الكلية	22
7-2	علاج ابيضاض الدم	22
1-7-2	انواع العلاج	23
2-7-2	المراحل العلاجية	25
3-7-2	انواع التأثيرات الجانبية للعلاج	26
3	الفصل الثالث المواد وطرائق العمل	44-28
3 – 1	الادوات الزجاجية	31
1	تحضير الادوات الزجاجية	31
2	تحضير الشرائح الزجاجية	31
3	المحاليل الكيميائية	31
4	بلازما الدم البشري	31
5	بيكاربونات الصوديوم	31
6	محلول الوسط الزرعي	32
7	محفز النمو	32
8	محلول واطىء التوتر	32
9	محلول الكولجسين	32
10	محلول دارىء الفوسفات الفيسيولوجي	32
11	محلول سورنسن	32
12	محلول التربسين	33
13	المحلول المثبت	33

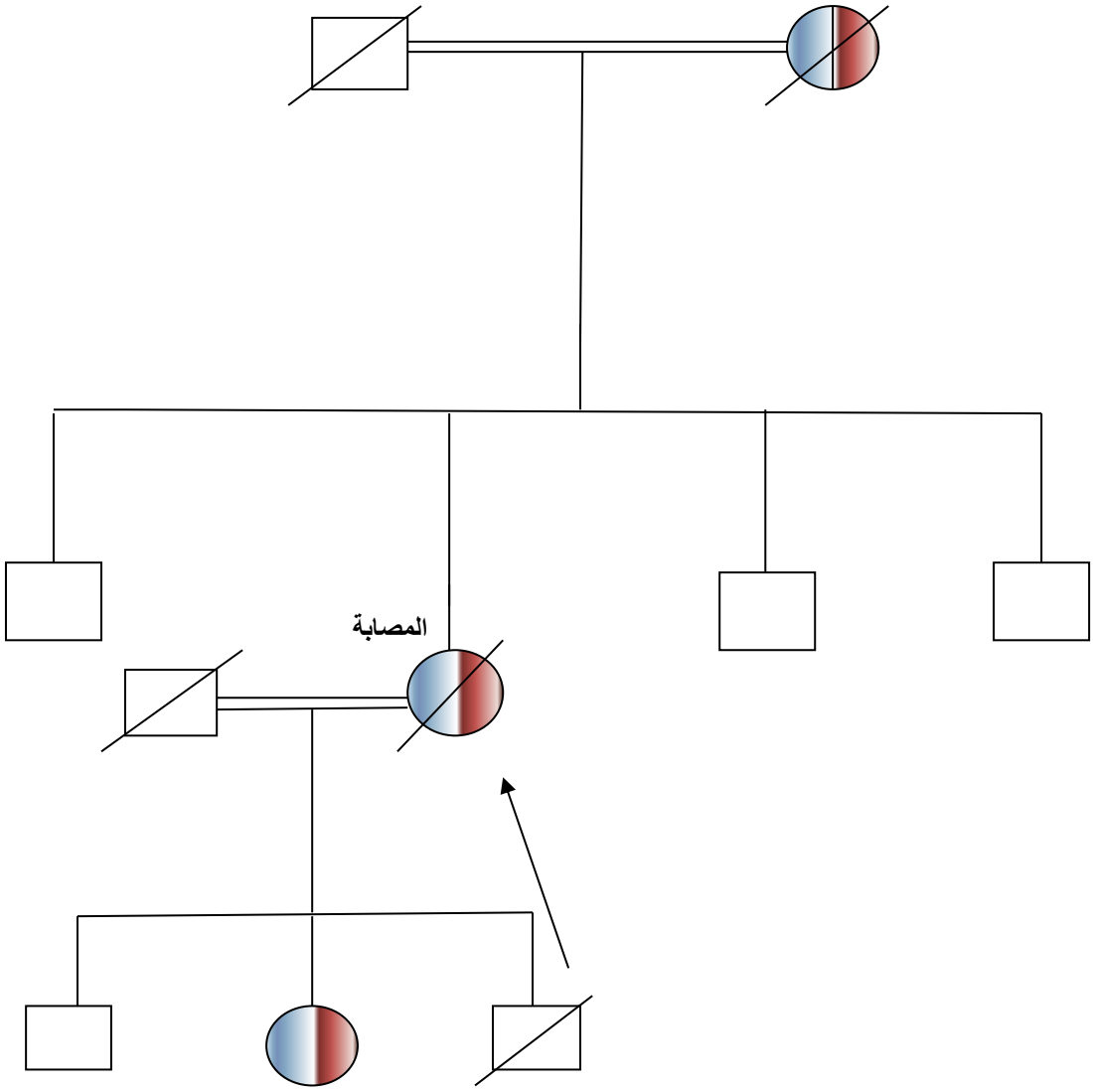
14	محلول صبغة الكمزا	33
15	دارئ TEB	33
2 – 3	طرائق العمل	33
3 – 2 - 2	تحضير كروموسومات الإنسان من الدم المحيطي	35
1-2-2-3	جمع عينات الدم	35
2-2-2-3	زرع الخلايا	35
3-2-2-3	حصاد الخلايا	35
4-2-2-3	التثبيت	36
5-2-2-3	تحضير الشرائح الزجاجية	36
6-2-2-3	التحزيم	36
7-2-2-3	الفحص المجهري	37
1-7-2-2-3	معامل الانقسام	37
2-7-2-2-3	دليل الخلايا الارومية اللمفاوية	37
3 -3	استخلاص الـ DNA	38
4 -3	تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل (PCR)	39
5 -3	ترحيل الـDNA على هلام الاكاروز	39
6 -3	حساب عدد خلايا الدم البيض الكلي	40
7 -3	حساب عدد خلايا الدم البيض التفاضلي	40
8 -3	قياس مستويات هرمون الاريثروبايوتين	41
9 -3	قياس مستويات هرمون الـ ANP	41
10 -3	قياس مستويات البروتين البولي المجهري	42
11-3	قياس مستويات الحديد	42
12-3	قياس قابلية ارتباط الحديد الكلية	43
13-3	قياس مستويات الفيريتين	43
14-3	التحليل الاحصائي	44
4	الفصل الرابع النتائج	81-45

4-1	الدراسة الوراثية	45
4-1-1	التغيرات الكروموسومية	45
4-1-2	معامل الانقسام الخلوي ومعامل الارومة الليفية	47
4-1-3	التشوهات الكروموسومية	50
4-2	الدراسة الجزيئية	56
4-2-1	دراسة الطفرات لجين FLT3	56
4-2-2	دراسة الطفرات لجين MLL	56
4-3	دراسة سجلات النسب	59
4-4	الدراسة الفسيولوجية	61
4-4-1	مستويات هرمون الاريثروبايوتين والـ ANP والبروتين البولي ألمجهري	61
4-4-2	مستويات الحديد ،قابليـــة ارتباط الحديد الكلية ومستـويات الفيـتريتين	64
4-4-3	العدد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض وعدد الصفيحات الدموية	64
4-4-4	العلاقا ت بين بعض المعايير الوراثية والفسيولوجية	70
4-4-5	العلاقات الوراثية الفسيولوجية	76
5	الفصل الخامس المناقشة	96-82
5- 1	معامل الانقسام ومعامل الارومة الليفية	83
5- 2	التشوهات الكروموسومية	85
5- 3	الدراسات الجزيئية	86
5- 4	الدراسات الفسيولوجية	88
5-4-1	مستويات هرمون الاريثروبايوتين والـ ANP والبروتين البولي المجهري	88

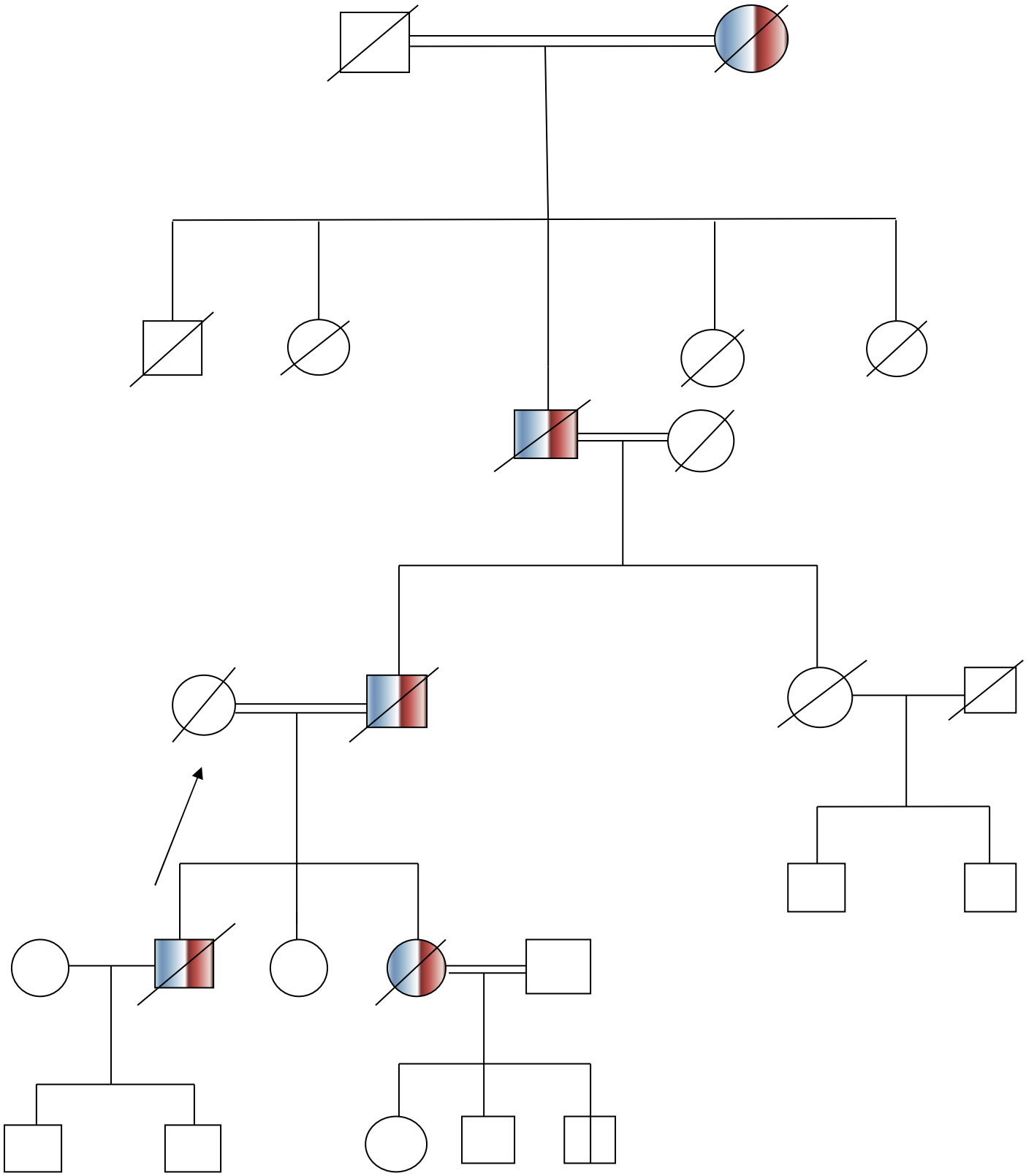
2-4-5	مستويات الحديد ،قابلية ارتباط الحديد الكلية ومستويات الفيرتين	90
3-4-5	العدد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض وعدد الصفيحات الدموية	91
5 -5	العلاقات بين بعض المعايير الوراثية والفسيولوجية	93
6 -5	العلاقات الوراثية الفسيولوجية	95
	الاستنتاجات والتوصيات	
	الاستنتـــــــاجات	97
	التوصيـــــــــات	98
	المصـــــــــادر	122-99

قائمة المختصرات Abbreviation List

الرمز	المصطلح بالانكليزية	المصطلح بالعربية
AML	Acute Myloied Leukemia	ابيضاض الدم النخاعي الحاد
ACS	American Cancer Socitey	جمعية السرطان الامريكية
MI	Mitotic Index	معامل الانقسام الخلوي
BI	Blast Index	معامل الانقسام الخلوي
FAB	French-American-British classification systems	النظام الفرنسي –الامريكي –البريطاني للتصنيف
CA	Chromosomal Abberation	التشوهات الكروموسومية
G-banding	Giemsa – banding	التحزيم بصبغة كمزا



شكل ( ) تحليل سجلات النسب لأحد المريضات بعد العلاج الكيميائي



شكل ( ) تحليل سجلات النسب لأحد المرضى قبل العلاج الكيميائي

شكل (1-3) تصميم التجربة

ملحق رقم (1) الاستمارة الاستبيانية المستخدمة لجمع المعلومات

رقم العينة	العمر	الجنس	المهنة	الموقع الجغرافي (مكان السكن)	طبيعة التزاوج (زواج الاقارب ام لا؟)	مدة الاصابة	مدة اخذ العلاج ونوعه	اصابة احد افراد العائلة بالمرض سابقا	الاصابة بأمراض اخرى

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى دراسة بعض الجوانب الوراثية الخلوية والبيولوجية الجزيئية والفسيولوجية لدى مرضى ابيضاض الدم النقياني الحاد في محافظة كربلاء Acute myeloid leukemia(AML) قبل وبعد العلاج الكيميائي وتضمنت الدراسة ثلاث محاور رئيسة وهي:

1-الدراسة الوراثية الخلوية تضمنت إجراء الاختبارات الوراثية الخلوية ومنها Chromosomal Abberation (CA) وMitotic Index (MI)وBlast Index(BI) إذ أظهرت الدراسة حدوث تغيرات كروموسومية عددية في حالة من الحالات المدروسة قبل العلاج الكيميائي (1)del،(1-) 45,XY والحالة الأخرى بعد العلاج الكيميائي وهي 45 , XY t(9;22) بالإضافة إلى ارتفاع معدلات معامل الانقسام الخلويMI ومعدلات معامل الأرومة الليفية BI لدى المرضى قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية في حين انخفضت معدلات الـMI وارتفعت معدلات BI معنويا بعد العلاج الكيميائي عند مقارنتها مع معدلاتها قبل العلاج . في حين بقيت معدلات BI ،MI مرتفعة مقارنة بالعينة القياسية بعد العلاج الكيميائي كما بينت الدراسة أيضا ظهور تشوهات كروموسومية مختلفة لدى المرضى بعد العلاج الكيميائي ودراسة تحليل سجلات النسب للمرضى التي بينت انه من الممكن ان يكون المرض متوارث ضمن عوائل معينة .

2 –الدراسة البيولوجية الجزيئية استخدم في هذه الدراسة تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتشخيص الجينات الطافرة في المرض وهي جين Fms Like Tyrosine kinase(FLT3) وجينMixed linage leukemia (MLL) لعدد من المرضى قبل وبعد العلاج الكيميائي حيث بينت الدراسة حدوث طفرات لثلاث من المرضى الأول ،حدوث طفرة مع هيأة كروموسومية غير طبيعية بعد العلاج الكيميائي ،الثاني حدوث طفرة مع هيأة كروموسومية طبيعية قبل العلاج الكيميائي والثالث حدوث طفرة مع هيأة كروموسومية غير طبيعية قبل العلاج الكيميائي. في حين حدثت طفرة لجين MLL لنسبة من المرضى، الأول حدوث طفرة مع هيأة كروموسومية طبيعية بعد العلاج الكيميائي؛الثاني والثالث حدوث طفرة مع هيأة كروموسومية طبيعية قبل العلاج الكيميائي؛الرابع حدوث طفرة مع هيأة كروموسومية غير طبيعية قبل العلاج الكيميائي والخامس والسادس حدوث طفرة مع هيأة

كروموسومية طبيعية قبل العلاج الكيميائي وبينت الدراسة إن اثنين من المرضى حدثت لديهم طفرات في كلا الجينين MLL , FLT3 .

3 –**الدراسة الفسيولوجية** تم قياس مستويات هرمون الاريثروبايوتين Erythropoitin والـ Atrial Natriuritic Peptide(ANP) والبروتين البولي المجهـــري Microalbuminuria ،حيث بينت الدراسة حدوث ارتفاع معنوي($p<0.01$) في مستويات المعايير الثلاثة قبل العلاج الكيميائي في الذكور. إما الإناث فكان الارتفاع معنويا ($p<0.05$) قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية، وكان الارتفاع معنوي في مستويات هرمون الاريثروبايوتين والـ ANPوالبروتين البولي ألمجهري Microalbuminuria أكثر بعد العلاج الكيميائي . كما بينت الدراسة ؛انخفاضا معنويا في مستويات الحديد وسعة ارتباط الحديد الكلية حيث ارتفعت مستويات الفيرتين لـدى المرضى قبل العلاج الكيميائي بينما انخفضت معنويا ($p<0.01$)مستويات الحديد وقابلية ارتباط الحديد الكلية ومستويات الفيرتين بعد العلاج الكيميائي .وبينت الدراسة الحالية ارتفاع معنوي($p<0.01$) في معدل العدد الكلي لكريات الدم البيض والعدد التفريقي لخلايا الدم البيض، بينما انخفضت معنويا($p<0.01$) معدلات الصفيحات الدموية قبل العلاج الكيميائي . كما انخفضت معنويا ($p<0.01$) معدلات العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض وشمل معدلات الصفيحات الدموية بشكل اكبر بعد العلاج الكيميائي مقارنة بمعدلاتها قبل العلاج الكيميائي .

بينت الدراسة وجود ارتباط بين بعض المعايير الوراثية والفسيولوجية ومنها العلاقة المعنوية الموجبة ($p<0.05$) بين معامل الانقسام الخلوي ومعامل التحسس الخلوي لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي. وكما ظهرت علاقة معنوية موجبة ($p<0.05$) بين مستويات هرمون الـANP ومستويات البروتين البولي المجهري Microalbuminuria لدى الإناث قبل العلاج. فضلا عن العلاقة المعنوية ($p<0.01$) الموجبة بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين لدى الإناث بعد العلاج الكيميائي . والعلاقة المعنوية($p<0.05$) السالبة بين المتغيريين أعلاه لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي .والعلاقة المعنوية ($p<0.05$) السالبة بين مستويات الفيرتين وسعة ارتباط الحديد الكلية لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي .وبينت الدراسة وجود علاقة ارتباط معنوية بين المعايير الوراثية – الفسيولوجية حيث اظهرت الدراسة علاقة ارتباط معنوية ($p<0.05$) موجبة بين معامل الانقسام الخلوي MI ومستويات الفيرتين لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي . والعلاقة المعنوية ($p<0.05$) السالبة بين معامل التحسس BI ومستويات الحديد لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي . والعلاقة المعنوية ($p<0.05$) الموجبة بين

BI وعدد الخلايا اللمفاوية لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي. والعلاقة المعنوية ($p<0.01$) السالبة بين BIعدد الخلايا العدلة لدى الإناث قبــل العلاج الكيميائي والعلاقة المعنوية ($p<0.05$) الموجبة بين BIوعدد الخلايا الحمضة لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي والعلاقة المعنوية ($p<0.05$) الموجبة بين BIوعدد الخلايا القعدة لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي بالإضافة إلى وجود علاقة ارتباط معنوية ($p<0.05$) موجبة بين معامل الانقسام الخلوي ومستويات الحديد لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي. كما كانت العلاقة معنوية ($p<0.01$) موجبة بين MIوعدد الخلايا الحمضة لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي. والعلاقة المعنوية ($p<0.05$) الموجبة بين MI ومستويات الحديد لدى الإناث بعد العلاج الكيميائي .

المقـــدمـــة

ارتفعت نسبة الوفيات في السنوات الاخيرة للمرضى المصابين بالسرطان ، ويقع هذا المرض ضمن مجموعة من الامراض التي لها قاسم مشترك اساسي وهو فشل السيطرة على انقسام الخلايا وتمايزها . ومن المعروف ان الخلايا تتواصل مع بعضها عن طريق الاشارات الكيميائية التي تطلق من بعض الجينات وتقسم هذه الجينات الى نوعين الجينات الورمية الاولية Proto-oncogenes ومثبطات الورم suppresores tumor وهـذه الـبروتينات يشفـر لـها DNAهـذه الجينات (Frommer *et al* .,2005) .

يختلف سرطان الدم Blood Cancerعن اغلب انواع السرطان الاخرى بكونه لاينتج كتلة او ورم، حيث تتسرطن الخلايا الاولية التي تتطور لتنتج خلايا الدم البيض التي تظهر بأعداد كبيرة في سرطان ابيضاض الدم النيقياني الحاد Acute Mylioed Leukemia (AML) في نقي العظم ويعد هذا النوع من مرض ابيضاض الدم اقل شيوعا من ابيضاض الدم اللمفاوي، وتعد امراض ابيضاض الدم من الامراض المِعقدة والتي ظهرت بأنواع واشكال متعددة ويختلف علاج هذه الحالات المرضية اختلافا كبيرا تبعا لنوع المرض (Aplenc,2004) .

يتحكم النخاع العظمي في انتاج خلايا الدم وفي حالة الاصابة بأبيضاض الدم تخرج عملية انتاج الخلايا عن مسارها الطبيعي ويبدأ النخاع بأنتاج خلايا شاذة من خلايا الدم البيض. حيث تفقد الخلايا الاولية الاليات التي تتحكم في تنسيق نموها ونضجها وموتها المبرمج ،حيث ان هذه الخلايا لا تموت في موعد انتهاء دورتها الحياتية وتنقلب الى خلايا ورمية شاذة ومن ثم تنتشر الى الدورة الدموية والجهاز اللمفاوي. وتتجمع هذه الخلايا في الانسجة اللمفاوية مكونة تضخما سرطانيا وبالتالي تحتشد في النخاع مانعة انتاج خلايا الدم الاخرى وبالتالي يعجزالدم عن القيام بوظائفه المختلفة (Weinstein, 2001).

يعتقد ان هناك العديد من العوامل التي تلعب دورا كبيرا في احداث الاصابة بأبيضاض الدم النيقياني الحاد (Acute Mylioed Leukemia(AML ومن هذه العوامل المهمة : العوامل الوراثية والاشعاعات المؤينة والعوامل الكيميائية (Bozzone,2009) .ويمكن ان تحدث الاصابة بمرض ابيضاض الدم النيقياني الحاد (AML) نتيجة التـعرض لظـروف بيئية مخـتلفة .

بينت الدراسات ان سرطان الدم النيقياني الحاد (AML) يمكن ان يحدث نتيجة طفرات جينية مختلفة ومن اهم هذه الجينـــات التي تعاني هذه الطفرات : جين nuclephosmin1 (NPM1) ، جين Fms-related tyrosiren kinase 3(FLT3) وجين mixed- lineage leukemia (MLL) وغيرها من الجينات . حيث وجد انه 25-35% من نسبة البالغين المصابين بأبيضاض الدم النيقياني الحاد كانت لديهم طفرات في جين (NPM1)، حيث يلعب جين FLT3 دورا مهما في تكاثر وتمايز الخلايا المولدة لكريات الدم الحمر hematopoietic progenitor cell أو إحداث تشوهات كروموسومية و حذف الذراع القصيرة للكروموسوم رقم 9، أو ظهور ثلاثية كروموسوم رقم(8) Trisomy 8 (Dohner,2008) .

ويعتبر سرطان ابيضاض الدم النيقياني الحاد (AML) من الإمراض السرطانية المهددة للحياة والتي تصيب الأطفال والبالغين حيث بلغت نسب الوفيات لعام 2007 في الولايات المتحدة الأمريكية 8990 منها 5020 إصابة ظهرت لدى الرجال , 3970 إصابة ظهرت في النساء وتظهر غالبا مايحدث المرض لدى الأشخاص الذين تبلغ اعمارهم 25 سنة مع امكانية ظهور المرض عند الأطفال والمراهقين بشكل اقل شيوعا بنسبة تبلغ حوالي 20% من مجمل حالات AML (Heilman,2008).

إن نسبة الإصابة بأبيضاض الدم النيقياني الحاد في العراق هي الأكبر بين الدول العربية نتيجة انتشار الملوثات البيئية بسبب الحروب المتواصلة التي شهدها العراق إذ ازدادت نسب الاصابة بهذه الفترة و سجلت وزارة الصحة العراقية في هذه الفترة كما إن عمر المصابين قد يتغـــير من الأطفال إلى البالغين ومن انواع ابيضاض الـــدم الحاد إلى الأنواع الـــمزمنة (وزارة الصحة العراقية ،2004).

ونظرا لقلة الدراسات حول هذا النوع من ابيضاض الدم جاءت هذه الدراسة مكملة في العراق للدراسات السابقة إذ اشتملت هذه الدراسة على عينة من المرضى المصابين بأبيضاض الدم النيقياني الحاد Acute myelogenous leukemia(AML) قبل وبعد العلاج الكيميائي ومقارنتها بعينة من الأصحاء واستخدمت الاستمارة الاستبيانية لجمع البيانات وثم جمع عينات الدم لغرض إجراء الفحوص الوراثية الخلويةِ والاختبارات البيولوجية الجزيئية والاختبارات الفسيولوجية. وهدفت الدراسة إلى:

1- دراسة تحديد المسببات المحتملة لحدوث مرض ابيضاض الدم النيقياني الحاد.

2- دراسة التغيرات الوراثية الخلوية و البيولوجية الجزيئية المصاحبة لمرض AML .

3- دراسة التغيرات الفسيولوجية والهرمونية المصاحبة للمرض.

4- دراسة العلاقة بين بعض المعايير الوراثية والفسيولوجية المصاحبة لمرض AML .

الفصل الثاني

استعراض المراجع Literature review

2 -1 مقدمـــــة

تؤدي كريات الدم البيض دورا مهما واساسيا في مجمل الجهاز المناعي والتي تعمل على حماية الجسم من العدوى والاجسام الغريبة بما في ذلك الخلايا السرطانية. وعند الحديث عن ابيضاض الدم يستخدم مصطلح Blast للتعبير عن كريات الدم البيض الشاذة فالبلاست الطبيعي اي الخلايا الحديثة الولادة تنضج حسب الإلية الطبيعية وتكون نسبتها الطبيعية اقل من 5% من مجموع الخلايا التي ينتجها نقي العظم Bone Marrow ولا تظهرهذه الخلايا عادة بالدورة الدموية. اما البلاست اللوكيمي Leukemic Blast فان الخلايا الحديثة الولادة تبقى صغيرة وغير ناضجة ،غير بالغة ويتوقف نموها عند حد معين وتتزايد زيادة مفرطة بالعدد وبالتالي تشذ عن المسار الطبيعي ويمكن ان تتواجد باعداد كبيرة في الـــدورة الدموية (Misner, 2006).

ان ظهور اعداد هائلة من الخلايا اللوكيمية الشاذة (LB) في النخاع يؤدي الى تكدسها في النخاع وطغيانها على باقي الخلايا الطبيعية التي يتم انتاجها ، اذ تشغل حيزا كبيرا داخل النخاع مما يعيق ويمنع انتاج كريات الدم الحمر و الصفائح الدموية و خلايا الدم البيض الطبيعية. ويؤدي كذلك الى ظهور اعراض مختلفة على المريض والتي تشير بشكل واضح الى ان خلايا الدم الطبيعية لا يتم انتاجها بشكل سوي (Sit,2005) . وتؤدي هذه الزيادة في خلايا اللوكيميا الشاذة الى انتشارها الى الدورة الدموية والجهاز اللمفاوي وقد تنتقل الى اعضاء حيوية اخرى بالجسم مثل العقد اللمفاوية والطحال والكبد والجهاز العصبي المركزي ، لتتغير وتنمو وتتطور هناك مثلما يحدث في النخاع ويمكن ان تبدا انواع اخرى من السرطان بالنمو في هذه الاعضـــاء ومن الممكن ان تنتقل خلايا هذه السرطانات الى نخـاع العظم وبطبيعة الحال لا تعد مثل هذه الخلايا الـورمية المنتقلة للنخاع ضمن انواع الابيضاض الدم. وتجدر الاشارة الى انـــه في حالات نـــادرة ممـــكن ان يظهـــر الـــــــــورم اللوكـــيمي النيقيانيكـــورم صلب يسمـــى Isolated granulocytic Sarcoma او ابيضاض الدمالخضـــراء (chloroma) (Thiede *et al.* , 2006).

1-1-2 :عوامل الخطورة للإصابة بسرطان الدم النيقياني الحاد : Risk factors for acute myeloid leukemia

بحسب تصنيف جمعية (ACS,2010) فأن هناك عوامل تزيد من فرصة الإصابة بـ AML وهي :

1- التدخين Smoking

وهو العامل الوحيد الذي اثبت انه يعتبر عامل خطر للاصابة بـ AML ومن المعروف ان التدخين يرتبط بالاصابة بسرطان الرئة و القصبات و الحنجرة ولكن هناك علاقة غير مباشرةبين ابيضاض الدم النيقيانيالحاد (AML) والتدخين ، اذ يعد التبغ المادة المسببة للسرطان والتي تمتص من قبل الرئة وتنتشر خلال مجرى الدم الى اجزاء عديدة من الجسم .

2-التعرض لبعض المواد الكيميائية Certain chemical exposure

تزداد خطورة الإصابة بـ AML بزيادة التعرض لبعض المواد الكيميائية مثل التعرض لمستويات عالية من البنزين لفترات زمنية طويلة والذي يعتبر عامل خطورة للإصابة بـ AML ،كذلك المرضى المصابين بأنواع أخرى من السرطان والذين يعالجون بأدوية كيمائية مثل ايتوبوسايد Etoposideو سايكلوفوسفومايد Cyclophosphomide و ميلفالان Melphalan .

3-التعرض للأشعة Radiation exposure

ان التعرض لجرعات عالية من الاشعة الناتجة عن القنابل و الانفجارات النووية تزيد من خطر الاصابة بسرطان الدم النخاعيني. وممكن ان تحدث الاصابة نتيجة التعرض لمستويات واطئة من الاشعة مثل العلاج بالاشعة ، الاشعة السينية X –Ray ، فأذا تعرض الجنين للاشعة خلال الاشهر الاولى من التطور من الممكن ان يزيد خطر الاصابة بابيضاض الدم.

4-بعض اضطرابات الدم Some disorders of Blood

تزداد نسبة الاصابة بالمرض لدى المرضى اللذين يعانون من اضطرابات الدم و تشمل اضطراب الخلايا النخاعية المزمن Chronic meyloproliferative disorder مثل نقص الصفيحات الدموية Essential thrombocytopenia و الاصابة بابيضاض الدم النيقياني المزمن Chronic Myelogenous Leukemia (CML) حيث تتطور لدى بعض المرضى الـ AML .

5-المتلازمات الولادية Congential syndrome

لاتظهر اغلب حالات ابيضاض الدمالنخاعية كمرض متوارث ولكن هناك بعض المتلازمات الولادية ترفع من خطر الاصابة بـ AML وتشمل :

أ- **متلازمة داون Down syndrome**

هو مرض وراثي ينتج عن وجود نسخة اضافية من كروموسوم 21 او جزء منه وتتسم الحالة بوجود تغيرات كبيرة في الجسم ،يصاحب المتلازمة ضعف النمو العقلي والبدني بالاضافة الى احتمالية الاصابة بأمراض متعددة ومنها امراض الكلية والغدة الدرقية والامراض السرطانية . (Chandra,2008)

ب- **متلازمة بلوم Bloom syndrome**

هو مرض وراثي يتميز بتأخر النمو والحساسية الزائدة لاشعة الشمس والنقص المناعي والعقم لدى الرجال ويرتبط بالميل الزائد الى تولد السرطان خلال الحياة (Gupta and Bamezai,2010).

ج- **متلازمة بلاك فان – دايموند Blakfan – diamond syndrome**.

تعد هذه التلازمة من الامراض الوراثية التي تظهر لدى الرضع نتيجة حدوث طفرة في عدد من الجينات ومنها جين RPS19 الذي يقع على كروموسوم رقم 19 وجين RPL5 ى الذراع الطويل الذي يقع على الذراع الطويل لكروموسوم رقم1،ويتميز المرض بأنخفاض اعداد خلايا الدم الحمر (Farrar *et al* .,2008)

د- أنيميا فانكوني Fanconi anemia

وهو مرض وراثي يحدث نتيجة حدوث خلل في تجمع البروتينات المسؤولة عن اصلاح الـ DNA ونتيجة لذلك نجد ان مايقارب 20 % من المرضى يصابون بالسرطان لاسيما الـ AML (Andrea and Alan ,2010) .

6-الجنس Sex

تكون الـ AML اكثر شيوعا في الرجال من النساء ولكن ا سباب الانتشار غير معروفة .

7-العمر : Age

تزداد نسبة الاصابة بـ AML بزيادة العمر، ففي الولايات المتحدة يبلغ معدل عمر المرضى المصابين بـ AML هو 68 سنة ، والتغيرات الكروموسومية تظهر بتردد كبير بين الناس الاكبر عمرا.

8-عوامل أخرى :

قد تكون هناك عوامل أخرى ذات صلة ممكنة لكن غير أكيدة للإصابة بابيضاض الدمالنخاعية الحادة وتشمل :

ا- التعرض للحقول الاليكترومغناطيسية مثلا العيش قريبا من خطوط الطاقة .

ب - أماكن العمل التي ممكن ان يتعرض فيها إلى الكازولين gasoline ، الديزل diesel وبعض المواد الكيميائية مثل البنزين .

ج- التعرض لمبيدات الإعشاب أو المبيدات الحشرية .

9-العوامل الوراثية Genetic Factors

بينت الدراسات ان هناك علاقة بين الاصابة بابيضاض الدمالنخاعية الحادة AML و التبدلات الكروموسومية والطفرات في DNA والتي بدورها تسبب امراض تؤدي الى ولادة الاطفال بجهاز مناعي غير طبيعي او عاجز وبالتالي تزيد نسبة الخطورة لنشوء ابيضاض الدمومن المتلازمات التي تزيد من نسبة ابيضاض الدمهي :

- متلازمة لي فراومني Li – Fraumeni syndrome التي تزيد من نسبة الخطر لابيضاض الدم اضافة الى اورام العظام الغرنية واورام الانسجة الرخوة .
- المنغولية او متلازمة داون downs syndrome وتزيد نسبة الخطورة للاصابة بابيضاض الدمبخمسة عشر ضعفا (سواء النخاعية او اللمفاوية) حيث توجد ثلاث نسخ من كروموسوم 21وتسبب هذه الزيادة بالتخلف العقلي .
- متلازمة كلينفلتر Klinefelter syndrome وهي حالة تنتج عن وجود كروموسوم X ممايؤدي الى العقم ويمنع التطور الطبيعي نحو البلوغ وقد تم الربط بين هذه المتلازمة وزيادة نسبة الخطر لنشوء ابيضاض الدم.

2-1 -2 تصنيف ابيضاض الدم االنيقياني الحاد Acute mylioed leukemia classification

صنف المرض تبعا لمنظمة الصحة العالمية WHO (2009) الى :

1-ابيضاض الدم النيقياني الحاد نتيجة التغيرات الوراثية : AML with certain genetic abnormalities وتشمل :

- AML التي تحدث نتيجة حدوث انتقالات بين كروموسوم 8 وكرموسوم 21 .
- AML التي تحدث نتيجة حدوث انتقالات او انقلابات في الكرموسوم 16 .
- AML تحدث نتيجة تغيرات في الكرموسوم 11.
- APL (M3) عادة يحدث انتقال بين الكروموسومين 17و15 .

2-ابيضاض الدم النيقياني الحاد مع AML with multilineage dysplasia وتشمل اكثر من نوع واحد من الخلايا النخاعينية غير الطبيعية.

3-ابيضاض الدم النيقياني الحاد التي تحدث نتيجة العلاج الكيميائي السابق او الاشعاع AML related to previous chemotherapy or radiation

4-ابيضاض الدم النيقياني الحاد والتي لا تقع ضمن المجاميع اعلاه حسب تصنيف المنظمة الفرنسية –الامريكية – البريطانيةFAB وتشمل :

- M0 : ويدرج بهذا التصنيف الحالات التي لايمكن فيها تمييز خلايا ابيضاض الدم النيقياني للتماثل الشديد بينها وبين ابيضاض الدم اللمفاوي ويتم عقب اجراء التحاليل الخلوية .
- M2,M1 : ويشمل هذا التصنيف حالات ابيضاض الدم للخلايا الجنينية بتفرعاتها .
- M3 : وتشمل ابيضاض الدم الخلايا قبل النخاعية وتسمى promyelocytic leukemia
- M4 :ويختص هذا التصنيف بأحد تفرعات ابيضاض الدم ا لاحادي ويعرف بابيضاض الدم النيقياني الاحاديMyelomonocytic leukemia حيث يظهر التسرطن بالخلايا الجينية والاحادية بنفس الوقت .
- M5 : ويختص بابيضاض الدم الاحادي monocytic leukemia
- M6 : يختص هذا التصنيف بابيضاض الدم لكريات الدم الحمر الأولية erythroleukemia النادرة جدا لدى الاطفال.

- M7 : ويختص هذا التصنيف بابيضاض الدم الذي يصيب خلايا ضخمة في نخاع العظم وتسمى megakaryocytic leukemia .
- ابيضاض الدم الذي يصيب الخلايا القاعدية Acute basophilic leukemia.

3-1-2 : الفسيولوجيا الامراضية لمرض ابيضاض الدم النيقياني الحاد

The pathophysiology Of Acute mylioed leukemia

تتضمن توقف نضج خلايا نخاع العظم في مراحل مبكرة من تطورها ولازالت ميكانيكية هذا التوقف تحت الدراسة لكن في اغلب الحالات تتضمن تحفيز الجينات غير الطبيعية من خلال الانتقالات الكرموسومية والتغيرات الوراثية الاخرى.

وعملية تطور هذا التوقف او الكبح ينتج مرحلتين من المرض: **المرحلة الاولى** عملية انتاج خلايا الدم الطبيعية التي تقل بشكل ملحوظ وينتج عنها درجات مختلفة من فقر الدم anemia و قلة الصفيحات الدموية thrombocytopeniaوقلة في اعداد الخلايا العدلة nutropenia ،اما **المرحلة الثانية** فهي الزيادة السريعة في اعداد هذه الخلايا مما يقلل من قدرتها للموت المبرمج مما ينتج عن تجمع هذه الخلايا في نخاع العظم والدم وبعدها الطحال و الكبد (Seiter,2010).

ويظهر لدى اغلب المرضى انخفاض في تعداد مكونات الدم واغلب حالات الاصابة لها علاقة بالتعرض للاشعة ،التدخين و بعض التغيرات الولادية والتعرض للمواد الكيميائية بالاضافة الى ذلك اكتشفت العديد من التغيرات الجزئية عن طريق التحليلات الوراثية الخلوية او عن طريق الصدفة وهناك ادلة على ان هذه التغيرات تكون كافية للاصابة بمرض ابيضاض الدمالنخاعينية الحادة (AML) ومن اكثر الطفرات شيوعا والتي لها ارتباط مع الـ AML وجدت في مستقبلات جين FLT3 (Hoff brand,2005).

4-1-2 :التشخيص : Diagnosis

يتطلب تشخيص ابيضاض الدماجراء تحاليل مختلفة للدم ولخلايا النخاع العظمي ،اذ أن الاعراض المبكرة تشترك مع العديد من الامراض الاخرى ، بما في ذلك فقر الدم الناتج عن اسباب أخرى، وأنواع العدوى المختلفة والتهاب اللوزتين ،وحالات الروماتيزم والتهاب السحايا ،اضافة الى انواع اخرى من السرطان .ومن المهم تحديد أي من مكونات كريات الدم البيض قد تسرطن لتحديد نوع ابيضاض الدم،وفي الغالب يتم تحديد نوع ابيضاض الدممن مظهر خلاياها المجهري ،وقد يتطلب الامر احيانا اجراء تحاليل خاصة على الكروموسومات والكيمياء الـحيوية للخلايا (Frohling *et al*.,2005) .

فالتغيرات في تعداد الخلايا المختلفة ومظهرها المجهري تعد مؤشرا على وجود خلل ما . ومن المعتاد أن تظهر بدم المرضى أعداد كبيرة من الكريات البيضاء مع وجود نقص بتعداد كريات الدم الحمراء والصفائح الدموية ،أضافة الى ان معظم الكريات البيضاء تكون مجرد خلايا اولية (Blast) والتي من المفترض ان تتواجد بالنخاع العظمي وليس بالدورة الدموية ،الا أنه لا يمكن تاكيد وجود ابيضاض الدمدون فحص خلايا النخاع العظمي مجهريا ، وذلك باستخلاص عينة بواسطة عملية سفط نقى العظم ، وفحصها بدقة تحت المجهر ليتسنى الكشف عن وجود الخلايا الورمية ونوعها وخواصها الحيوية (Cammenga *etal*.,2005) .و في بعض الحالات قد يوصى بأخذ خزع من العقد اللمفاوية وأجراء سلسلة من الصور الإشعاعية المختلفة من الاشعة السينية والتصوير الشعاعي المقطعي computed tomography scan(CT scan) والتصـــوير بالــموجات فوق الصوتية لتحديد مدى تأثر اعضاء اخرى بالجسم لاسيما الكبد والطحال والعقد اللمفاوية . (Freircich,2008)

ومن المعتاد اجراء فحوص خلوية خاصة عند حالات ابيضاض الدم والتي تستهدف دراسة التغيرات الحاصلة في الـ DNA للخلايا الورمية والتغيرات والتبادلات في انواع الكروموسومات ومن اهم هذه الفحوص هي التحاليل الوراثية الخلوية Cytogenetics assay التي تهدف الى تحديد التغيرات في الكروموسومات ومن اهم هذه التغيرات هي حدوث الانتقالات Translocation بين الكروموسومات المختلفة (Konopleva,2005) .

2 -1-5 الاعراض : Symptomes

قد تظهر الاعراض المبكرة بشكل يشبه اعراض نزلة البرد فتظهرنوبات من الحمى والشعور بالالام في المفاصل والعظام اضافة الى التعب والارهاق الشديدين وفقدان الشهية وانخفاض الوزن ويبدو لون البشرة شاحبا ومصفرا نتيجة فقر الدم ونقص كريات الدم الحمر بالاضــافة الى ســهولة النزف اوالتضــخم بالعقــد اللمفـــاوية((Daly ,2008).

ومـــن اهـم الاعـــراض المعتادة لابيضاض الدم حسب Estey and Dohner (2008) :

1- العدوى Infection

من المعتاد ان يعاني مريض ابيضاض الدم (AML) من العدوى وذلك نتيجة عجز خلايا الدم البيض للقيام بأداء وظائفها الطبيعية لاسيما الخلايا الحبيبية ولهذا يعاني المريض من الحمى والانهاك الجسدي. وعلى الرغم من التعداد المرتفع لخلايا الدم البيض الا انها لا تكافح العدوى .

2- سهولة النزف او التكدم Bleeding or bruising

قد تظهر لدى المريض بقع حمراء صغيرة تحت الجلد ناجمة من نزف الشعيرات الدموية اوقد تظهر كدمات غير مبررة وبلون ازرق غامق او اسود ويصاحبها نزف في اللثة مع سهولة النزف بأي موضع اخر في الجسم ويحدث النزف نتيجة الانخفاض الكبير في عدد الصفائح الدموية في الدم.

3- الاعياء وشحوب البشرة Fatigue and paliaing

يعاني المريض من قصر النفس والشعور بالتعب والاعياء ويبدو لون البشرة والشفتين شاحبا وذلك عائد الى نقص في عدد كريات الدم الحمر ونشوء فقر الدم .

4-الالام العظام Bone pain

وتعاني نسبة قليلة من المرضى من الالام العظام والمفاصل وينجم ذلك عن احتشاد خلايا ابيضاض الدمتحت سطح العظام او داخل المفاصل .

5-تضخم الكبد والطحال liver and Spleen Swollen

يتسبب ابيضاض الدم بتضخم الطحال والكبد عند بعض الحالات وقد يبدو هذا التضخم شبيها بأمتلاء المعدة.

6-تضخم العقد اللمفاوية lymph nodes Swollen

يمكن لخلايا الشاذة الانتقال الى العقد اللمفاوية مما يتسبب بتضخمها وقد يبدو هذا التضخم واضحا للعيان عند اصابة الغدد القريبة من سطح الجسم مثل تحت الابطين ،قرب الترقوة ويتم تمييز هذا التضخم عن طريق التصوير المقطعي او الرنين المغناطيسي .

7-تضخم الغدة الزعترية Thymus gland swollen

ويعد من الاعراض الخطيرة بصفة خاصة اذ انه اضافة الى ضغط الغدة المتضخمة على القصبة الهوائية مما يؤدي الى ضيق التنفس والسعال واحيانا قد يؤدي الى الاختناق ويؤدي ضغط الغدةالصعترية المتورمة على الوريد الاجوف العلوي (الذي يحمل الدم من الرأس والذراعين الى القلب) الى نشوء متلازمة الوريد الاجوف العلوي (SVC) superior vena cava.

8 - الصداع والنوبات الصرعية والتقيؤ Headache and vomiting

يمكن لخلايا ابيضاض الدمان تنتقل خارج النخاع العظمي فيما يعرف بالانتشار خارج لب العظام extramedullary spread ويمكنها ان تنتقل الى الجهاز العصبي المركزي اي الدماغ والحبل الشوكي ولوحظ عند حوالي 10-12 % من حالات ابيضاض الدمالنخاعينية يظهر الانتقال الى الجهاز العصبي ومن المؤثرات على هذا الانتقال الصداع ،الانهاك البدني ،التقيؤ ، صعوبة حفظ التوازن الحركي وتشوش الرؤية والخمول .

9-الطفح الجلدي

يعتبر من الإعراض النادرة التي تظهر لدى مرضى ابيضاض الدمالنخاعية الحادة حيث يؤدي الى ظهور بقع صغيرة غامقة اللون على البشرة تشبه الطفح الجلدي وتنتج عن انتقال الخلايا الورمية إلى الجلد .

2-2 التحاليل الوراثية الخلوية لابيضاض الدم النيقياني الحاد Cytogenetic analysis for AML

أوضحت الدراسات الخلوية لابيضاض الدم النخاعية الحادة AML طبيعة هذا المرض من عدة نواحي ومنها التغيرات النسجية المرضية Histopathology والطرزالمناعية Immunophenotypic والتغيرات السريرية Clinical changes ،وقد شخصت العديد من التغيرات الكروموسومية والتي لها علاقة بظهور المرض ومنها ثلاثية كروموسوم 8 trisomy والانتقالات الكروموسومية (q22;q22)t(8,21)والانقلابات الكروموسومية inv(16) (p13;q22) , و غيرها التي أدت إلى حدوث هذه التغيرات (Michaud *et al.*,2005).

ان أكثر التغيرات علاقة بالـ AML هي الانتقالات الكروموسومية Translocations والانقلابات inversions والتي لهـــا دور في حدوث المـــرض وبالتالي سهلـت عملية التشخيص، بالإضافة إلى ذلك فأن التغيرات الكروموسومية المكتسبة شُخصت على المستوى الجزيئي وعادة تجرى التحاليل الوراثية الخلوية على عينة من نخاع العظم او الدم (وهي الاغلب) اذ تظهر تغيرات تركيبية أو توجد نسخة إضافية من نفس الكـــرموسوم أو فقـــدان الكـــرموسوم فحـــددت هذه التغـــيرات الكـــروموسومية الـــتركيبية والعددية في 54 % إلى 78 % من المرضى(Mrozek *et al.* , 2006) .

ان أكثر التغيرات شيوعا هي الانقلاب في كروموسوم (16) inv ،الانتقال بين كروموسوم 19و11 (19, 11)t والانتقال بين كروموسوم 15و17 (15,17) t. وهناك نسبة من المرضى تظهر لديهم الخارطة الكرموسومية بشكل طبيعي لكنه من الممكن ان تكون قد حدثت لديهم تغيرات في جينات معينة مثل PML – RAR التي تحدث بوساطة انتقال بين كروموسوم 15و17 t(15;17) أو CBFB ، MYH11 الناتج عن inv (16). في بعض الحالات نجد ان التغيرات الجينية قد يحدث نتيجة اعادة الترتيب المخفي والتي تتضمن حذف قطعة صغيرة من حزمة كروموسومية معينة والتي قد تكون غير مميزة بالتحاليل الوراثية الخلوية القياسية مثل بعض الانغراسات insertion المخفية لقطعة صغيرة جدا من الذراع القصيرة للكروموسوم 17(17,q)والتي تكون حاوية على جين RAR الى موقع جين الـ PML على الذراع الطويلة للكرموسوم15(15,P). (Harrison,2009) .

1-2-2 البايولوجية الجزيئية لمرض ابيضاض الدم النيقياني الحاد Molecular basis of AML

هناك اعتقاد واسع الانتشار يدعم الرأي القائل ان تطور الـ AML يحتاج على الأقل الى طفرتين من الجينات الجسمية ، الطفرة الاولى تتداخل مع معدل الانقسام الخلوي او بقاء الخلية وتسمى الطفرة من الصنف الاول Class I mutation وغالبا ما تحفز التايروسين كاينيز tyrosine kinase ،اما الطفرة الثانية فأنها تؤثر على الانقسام الطبيعي للخلايا وتسمى الطفرة من الصنف الثاني Class II mutation لتنظم عمل العامل المساعد transcriptiaonal co-activator ،كذلك حددت الطفرات النقطية point mutations والتي تعتبر من احد أهم العوامل في حدوث الـ AML (Mrozek *et al*.,2007).

تكون الطفرة الوحيدة غير كافية لاحداث الاصابة بابيضاض الدم النيقياني الحاد (AML) مثل الطفرة في جينات RUNX –RUNX1T1وCBFB-MyH11 والتي تنتج من الانتقال بين الكرموسوم 8والكروموسوم 21 t(8,21) وانقلاب الكروموسوم (16 inv) التي تعمل على التأثير في تمايز الخلايا النخاعينية ولكنها لا تنتج ابيضاض الدم بطرازها المظهري المعروف (Kelly and Gilliland,2002). أما النوع الثاني من الطفرات فتحدث خلال التطور الجيني (الخط الجرثومي) للجينات RUNX1, CEBPA والتي تعمل على تطور ابيضاض الدمالنخاعينية الحادة وهناك العديد من الجينات التي تؤدي حدوث الطفرات فيها الى الاصابة بـ AML ومن أهمها :

1- nucleophosmin gene NPM1

ويسمى ايضا nucleolar phosphoprotein B23 اونumatrin وهو عبارة عن بروتين في الانسان يشفر بواسطة جين npm1 ،وهو يرتبط مع بروتينات رايبوزية نووية nucleolar ribonucleo protein في التركيب ويرتبط بشريط مفرز من الحامض النووي ويعتقد ان له دور بارز في نقل الرايبوسومات ويقع هذا الجين في النوية (Lindstrom,2011). و من الممكن ان ينتقل هذا الجين الى البلازم النووي nucleoplasm في حالة المعالجة بالأدوية المضادة للسرطان وفي هذه الحالة تحدث فسفرة للبروتين ، وحسب منظمة الصحة العالمية ان فأن لهذا الجين دورا في التسبب في 30% من حـــالات الإصابة بابيضاض الدم وتــكون لهذا الــجيـــن وظــائف وهــي كـــالتالي حسب (Falini *et al*. ,2007) :

- الحفاظ على الهستونات .

- البناء الحيوي والنقل للرايبوسومات .
- ثبات المحتوى الجيني وإصلاح الـ DNA .
- فعالية انزيمات Endoribonucleas .
- تضاعف المريكز خلال دورة الخلية .
- فعاليته في عدم ثبات حلزون الـ RNA .
- تثبيط انزيم DNase المحلل للقلنسوة في الـ DNA .
- منع الموت المبرمج للخلية.

ان التغيرات الكرموسومية والتي لها علاقة مع جين NPM1 توجد عادة في المرضى الذين يعانون من مرض Non-Hodgkin ،ابيضاض الدم النيقياني الحادة Acute myelogenous leukemia وابيضاض الدم قبل النيقيانيالحاد وغيرها (Chen *et al*.,2006). ولهذا الجين دور في إحداث الإصابة بالأورام عندما يعاني من التطفير وعدم تنظيم والانتقالات الكروموسومية في أنواع متعددة من الأورام. وكما ذكر سابقا فأن جين NPM1 ينتقل من النوية إلى البلازم النووي والسايتوبلازم نتيجة استخدام الأدوية المضادة للسرطان ،ومن الممكن إن يحفز نمو الورم من خلال تحفيز محفزات الورم P53/ARF (Gjerset,2007).

عندما يكون التعبير الجيني لهذا الجين بمستويات واطئة فأنه من الممكن ان يحفز نمو محفزات الورم عن طريق تثبيط تضاعف المريكز . ان الشكل السايتوبلازمي للجين(NPM1c) يمكن ان ينتقل إلى السايتوبلازم وممكن ان يكون علامة للإصابة بابيضاض الدم النيقياني

الحادAML ، مع امكانية أن يتـداخل عمــل هـــذا الجين مـع جينـــات أخـــــرى ومـــنها BARD1, BRCA1 وغيـــرهـــا مـــن الجينــــات (Sato *et al*., 2005) .

ويمكن أن تشترك الطفرات في جين NPM1 مع طفرات جينية اخرى في احداث ابيضاض الدم وبينت الدراسات ان 40% من المرضى الذين لديهم طفرات في جين NPM1 يحملون ايضا ترادفات متضاعفة داخلية لجين FLT3 (FLT3-ITD) ،ويمكن اعتبار الطراز الــجيني mutant NPM1without FLT3-ITD عند الذين يحملون هذا الطراز الجيني من العلامــات التشخيـصية ألاولــــيـــة المبكرة لهذا المرض (Dohner,2007) .

2- جين fms-related tyrosine kinase 3 FLT3 gene

يعد من الجينات التي تؤدي دورا مهما في تمايز وانقسام الـخلايا المولدة لخـلايا الـدم ويصـــنف فـــــي الرتبـــة الثـــالثة مــن ضمن مستقبـــــلات tyrosine kinase (Schlenk *et al*.,2008) . تعد طفرات جين FLT3 من الطفرات ذات الصلة الوثيقة بالمرض فمن خلالها يتم التكهن بتأثير العلاج الجيني الملائم . ولذلك نجد ان العديد من المثبطات التي تستخدم ضد FLT3 ومنها Midostourin lestaurtinib وغيرها لازالت تحت التجــــربة ومـن خلال الدراسات أثبتــت إن استعمــــال واحــد من هـــذه المـثبطات يعمـــل علـى تحديد فعالية الـ AML التـــــي تــــكون حـــــاوية عــــلى جيــن FLT طــــافر (Summers *et al*. ,2007) .

3- جين mixed – lineage leukemia MLL gene

يشفر هذا الجين للبروتينات الرابطة لـ DNA والتي تنظم التعبير الجيني لعملية تكوين كريات الدم الحمر من خلال عدد من الميكانيكيات ، اذ شُخص مايعرف بالتضاعفات الترادفية الجزيئية في 5-11% من المرضى الذين لاتكون لديهم اي تغيرات وراثية وعلى المستوى الجزيئي الـ MLL-PTDs تكون حاوية على الاغلب على هذه التضاعفات في اكسون 5 (Axon 5) وادخال القطعة المتضاعفة في انترون 4 لهذا الجين ، اما الطراز البري من الجين يتداخل مع موت الخلية وبالذات الـ blasts (Mrozek *et al*. ,2007) .

بالاضافة الى الجينات المذكوره اعلاه هناك جينات اخرى منها RAS والذي يكون له دور في تنظيم ميكانيكيات الانقسام ،الموت المبرمج Apoptosis للخلية والتمايز ،كذلك يُعد جين WT1 الذي يشفر للعامل الذي له دور في الموت المبرمج والانقسام والتمايز للخلايا المولدة لخلايا الدم .

توجد هذه الطفرات في حوالي 10% من المرضى الذين ليس لديهم اي تغيرات كروموسومية. لذا يعتبر اكتشاف هذه الجينات من الاكتشافات المهمة التي حدثت خلال السنوات الأخيرة والتي ساعدت على فهم الامراضية الجزيئية وفهم تصنيفات الـ AML ،بالإضافة الى ذلك فأن الطفرات في جينات مثل CEBPA NPM1 , FLT3, وقد ساعدت في توفير معلومات تشخيصية اولية للمرض وان التحاليل الجزيئية من اول الاجراءات التي تستخدم لتحليل جينات المريض (Ebert *et al*. ,2008) .

3-2 هرمـــون الاريثروبيـــوتين Erythropoietin

هرمون الاريثروبيوتين Erethropoietin او يسمى erythropoetin ، erythropoytin او EPO يسيطر على انتاج جيسمات الدم الحمر erythropoiesi حيث يكون نخاع العظم الاحمر مصدرا لها ،وينتج من الخلايا الطلائية الشعيرية حول الفصية Peritubular capillary endothelial cells الموجودة في الكلية والكبد وهو بروتين سكري glycoprotine ذا وزن جزيئي 30.4KD يتألف من العديد من الاحماض الامينية والكاربوهيدرات وتسمح الكاربوهيدرات بثبات شكل الاريثروبيوتينفي الخلية الحية (De santo,2005) ينتج هذا الهرمون في الكلية بشكل رئيسي عند البالغين وبكميات قليلة في الكبد في الاجنة ، ينتج الـ EPO بكمية قليلة من الكبد و يعتمد معدل بناء وافراز الـ EPO على تراكيز الاوكسجين الموجودة ،اذ ان نقص الاوكسجين يعتبر المحفز الرئيس لانتاج هرمون الاريثروبيوتين.(Percy,2008).

للاريثروبايوتين دور مهم في الحفاظ على مستويات انتاج جسيمات الدم الحمر من قبل نخاع العظم ،بغياب هرمون الاريثروبيوتينتتوقف عملية انتاج جسيمات الدم الحمر والخلايا الموجودة في نخاع العظم تتوقف عن انتاج كريات الدم الحمر RBCs لتدخل في عملية منظمة وهي الموت المبرمج للخلية apoptosis (Harroon *et al*. , 2003) .

3-2 -1 ميكانيكية عمل هرمون الاريثروبيوتين:- Mechanism work of erythropoietin

ينتج الاريثروبيوتين ويحرر من جزء واحد من الجسم بشكل منظم حيث ينتقل إلى أجزاء أخرى من الجسم لبدء التنظيم خلال فترة قصيرة ، وتعتمد فعالية الاريثروبيوتين اساسا على وجود عدد من المستقبلات والتي تكون سائدة بشكل كبير على سطح جسيمات الدم الحمر RBCs المتطورة في نخاع العظم (Miyake,2006) .

يعمل هرمون الاريثروبيوتين على ارسال الاشارات التي تمنع الموت المبرمج وهي تمثل عامل حيوي للخلايا المتطورة ،اذ تزداد اعداد جسيمات الدم الحمر نتيجة تحفيز نخاع العظم من قبل الـ EPO ومن خلال التغذية الراجعة وزيادة اعداد الكريات تزيد عادة من مستويات الاوكسجين ونتيجة لذلك تؤدي الى قلة مستويات انتاج هرمون الاريثروبيوتين والذي لا يحتاج ان تكون مستوياته عالية عندما يكون هناك عدد كافي من خلايا الدم الحمر RBCs على مستويات كافية من الاوكسجين في الدم (Lin *et al*. ,2006).

كما إن هرمون الاريثروبيوتين له تأثير أولي على جسيمات الدم الحمر عن طريق تشجيع هذه الجسيمات للبقاء حية من خلال حمايتها من الموت المبرمج بالتعاون مع انواع متعددة من عوامل النمو والتي يكون لها دور في تطور مولدات جيسمات الدم الحمر ولاسيما colony forming unit –erythriod (CFU-E) والذي يعتمد كليا على الاريثروبيوتين وكذلك العامل burst forming unit –erythriod (BFU-E) هو ايضا يستجيب للاريثروبايوتين ، خلال الظروف السامة او غير الطبيعية وتقوم الكلية بأنتاج وافراز الاريثروبيوتين لزيادة انتاج خلايا الدم الحمر بواسطة العامل CFU-E . من خلال الدراسات لوحظ ان الاريثروبيوتين يزيد من امتصاص الحديد من خلال تحفيز هرمون الهيبسدين hepcidin (Ashby , 2010) .

ان اول خلية يمكن تميزها او تشخيصها والتي تعود الى سلسلة انتاج خلايا الدم الحمر هي أرومة الخلايا الحمراء الاولية proerythroblast ومن خلايا التحفيز تنتج اعداد كبيرة من هذه الخلايا من خلال عامل CFU-E المنتج من الخلايا الجذعية stem cells،وهذه الخلايا تنقسم بدورها عدة مرات وتنتج اعداد من جسيمات الدم الحمراء الناضجة الجيل الاول من هذه الخلايا يسمى basophil erythroblasts لانها تصطبغ بصبغات قاعدية ،في هذا الوقت هذه الخلايا تجمع عدد قليل من الهيموغلوبين ومع تقدم المراحل تملأ هذه الخلايا بالهيموغلوبين hemoglobin وفي هذه المرحلة تمتص قسم من بقايا الخلايا الشبكة الاندوبلازمية وتسمى الخلايا في هذه المرحلة الخلايا الشبكية reticulocyte لانها ما زالت تحوي كمية قليلة من المادة القاعدية وتتألف من بقايا جهاز كولجي ،المايتوكوندريا وبعض العضيات السايتوبلازمية الاخرى وخلال مرحلة الخلايا الشبكية تعبر هذه الخلايا من نخاع العظم الى الشعيرات الدموية بعملية تسمى diapedesis وهي عملية مرور الخلايا خلال ثقوب الشعيرات الدموية وبقايا المادة القاعدية في الخلايا الشبكية تختفي خلال يوم واحد او يومان وبعدها تصبح خلية دم حمراء ناضجة mature erythrocyte(Guyton and Hall ;2006) .

2-3-2 تأثير الاريثروبيوتين في عملية تكوين جسيمات الدم الحمر : Effect of Erythropoietin in Erythrogenesis

بينت الدراسات ان للاريثروبايوتين تأثير مهم في تحفيز انتاج ارومة الخلايا الحمراء الاوليةproerythroblasts من الخلايا الجذعية stem cells في نخاع العظم ،حيث يعمل هذا الهرمون على مرور هذه الخلايا من مرحلة الى مرحلة اخرى بسرعة كبيرة ،وان انتاج الخلايا يستمر طالما بقي الشخص بحاجة اليها لاسيما عند انخفاض الاوكسجين لحين انتاج كميات كافية من خلايا الدم الحمر لتحمل كميات كافية من الاوكسجين الى الانسجة ،في الوقت نفسه يقل انتاج هرمون الاريثروبيوتين الى المستوى الذي يحافظ به على اعداد خلايا الدم الحمر المطلوبة دون زيادتها عند الحد الطبيعي . تنتج الكلية في الشخص الاعتيادي حوالي 90 % من الاريثروبيوتين اما الباقي ينتج خلايا في الكبد ،وعند ما يصاب الشخص بفقر الدم يصبح الدم غير قادر على ايصال الاوكسجين بشكل كافي من الكلية الى بقية الانسجة لذلك يحفز انتاج الاريثروبيوتين.(Fisher ,2003)

عند حدوث الاصابة بابيضاض الدمالحادة النخاعينية (AML) تظهر الخلايا السرطانية Malignant cells وتتمايز في اي مرحلة من مراحل انقسام خلايا الدم والتي تسبب حالات مزمنة او حادة من ابيضاض الدم وغالبا ما تظهر عادة خلال انقسام خلايا الدم الحمر والتي ممكن ان تتحول الى خلايا لوكيمية leukemias وهذه الخلايا تتجمع وتسد نخاع العظم وبالتالي تؤدي الى زيادة افراز هرمون الاريثروبيوتينلايصال اعداد الخلايا الى المستوى الطبيعي .

2- 4 هرمون الـ ANP : Atrial natriuretic peptide

يسمى هرمون (ANP) Atrial natriureticpeptide ، Atrial natriuretic factor(ANF) او يسمى atriopeptin ، Atrial natriuretic hormone (ANH) ، يتألف الشكل الفعال لـANP في الانسان من 28 حامض اميني مرتبطة مع حلقة من 17 حامض اميني مغلقة بواسطة اصرة ثنائية الكبريت بين جزيئتين من حامض السيستين Cysteine ويختلف هذا التسلسل باختلاف الانواع ، يفرز هذا الهرمون الذي هو عبارة عن بروتين متعدد من الخلايا العضلية القلبية والذي يعتبر موسع قوي (Widmaier *et al*. ,2008) . يسيطر هذا الهرمون على توازن الماء ، الصوديوم و البوتاسيوم والدهون (الانسجة الدهنية) وهو يحرر من الخلايا العضلية القلبية من الردهة العليا للشريان استجابة الى ضغط الدم العالي وANP يعمل على اختزال الماء ، الصوديوم والدهون ولذلك يختزل ضغط الدم (Potter *et al*. ,2009).

إنتاجه : production

ينتج هرمون الـ ANP ، يخزن ويطلق بوساطة العضلات القلبية للشرايين وهو يفرز استجابة لشد الشريان والعديد من الاشارات التي تنتج من hypervolemia ،التمارين او التقطع القلبي Cardie restrection (Kong *et al.* ,2007).

يؤثر الهرمون من خلال الارتباط مع مستقبلات خاصة تعرف بـ ANP receptors وعند ارتباطه معها تعمل على اختزال حجم الدم ولذلك يقل النتاج القلبي وبالتالي تنظيم ضغط الدم، وتزداد عملية تحليل الدهون Lipolysis وتقل اعادة امتصـاص الصوديوم من الكلية، كما يؤثـر الـ ANP على الجسـم من خلال التأثيـر علـى ضغط الدم وهذه الزيادة تحدث بواسطة نظام الرنين – انجيونيسين- الالـديستيرون renin- angiotensin -aldosterone system والتأثير على مواقع التنظيم في الدماغ حيث يحافظ هذا النظام على توازن الماء في الجسم (Lemley *et al* ,2005) .ويقوم هرمون الـ ANP بالوظائف التالية :

*زيادة الضغط في الشعيرات الكلوية اذ يعمل على زيادة معدل الترشيح الكيبي glomerular filtration rate (GFR)والذي ينتج عنه زيادة كبيرة في اخراج الصوديوم والماء.

*يسبب توسيع الاوعية الدموية .

*تثبيط افراز الرنين ولذلك يعمل على تثبيط نظام renin – angiotensin .

*تحفيز عمل الرنين والالديستيرون .

* تثبيط نمو العضلات الملساء الوعائية .

*يعمل على زيادة انتاج الاحماض الدهنية الحرة Free fatty acids من الانسجة الدهنية وتزداد تراكيز الكسيرول والاحماض الدهنية .

بينت عدد من الدراسات ان ارتفاع مستويات هرمون الـ ANP تستخدم كعلامة مهمة للعديد من الإمراض ومنها الإمراض التي لها علاقة بالقلب ،تحديد الفشل القلبي الأولي Acute myocardial infraction ،تشخيص الفشل الكلوي المزمن Chronic renal failure (CRF) وتشخيص إمراض الكبد (Shiota,2005). كما ترتفع مستويات الـ ANP في البلازما ويدل هذا الارتفاع على حدوث خلل في معدل ترشيح كبيبات الكليتين نتيجة الإصابة ببعض الإمراض لاسيما ابيضاض الدم

الحاد acute myeloid leukemia (AML) بالإضافة إلى تأثيرات بعض العقاقير المستخدمة في العلاج الكيميائي لابيضاض الدم على الكليتين والقلب (Meyer *et al*. ,2006) .

5-2 الفيرتين : Ferritin

هو بروتين خارج خلوي يخزن الحديد ويحرره وهو يفرز و ينتج بوساطة اغلب الكائنات الحية والتي تشمل البكتريا ،الطحالب والنباتات الراقية والحيوانات وفي الانسان و يعمل كدارئ ضد نقص الحديد وزيادة الحديد (Theil *etal*. ,2006).

يعتبر الفيريتين من البروتينات الكروية المعقدة و تتألف من 24 وحدة ثانوية بروتينية ويعتبر الخازن خارج خلوي للحديد في كلا الكائنات بدائية النواة وحقيقة النواة والذي يحفظ الحديد بشكل ذائب و غير سام ويعبر عن ارتباط الحديد مع الفيرتين بـ apoferritin (Zoysa and Lee ,2007). يستخدم قياس مستويات الفيرتين لدى المرضى للتأكد من وجود بعض الإمراض ، فإذا كانت مستويات الفيرتين واطئة فهذا يدل على وجود نقص في الحديد او نقص فيتامين جـ (Vit c)آو غيرها وعلى العكس فأذا كانت مستويات الفيرتين عالية فهذا دلالة على وجود اضطرابات دموية أو الاصابة بأنواع مختلفة من السرطان ومنها ابيضاض الدموبالذات(Acute mylioed leukemia (AML) (Kasyutich *etal*. ,2010).

ويقوم الفيريتين بالوظائف التالية :

ا-خزن الحديد : Iron storage

يعمل على خزن بشكل غير سام عن طريق ترسيبه بشكل امن ونقله الى المناطق التي تحتاجه وتختلف طريقة تعبير بروتين الفيرتين باختلاف انواع الخلايا و يخضع لسيطرة كمية منmRNA المترجم ومدى ثباته (Jackson *et al*.,2007) .ان وجود الحديد بشكل حر يكون سام للخلية لذلك تعمل الخلية على ربطه بميكانيكية معينة على شكل بروتين معقد هو الفيرتين ferritin او بشكل hemosiderin ،اما الحديد في الفيرتين او الهيموسيدرين فسيستخلص ويتحرر بواسطة خلايا RE في الظروف الطبيعية و تكون مستويات الفيرتين في المصل مرتبطة مع كميات الحديد المخزونة في الجسم .

ب-الاستجابة المناعية : Immune response

تزداد مستويات الفيرتين عادة بوجود عدوى معينة او عن الإصابة بأحد أنواع السرطان ، وهذا من الاليات الضرورية لمحاولة ربط الحديد مع نسيج المضيف (Ong *et al*.,2005).

ج-الفيريتين والمايتوكوندريا : Ferritin and Mitochondria

يلعب الفيرتين الموجود في المايتوكوندريا دورا مهما في العديد من الوظائف الجزيئية فهو يشارك في فعالية انزيم الفيرواكسديز ferroxidase activity ، ربط ايون الحديد ، وفعالية انزيمات الاكسدة والاختزال oxidoreductase وربط المعدن الناقل transition metal bindingويساهم في نـــقل ايون الحديد من خلال الاغشية الخلوية والحفاظ على توازن ايون الحديد الخلوي (Uchida *et al*. ,2006)

2-6 الحديد وعلاقته بابيضاض الدم Iron and relatioship with leukemia

يحتوي جسم الانسان البالغ على 5 غرام من الحديد يتركز 60 % منها في الدم (كريات الدم الحمراء) وفي الكبد والكلى ونخاع العظم . ويقوم الحديد بنقل الاوكسجين في الدم ويعتبر الاساس في تزويد الجسم بالطاقة الضرورية لأدامة الحياة (Yamanishi *et al*. ,2005)

وأوضح Fairbanks وجماعته (2007) إن الحديد يقوم بالوظائف التالية :

- يدخل في تركيب الهيموغلوبين hemoglobin الذي يكون كريات الدم الحمر والتي تقوم بنقل الاوكسجين من الرئتين الى خلايا الجسم لاتمام عملية الاكسدة.

- يدخل في تركيب الإنزيمات المسؤولة عن أكسدة المواد الكربوهيدراتية والدهنية والبروتينية .

- يدخل في تركيب الـ Myoglobin المسؤول عن تخزين الاوكسجين لأستخدامه في انقباض العضلات.و يجب الحفاظ على المستويات الطبيعية للحديد ، إذ إن زيادة كمية الحديد عن المستوى الطبيعي يؤدي إلى التسمم وممكن ان يؤدي الى الموت ومن أكثر الحالات الشائعة هي نقص الحديد Iron deficiency و فسرHuebers وجماعته (2005) ان اسباب نقص الحديد هي :

-الأخذ غير الكافي للحديد Inadequate dietary intake

يشمل الحديد نوعين رئيسين هما حديد الهيم haem iron الموجود في الاغذية الحيوانية nonوالحديد غير الهيمي haem Iron– الموجود في الاغذية النباتية حيث يمتص الجسم الحديد بشكل heam iron بسهولة اكثر من non-haem iron .

-فقدان الدم Blood loss

يحدث فقدان الدم نتيجة بعض العوامل منها فترات الدورة الشهرية الطويلة ، الاعطاء المستمر للدم ، الاصابة ببعض الامراض ومنها الامراض السرطانية لاسيما ابيضاض الدم وتناول بعض الادوية .

-الاحتياج المتزايد للحديد Increased need for iron

من الحالات التي يحتاج فبها الجسم الى كميات كبيرة من الحديد هي البلوغ ، الحمل والرضاعة فيحدث النقص في مستويات الحديد .

-عدم القدرة على امتصاص الحديد: Inability to absorb iron

يمتص الجسم عند البالغين الأصحاء حوالي 15 % من الحديد المتناول لكن أجسام بعض الناس تكون غير قادرة على امتصاص أو استخدام الحديد من الدم . تحتوي كل كريات الدم الحمر على الهيموغلوبين وهو بروتين معقد حاوي على الأوكسجين ويتألف جزئيا من الحديد والذي يشكل نسبة ثلثي الحديد في الجسم، يخزن الجسم الحديد للاستخدام في حالات النقص عند عدم اخذ كميات كافية منه (Iyama *et al*.,2003) .

1-6-2 قابلية سعة الحديد الكلية : Total Iron Binding Capacity(TIBC)

ينقل الحديد في الدم بواسطة بروتين المصل وهو الترانسفيرين transferrin وهو طبيعيا مشبع بالحديد بنسبة % 30 .ان سعة ارتباط الحديد الكلية هي كمية الحديد التي يحتاجها الترانسفيرين ليشبع بنسبة 100 % وتعكس نسبة TIBC حالة الحديد (Siek ,2005). ففي حالة ارتفاع نسبة TIBC هذا يعني انخفاض نسبة الحديد في الدم ، ولذلك يكون مفيد في تشخيص حالات نقص الحديد . والمستويات غير الطبيعية لقابلية ارتباط الحديد الكلية تدل على وجود انواع متعددة من الامراض، منها الاختلالات الوراثية، السرطانات بأنواعها لاسيما ابيضاض الدمleukemia ،امراض الكبد ،نقص التغذية (Garnbino *et* al. ,2006). قياس TIBC ،الحديد ، ونسبة الحديد الى TIBC تستخدم بشكل كبير في تشخيص العديد من الامراض وتسليط الضوء على طرق معالجة الانيميا الناتجة من نقص الحديد والالتهابات المزمنة والعديد من الإمراض (Morgan ,2005).

7-2 علاج ابيضاض الدم Leukemia therapy

إن عملية معالجة ابيضاض الدم عملية معقدة ومتعددة الجوانب وتختلف من نوع لاخر حسب نوع ابيضاض الدم ومن مريض لأخر .وتعتمد المعالجة على جوانب متعددة مثل مسلك الخلايا الشاذة وكثافتها ومدى انتشارها إضافة إلى العمر والحالة الصحية العامة والبنية الجسدية . ومن المهم جدا البدء في معالجة ابيضاض الدمالحادة إذ تستهدف المعالجة الوصول الى مرحلة حصار خلايا ابيضاض الدموالقضاء عليها أو استقرارها وهناك مراحل للعلاج وهي مرحلة الاستقرار Remission iduction وبعدها مرحلة ترسيخ الاستقرار consolidation وتشمل ايضا حماية الجهاز العصبي المركزي تليها مرحلة الوقاية والمحافظة Maintenance (Chu *et al*.,2006).

يتطلب العلاج الإشارة إلى عوامل التكهن بالمردود العلاجي او مؤشرات المرض prognostic factors والتي يحددها الأطباء منذ البداية عبر معطيات الفحوص والتحاليل وبهذا الصدد يتم تصنيف حالات ابيضاض الدم إلى ثلاث فئات : الفئة ذات الخطر القياسي standard risk وفئة الخطر المرتفع high risk وفئة الخطر الشديد very high riskوبذلك تستلزم الفئتين الأخيرتين علاجات مكثفة كما إن الحالات ذات الخطر المعتدل تستجيب للعلاجات وتحقق شفاء أعلى من غيرها (Lacklitz,2003).

1-7-2- انواع العلاج Types of therapy

يعد العلاج الكيميائي الخط الاول لعلاج ابيضاض الدم النيقياني الحاد acute myeloid leukemia (AML) ويستخدم العلاج الإشعاعي لحالات معينة وأيضا يتم إجراء عمليات زرع نخاع العظم في بعض الأحيان وفيما يلي أهم أنواع العلاج :

ا-العلاج الكيميائي Chemotherapy

وهو علاج بأستخدام ادوية خاصة تعرف بالعقاقير الكيميائية المضادة للسرطان والتي تقوم بالقضاء على الخلايا السرطانية وتدميرها اذ يقوم بتقويض العمليات الحيوية داخل هذه الخلايا وتأتي مقدرة هذا العلاج على معالجة الاورام المنتقلة والمنتشرة ، بينما يقتصر العلاج الاشعاعي او العمل الجراحي على معالجة الاورام المنحصرة بمواضيع محددة . وتعود فاعليته الى ان الخلايا السرطانية اكثر حساسية واشد تأثرا بالعلاج الكيميائي من الخلايا الطبيعية بسبب سرعة انقسامها وبطبيعة الحال فأن مضاعفات العلاج الكيميائي واثاره مقبولة مقارنة

بالمرض نفسه . وقد يسمى العلاج الكيميائي علاجا جهازيا (systemic) نظرا لانتقال العقاقير الكيميائية عبر الدورة الدموية الى كل اجزاء الجسم ومقدرتها على تدمير الخلايا السرطانية وقد يتم استخدامه قبل المباشرة بالجراحة بالنسبة للاورام الصلبة ويعرف ذلك بالعلاج الكيميائي المبدئي المساعدneoadjuvant . وقد يستخدم العلاج الكيميائي بعد العلاج الجراحي او استئصال الأورام بهدف القضاء على الخلايا الورمية الغير مميزة والتي قد تكون تبقت بما يـعرف بالعلاج الكيـــميائي المضـــاف adjuvant (Wilkes *et al* ., 2006) .

تختلف طريقة استخدام أدوية العلاج الكيميائي فمنها عن طريق الفم على هيئة أقراص أو كبسولات أو سوائل وهي على الأغلب تحقن بالجسم بطرق مختلفة مثل الحقن بالوريد والحقن بالعضل والحقن موضعيا تحت الجلد أو الحقن في الشريان الرئيس وان كان الحقن الوريدي هو الطريقة الأكثر شيوعا.

تتكون البرامج العلاجية عادة من دورات متكررة تفصل بينها فترات نقاهة ويتلقى المريض خلال كل دورة توليفة مشتركة من الأدوية الكيميائية المختلفة أو الاقتصار على عقار واحد حسب نوع الورم والمخطط العلاجي المتبع ، يستخدم العلاج الكيميائي لفترات زمنية طويلة لتخفيض إعداد الخلايا السرطانية بالتدريج إلى الحد الذي يتمكن فيه النظام المناعي مـن السيطرة على اي نمو سرطاني إضافة إلى إعطاء فترة للخلايا لتتعافى من مفعول العقاقير الكيميائية ،اذ ان لهذه العقاقير تأثيرات على الخلايا والأعضاء الطبيعية سريعة النمو مثل خلايا النخاع العظمي ،خلايا وأنسجة الجهـاز الهضمـــي إضافة إلى بعض الأعضاء الحـيوية مـــثل الكـبد والـكليـتيـــن (Eyre *et al*. , 2007) .

يؤدي استخدام العلاج الى نشوء عدد من المضاعفات الجانبية والتي تتفاوت في الشدة والنوعية من شخص لأخر ومن عقار لأخر ومن دورة علاجية الى اخرى حسب نوع وجرعة العقار المستخدم وتفاعل الجسم حياله . وهذه التأثيرات متعددة منها انخفاض اعداد خلايا الدم ، تساقط الشعر الموقت ،الاعياء ، الغثيان وغيرها ، ان بعض خلايا ابيضاض الدم مقاومة للعلاج الكيميائي بصفة خاصة وتظهر هذه التغيرات بمورث المقاومة الدوائية المضاعفة multiple drug resistaance(MDR) وتنتج من تجمع الدواء داخل الخلايا بالكم اللازم للقضاء عليها ولذلك تتم معالجتها بأستخدام جرعات عالية من العلاج الكيميائي خلال فترة قصيرة .

وقد تظهر عوارض اخرى عند حالات ابيضاض الدم والأورام الليمفاوية يعرف بمتلازمة انحلال الورم Tumor lysis syndrom وتعتبر احد التأثيرات الجانبية للعلاج الكيمياوي وينتج عن هذا الانحلال السريع للخلايا اللوكيمية واللمفاوية انطلاق بعض المعادن بالدورة الدموية

يظهر ذلك بأرتفاع معدلات البوتاسيوم والفوسفات وحامض البوليك وانخفاض معدلات البوتاسيوم مما يؤثر على الكليتين والقلب والجهاز العصبي (Bethesda., 2006) .

ب- العلاج الإشعاعي Radio therapy

يتم استخدام الاشعاع المؤين ionizing radiation لتدمير الخلايا السرطانية بأستخدام العناصر والنظائر المشعة والاشعة السينية او اشعة اخرى مثل اشعة كاما او دفق النيترونات .وتتركز فاعلية الاشعاع في مقدرته على تقويض وتفتيت الحامض النووي DNA للخلايا الورمية وهو المادة الحيوية والاساسية لمختلف الوظائف الخلوية ،ويتم استخدام الاشعاع الخارجي لدى معالجة ابيضاض الدمفي الحالات التي تستلزم ذلك فحسب (خصوصا معالجة خلايا ابيضاض الدمالمتواجدة في أغشية السحايا بالدماغ أو الخصيتين او عند وجوده على القصبة الهوائية ،وقد يتم استخدام العلاج الاشعاعي منفردا كعلاج وحيد أو بصفة مشتركة (Keene *et al*.,2005) .

2-7-2 المراحل العلاجية Therapy Stages

قسمت المراحل العلاجية حسب Medex (2008) إلى أربع مراحل رئيسة :

1- مرحلة الاستقرار أو الخلو Remission induction

وتهدف هذه المرحلة إلى إخماد ما يسمى فورة الخلايا السرطانية لابيضاض الدم بأستخدام العلاج الكيميائي والقضاء على اكبر عدد ممكن منها والدخول الى طور الخلو من السرطان. ففي بداية التشخيص يحتوي جسم المريض على عدد هائل من الخلايا الورمية اللوكيمية لذا يستلزم القضاء على 99 % من هذا العدد لاعتبار المريض في حالة استقرار او خمود وتعتبر مرحلة العلاج ناجحة عند التأكد من خلو عينات الدم والنخاع العظمي والسائل المخي الشوكي من الخلايا الورمية وعودة معدلات خلايا الدم الى المعدلات العادية ،وتتم المعالجة بأستخدام عقارات مختلفة ومنها cytarabine و daunomycin وغيرها.

2-مرحلة الترسيخ والتثبيت Consolidation

هي المرحلة التي تبدأ بعد مرحلة الاستقرار وهي مرحلة مكثفة من العلاج الكيمياوي وهي تستهدف القضاء على الخلايا السرطانية الكامنة والمتبقية وتستخدم جرعات من نفس العقاقير المستخدمة سابقا او بجرعات اعلى او بأضافة عقاقير جديدة ومن جهة اخرى تستمر عمليات وقاية الجهاز المركزي بهذه المرحلة واستخدامت الحقن الغمدي ثم كل شهر او شهرين طوال فترة الترسيخ .

3-مرحلة المحافظة Maintenance

على العكس من انواع ابيضاض الدمالاخرى لا يحتاج المرضى الى مرحلة المحافظة بأستثناء حالات ابيضاض الدم الخلايا النخاعية من نوع M3 حيث يتم استخدام فيتـامين A المعدل (ATRA) لفترة تقارب السنة .

4-مرحلة الرجوع أو التواتر Recurrent

ويعني ذلك ان التسرطن اللوكيمي قد عاد وظهر عقب تحقيق الاستقرار والخمود أي حدوث انتكاس للمريض relapse وفي هذه الحالة ينصح الأطباء باللجوء إلى عمليات زرع النخاع العظمي أو خلايا المنشأ، وتجدر الإشارة إلى انه غالبا ماتظهر دلائل عودة ابيضاض الدموالانتكاس خلال فترة تلقي المعالجات أو عقب ستة أشهر من انتهائها .

3-7-2 انواع التأثيرات الجانبية للعلاج الكيميائي Types of side effectes of chemotherapy

من الممكن ان تصنف التأثيرات الجانبية الى شائعة وغير شائعة وانية أي سريعة الظهور وقريبة تظهر بعد ايام او اسابيع اضافة الى المضاعفات المتأخرة وبعيدة الاجل التي تظهر في فترات زمنية طويلة . وتطرأ التأثيرات الانية الشائعة خلال الحقن وتشمل الغثيان والتقيؤ والحرقة في موضع الحقن عند تسرب الدواء الى الجلد اما غير الشائعة فهي الحساسية بأنواعها (الطفح الجلدي ،البثور،تورم الجفون والايدي والاقدام وقصر النفس) (Harrison, 2008) .

اما التأثيرات الجانبية الشائعة حسب Kasvosve (2005) تشمل :

1-احباط النخاع العظمي

من أهم التأثيرات المصاحبة للعلاج الكيميائي هي عدم قدرة الجسم على إنتاج العدد الكافي من مكونات الدم مما يؤدي إلى ضعف الجهاز المناعي نتيجة تدني إعداد الخلايا البيض و كريات الدم الحمر في الدم الذي يؤدي إلى فقر الدم.

ا-انخفاض تعداد خلايا الدم البيض :

عندما يكون النخاع العظمي محبطا نتيجة العلاج الكيميائي ،تنخفض مقدرته على إنتاج الخلايا البيض بالإعداد اللازمة لاستبدال الخلايا المكتهلة والتي انتهت فترة حياتها بالدورة الدموية، الأمر

الذي يؤدي إلى انخفاض معدلاتها بالدم ،مما يعرض المريض لخطر التقاط مختلف أنواع العدوى بسهولة.

ب-انخفاض تعداد كريات الدم الحمر

عند إحباط النخاع العظمي بعد العلاج الكيمياوي تنخفض اعداد كريات الدم الحمر في الدم ويهبط مستوى الهيموغلوبين مما يؤدي الى نشوء فقر الدم وتقل لزوجة الدم لذلك يشعر المريض بالتعب ،الإرهاق والضعف لان الدم لا يحمل الأوكسجين الكافي إلى القلب والرئتين والعضلات ومختلف الأعضاء.

ج-نقص الصفائح الدموية

ان للصفائح الدموية أهمية كبيرة لفعاليتها في حماية الأنسجة من النزف بإغلاقها لمواضع الجروح او التصدع في الجسم من خلال تكوين تجلطات الدم . إن انخفاض معدلات الصفائح الدموية في الدم يعرض المريض لمخاطر سهولة النزف وفقد الدم ، لذلك يجب اتخاذ كافة الاحتياطات لمنع حدوث الجروح أو الكدمات حتى البسيط والذي يمكنه التسبب بنزيف حاد يصعب وقفه عند تدني المعدلات.

2- تأثير العلاج الكيميائي في تساقط الشعر

تسبب بعض العقاقير الكيميائية تأثيرا على بصيلات الشعر ومما قد يؤدي الى ان يتساقط الشعربسرعة ملحوظة والشائع ان يتم تساقط الشعر بشكل تدريجي ويستمر احيانا لعدة اسابيع وقد يكون التساقط جزئيا او يشمل كل الرأس كما انه مؤقت وعادة ما يعود الشعر الى نموه الطبيعي الكامل بعد توقف العلاجات .

3-تأثيرات العلاج الكيميائي على الفم والحنجرة

تنمو الخلايا الطبيعية المكونة لاجزاء القناة الهضمية بما في ذلك الفم وتتكاثر بوتيرة سريعة وهي دائمة الاستبدال ولذلك تتعرض سريعا للاذى من العلاج الكيميائي وتظهر التهابات الغشاء المخاطي والتقرحات والجفاف وصعوبة البلع اضافة الى تغيرات الطعم .

4-تأثيرات اخرى للعلاج الكيميائي

بالإضافة إلى تأثيرات اخرى منها الغثيان والتقيؤ .حيث تعتبر ادوية العلاج الكيميائي من اكثر مسببات الغثيان والتقيؤ وحسب نوع العقار وجرعاته. و من التأثيرات الأخرى الإمساك حيث تزداد حدته لاسيما باستخدام العقارات المشتقة من النباتات مثل عقارVincristine .

الفصل الثالث
المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3 – 1 : المواد Materials

3 – 1 – 1 : الأجهزة والأدوات :

جدول (3 – 1) الأجهزة المستخدمة في إنجاز البحث والمنشأ والشركة

ت	الأجهزة	الشركة المجهزة	المنشأ
1	الصندوق المبرد لنقل العينات	صنع محلي	
2	الكابينة المعقمة Laminar air flow Cabinet	Flow laboratories	U.K
3	جهاز الطرد المركزي Centerifuge	Griffianal George	U.S.A
4	حاضنة Incubator	Gallenhamp	Germany
5	حمام مائي Water bath	Tafes-Hannover	U.S.A
6	مقياس الأس الهيدروجيني pH Meter	Chemcadet	U.S.A
7	فرن Oven	Gallenhamp	Germany
8	ميزان حساس Sensitive balance	Mettler	U.S.A
9	محراك مغناطيسي Magnetic stirrer	Gallenhamp	Japan
10	مجهر ضوئي Light Microscope	Olympus,ch3o	England
11	عداد خلايا الدم Heamo Cytometer	Neubour	Germany
12	محراك Shaker	MSE	CCCP
13	الموصدة Autoclave	AK.Co.Ltd.	Germany
14	مجمدة Freezer	Thalhemet	Japan
15	PCR	Cleaver scientific	Japan
16	وحدة الترحيل الكهربائي Gel electrophoresis unite	Cleaver scientific	Japan
17	وحدة تصوير الهلام Photoducomentation	Cleaver scientific	Germany
18	جهاز الطرد المركزي المبرد Cooling centrifuges	Hettich	U.K

جدول (3 - 2) الأدوات الزجاجية والبلاستيكية المستخدمة في إنجاز البحث .

ت	الأدوات الزجاجية والبلاستيكية	الشركة المجهزة	المنشأ
1	شرائح زجاجية Slides	China MHeco	China
2	أغطية شرائح زجاجية Cover slides	Medical instrument	China
3	سلايد عدد خلايا الدم البيض Counting chamber	Marren feld	Germany
4	زجاجيات مختلفة Pyrex	Volac	England
5	محقنة طبية نبيذة 5 ملم Disposable syringe 5 ml.	Ayset	Turkye
6	أنابيب مانعة تخثر EDTA tube	Gold star	Jordan
7	محقنة طبية نبيذة 1 ملم Disposable syringe 1 ml.	Medical ject	S.A.R
8	Plain tube	Gold star	Jordan
9	أدوات بلاستيكية مختلفة Plastic disposable	Nunclon	Denmark
10	Micro plate	LKB	England
11	Cylinders(1 – 1000ml)		UK
12	Eppendrofs tubes 2 ml	Qrenier	Germany
13	Pipets tips	Nunclon	Denmark
14	Micropipette	Qrenier	Germany

3 – 1 – 2 : المواد الكيميائية Chemical materials

جدول (3- 3) المواد الكيميائية المستخدمة في أنجاز البحث .

ت	المادة	الشركة المصنعة ومنشأها
1	بلازما الدم البشرى Human plasma	جهز من مصرف الدم - كربلاء
2	محفز النمو PHA Phytohemoagglutinin	Segma- England
3	الوسط الزرعى RPMI 1640	Segma- England
4	مانع تخثر Heparin	وزارة الصحة - العراق
5	الكولجسين Colchecine	Franch
6	تربسين Trypsin	Diffco 1:250 – uis.A
7	كحول مثيلي مطلق Absolute methanol	European union - scharlau
8	كحول اثيلى Ethyl alcohol	BDH - Germany
9	حامض الكروميك Chromic acid	Prolabo – Germany
10	حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid	Riedel – dttean - Germany
11	كلوريد البوتاسيوم KCl	BDH – England
12	فوسفات الصوديوم أحادية الهدروجين Na_2HPO_4	BDH – England
13	فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهدروجين KH_2PO_4	BDH – England
14	كلوريد الصوديوم NaCl	BDH chemical - England
15	صبغة كمزا Giemsa stain	BDH chemical - England
16	كاربونات الصوديوم الهدروجينية $NaHCO_3$	BDH chemical - England
17	محلول تكسير كريات الدم الحمر	جهز من مستشفى الحسيني – كربلاء
18	EPO kit	R&D system-U.S.A
19	ANP kit	Uscn life - Germany
20	Micral-test (microalbuminuria)	Mannheim –Germany
21	اكاروز Agarose	Cleaver scientific -Japan
22	Boric acid	Himedia – India
23	DNA isolation kit	Promega – USA
24	DNAladder	Cleaver scientific- Japan
25	EDTA-disodium	Himedia –India
26	Isopropanol	BDH – Engeland
27	Tris-base	Himedia –India

3 – 1- 3 الأدوات الزجاجية

1- تحضير الأدوات الزجاجية

الأدوات المستخدمة جميعها من نوع بايركس Pyrex تم غسلها جيداً بمساحيق الغسيل وغسلت بعد ذلك بالماء المقطر وتم تجفيفها وتعقيمها في الفرن Oven بدرجة حرارة 200 م ولمدة ساعتين بعدها تبرد وتستخدم مباشرة أو تحفظ في ورق الألمنيوم لحين الاستخدام .

2– تحضير الشرائح الزجاجية

وضعت الشرائح الزجاجية في حامض الكروميك Chromic acid لمدة ثلاثة أيام وذلك لإزالة الطبقة الدهنية منها وبعدها غسلت بالماء الساخن الجاري ثم بالماء البارد ثم وضعت في إناء حاوٍ على ماء مقطر ووضعت في المجمدة لمدة 20 دقيقة وبعدها نقلت إلى الثلاجة بدرجة (- 4) م .

3 – المحاليل الكيميائية

تم تحضير المحاليل الكيميائية على وفقا لطريقة (Cowell , 1982) ، وتم تحضير جميع المواد تحت ظروف معقمة .

4 – بلازما الدم البشري Human Plasma

تم استخدام بلازما الدم البشري Human Plasma من نوع AB^+ بعد إجراء عملية تثبيط العامل المتمم Complement factor بوضعا في حمام مائي بدرجة 56 م لمدة ساعة واحدة ثم وزعت بعد ذلك في أنابيب معقمة سعة 5 مل وحفظت بدرجة حرارة – 20 مْ لحين الاستعمال .

5- بيكاربونات الصوديوم Sodium bicarbonate

أذيب 4.4 غم من $NaHCO_3$ في 100 مل ماء مقطر ثم عقم بدرجة حرارة 121 م° لمدة 15 دقيقة ثم حفظ بدرجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال.

6- محلول الوسط الزرعي RPMI 1640

استخدم الوسط الزرعي الجاهز السائل للزرع والذي يكون حاوي على (L-glutamate, hepes ,antibiotic) بدون بيكاربونات الصوديوم حيث وزع الوسط الزرعي في أنابيب اختبار معقمة بواقع 5 مل لكل انبوبة وتحفظ مجمدة -20 لحين الزرع على أن لاتزيد مدة الحفظ عن ثلاثة اسابيع .

7- PHA Phytohemoagglutinin

أذيب 5 غرام من مسحوق PHA بإضافة الماء المقطر المعقم وتم حفظه بدرجة الانجماد لحين الاستعمال اذ يضاف 0.1 مل لكل 5مل من الوسط ألزرعي RPMI .

8- محلول واطىء التوتر Hypotonic solution

كلوريد البوتاسيوم KCl

تم تحضيره بإذابة 1.117 غم من كلوريد البوتاسيوم في 200 مل من الماء المقطر المعقم ومزج جيدا ليكون التركيز النهائي 0.075 مولاري وحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام على ان لا تزيد مدة حفظه عن 4 أيام .

9- محلول الكولجسين Colchecine Solution

تم تحضيره بإذابة 1 ملغم من الكولجسين في 10 مل من الماء المقطر المعقم وقد تم رجه حتى ذوبانه تماماً للحصول على تركيز 0.1 ملغم/ مل وحفظ في الثلاجة .

10- محلول دارئ الفوسفات الفسيولوجي

Phosphatic buffer saline Solution (P.B.S)

تم تحضيره بإذابة 0.8 غمNaCl و 0.20 غمKCl و 0.15 غم $NaHPO_4$ و0.20 غم KH_2PO_4 في 1000 مل من الماء المقطر المعقم وعدل الاس الهيدروجيني إلى (pH=7.01) وحفظ بدرجة حرارة (- 4) م° لحين الاستعمال .

11- محلول سورنسن Sorenson buffer solution

تم تحضيره بإذابة 6.74 غم من KH_2PO_4 و 7.08 غم من مادة Na_2HPO_4 في 1000 مل من الماء المقطر المعقم وعدل الاس الهيدروجيني إلى (PH= 6.8) حفظ بدرجة 4 م ويستخدم دافئا في أثناء صبغ الشرائح الزجاجية .

12- محلول التربسين Trypsin solution

تم تحضيره بإذابة 0.25 غم من مسحوق التربسين في 100 مل من ألـ P.B.S وخلط جيداً بدرجة حرارة الغرفة باستخدام جهاز Magnetic stirrer ووزع على أنابيب اختبار صغيرة معقمة محكمة الغلق وحفظ في درجة -20م لحين الاستعمال .

13- المحلول المثبت Fixative solution

تم تحضيره هذا المحلول آنياً بإضافة (3) أجزاء من الكحول ألمثيلي المطلق إلى جزء واحد من حامض الخليك الثلجي (1:3) .

14- محلول صبغة كمزا Giemsa stain solution

تم استخدام محلول صبغة كمزا المحضرة الجاهزة حيث تم صبغ الشرائح الزجاجية بها مباشرة بعد أن تركت الشرائح لفترة لتجف .

15- دارئ TEB Tris –Borat EDTA buffer (5X)

حضر بأذابة 54 غم من Tris – base ، 27.5 غم من Boric acid ، 20 من محلول EDTA (0.5 مولاري) في 1000مل من الماء المقطر ،عدل الاس الهيدروجيني الى 8.3 وعقم وحفظ بدرجة 4 مْ (Sambrook *et al*.,2001).

3 – 2 : طرائق العمل Methods

تم أخذ العينات من المرضى المصابين بمرض ابيضاض الدم النيقياني الحاد (AML)من مستشفى الحسين العام –محافظة كربلاء وبعض المختبرات الخارجية وأجريت الدراسة على 25 مريضا قبل العلاج الكيميائي و30 مريضا بعد العلاج الكيميائي ومقارنتها بـ 15 فردا من الأصحاء وتم نقل العينات للمختبر لغرض أجراء الفحوص المختبرية وهي كما في شكل رقم (3-1) .

3 – 2 – 1 : استمارة الاستبيان

جمعت المعلومات من المرضى وكذلك من مجموعة السيطرة باستخدام استمارة الاستبيان (ملحق 1).

3– 2 – 2 : تحضير كروموسومات الإنسان من الدم المحيطي
The preparation of human chromosomes

3 – 2 – 2 – 1 : جمع عينات الدم Blood collection

سحب 10 مل من الدم الوريدي لعينة مؤلفة من 55 فرداً من كلا المجموعتين قبل وبعد العلاج بالإضافة إلى 30 فردا من الاصحاء لاجراء الاختبارات اعلاه وتم استخدام طريقة Short term culture و بواسطة محقنة نبيذة مغطاة من الداخل بمادة الهيبارين سحب 5 مل اذ تم رجها بشكل خفيف لمنع تخثر الدم ، ثم نقلت بوساطة صندوق مبرد إلى مختبرات جامعة كربلاء – قسم علوم الحياة بوقت لا يتعدى ألـ 24ساعة لإجراء الاختبارات الوراثية الخلوية ، سحب 5 مل اخرى من نفس العينة ونقلت الى المختبر لغرض الحصول على المصل لأجراء الاختبارات الفسلجية شكل (1-3) .

3 – 2 – 2 – 2 : زرع الخلايا Cell culture

اضيفت 5-7 قطرات من الدم إلى أنابيب الزرع المحضرة مسبقاً والمحتوية على 5 مل من الوسط الزرعي RPMI 1640 والمحتوية على 0.1 مل من محفز النمو PHA ثم خلطت جيداً بعد ذلك و حضنت في درجة حرارة 37 م° لمدة 71 ساعة ، اذ وضعت بشكل مائل وتم رجها بهدوء كل 24 ساعة . بعد ذلك أضيف 0.5 مل من الكولجسين لكل أنبوبة من أنابيب الزرع ثم أعيدت إلى الحاضنة مع التحريك 3 – 4 مرات خلال هذه الفترة لإكمال مدة الحضن إلى 72 ساعة .

3 – 2 – 2 – 1 : حصاد الخلايا Harvesting

1.أخرجت الأنابيب من الحاضنة بعد اكتمال مدة الحضن ووضعت في جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 1500 دورة / دقيقة ولمدة 10 دقائق .

2 .أزيل الرائق Supernatant بواسطة ماصة باستور Pasteur pipette وترك الراسب Pellet الحاوي على الخلايا مع القليل من الوسط الزرعي في قعر الأنبوب .

3. رج الراسب جيدا باستخدام الخلاط الكهربائي ثم أضيف 10 مل من محلول KCL الواطئ الشد بتركيز (0.075) مولار وبدرجة 37 م° تدريجيا قطرة قطرة مع التحريك والرج المستمر .

4.وضعت الأنابيب في الحمام المائي لمدة 20 دقيقة بدرجة 37 م° .

3– 2 – 2 – 4 : التثبيت Fixation

أجريت عملية التثبيت بحسب الخطوات آلاتية :

نقلت أنابيب الاختبار إلى جهاز الطرد المركزي بسرعة 1500 دورة / دقيقة ولمدة 10 دقائق ثم أزيل الرائق .

1. رج الراسب بواسطة الخلاط الكهربائي بعد ذلك و أضيف لكل أنبوبة 5 مل من المثبت المحضر انياً وكانت الإضافة قطرة قطرة مع الرج المستمر .
2. ونقلت الأنابيب إلى جهاز الطرد المركزي بسرعة 1500 دورة / دقيقة ولمدة 10 دقائق ثم أزيل الرائق وحفظت الخلايا بعدها مع المثبت في الثلاجة بدرجة 4 مْ لمدة نصف ساعة .
3. أعيدت الخطوة رقم (2) و (3) لمرتين على الأقل لحين الحصول على عالق خلايا شفاف اللون .
4. أضيف لكل أنبوبة 5 مل من المثبت ثم رجت الأنابيب جيداً .

3– 2 – 2 – 5 : تحضير الشرائح الزجاجية Slide preparation

1. تم تحضير الشرائح وذلك بمسك الشريحة الزجاجية المبللة بالماء البارد المثلج بوضع مائل بزاوية 45° يقطر عليها من (2 – 3) قطرات من المحلول الحاوي على الخلايا بوضع عمودي ومن ارتفاع بحدود 60 سم وحضر لكل نموذج 3 مكررات (بواقع مجموعتين الأولى تصبغ بصبغة كمزا لحساب الـ MI و الـ BI أما المجموعة الثانية فيتم تحضيرها بطريقة (التحزيم) لدراسةالتشوهات الكروموسومية .
2. تركت الشريحة الزجاجية لتجف بدرجة حرارة الغرفة بوضعها بصورة مائلة .
3. صبغت الشرائح الزجاجية آنياً بصبغة كمزا وبعد ذلك تم غسلها بمحلول سورنسن الدافئ ثم تركت لتجف.

3 – 2 – 2 – 6 : التحزيم Banding

1. تم تقطير الشرائح الزجاجية .
2. وضعت الشرائح فوق حامل خاص وتمت تغطيتها بمحلول التربسين وتركت لمدة 15 – 20 ثانية وتغسل مباشرةً بالـ P.B.S .
3. صبغت الشرائح بصبغة كمزا .

3– 2 – 2 – 7 : الفحص ألمجهري

تم الفحص باستخدام المجهر الضوئي اذ تم فحص الخلايا المنقسمة في الطور الاستوائي بواسطة العدسة الزيتية (x 100) اذ فحصت الكروموسومات في 30 خلية لكل شريحة من الشرائح المحضرة في الطور الاستوائي وثبتت الهياة الكروموسومية .

3 – 2 – 2 – 7 – 1 : معامل الانقسام Mitotic index (MI)

يحسب عدد الخلايا اللمفاوية المنقسمة لكل 1000 خلية واستخرج معامل الانقسام على وفق المعادلة آلاتية : (Ghosh *etal*., 1991) .

$$\text{معامل الانقسام (MI)} = \frac{\text{عدد الخلايا المنقسمة}}{\text{1000 خلية (خلايا منقسمة وغير منقسمة)}} \times 100$$

3 – 2 – 2 – 7 – 2 : دليل الخلايا الارومية اللمفاوية Blast index

تحسب عدد الخلايا اللمفاوية الارومية لكل 1000 خلية ويستخرج دليل الخلايا الارومية اللمفاوية على وفق المعادلة آلاتية : (Ghosh *etal*., 1991) .

$$\text{دليل الخلايا الارومية اللمفاوية (BI)} = \frac{\text{عدد الخلايا المتحسسة للانقسام}}{\text{1000 خلية (خلايا متحسسة وغيرمتحسسة)}} \times 100$$

3 – 3 استخلاص الـــ DNA: DNA extraction

تم استخلاص الـ DNA من الدم حسب الطقم Kitمن شركة promega وكما يأتي :

(الطرد المركزي كان بسرعة 15000 دورة / دقيقة وبدرجة حرارة الغرفة)

1. اضيف 300 µl من الدم الى انبدروف حاوية على 900 µl منCell lysis solution مزج الخليط بلطف وترك بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق لتحليل الخلايا .
2. نبذت الانابيب لمدة 20 ثانية.
3. اهمل الرائق بلطف دون اتلاف الطبقة البيضاء ثم رجت الانابيب لتعليق المكونات الخلوية .
4. اضيف 300 µl من محلول Nucleic lysis solution ومزجت المحتويات بالماصة الدقيقة ثم حضن الخليط بدرجو حرارة 37 م لمدة ساعة من الرج.
5. اضيف 1.5 µl من Rnase وحضن بدرجة حرارة 37 م لمدة 15 دقيقة لتحليل RNA .
6. وضعت الانابيب في الثلج لمدة 5 دقائق ثم اضيف لها 100 µl من protein precipitation solution ثم رجت الانابيب بلطف.
7. نبذت الانابيب لمدة 3 دقائق.
8. نقل الرائق الى انابيب ابندروف حاوية300 µl من الايزوبروبانول ثم مزج الخليط بلطف لمشاهدة خيوط DNA .
9. نبذت الانابيب لمدة 3 دقائق.
10. اهمل الايزوبربانول بلطف واضيف 300 µl من الايثانول 70 % الى DNA المتركز على جدران الانبوبة ثم رجت الانابيب لغسل DNA .
11. نبذت الانابيب لمدة 3 دقائق.
12. تم ازالة الايثانول بلطف ثم قلبت الانابيب على ورقة نشاف لتجفيفها لمدة 15 دقيقة.
13. اضيف 100 µl من DNA Rehydration solution ثم حضنت الانابيب في حمام مائي بدرجة حرارة 65 لمدة ساعة مع الرج.
14. حفظت الانابيب بدرجة حرارة 2-8 م.

4-3 تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل (PCR) Polymerase chain reaction

تم تحضير محاليل الـ Stock Solution ومحلول العمل Working solution حسب شركة Alpha DNA وكالتالي :

أضيف 12.5 µl من green master mix لكل أنبوبة ابندروف خاصة بجهاز الـ PCR وأضيف لها 1.5 µl من كل F-primer و R-primer من محلول العمل اضيف لها 4.5 µlمن كل من عينة DNA ، ونقلت الأنابيب إلى الـ PCR والذي تم على شكل 40 دورة تبدأ الدورة الأولى لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة 94 م ودرجة حرارة FlT3 66 م ، MLL 71 م لمدة 2 دقيقة والدورة النهائية لمدة دقيقة وبدرجة 94 درجة مئوية .

جدول (3- 4) تسلسل البرايمرات المستخدمة في انجاز البحث المجهزة من قبل شركة Alpha DNA

اسم الجين	التسلسل
FLT3	F-TTTACCCCACTTTCCAATCACAT
	R-CGAGTCCGGGTGTATCTGAAC
MLL	F-TCCTCCACGAAAGCCCGTCGAG
	R-AGCAAACAGAAAAAAGTGGCTCCC

5-3 ترحيل DNA على هلام الاكاروز Agarose Gel Electrophoresis

اتبعت طريقة Prifer (1984) لترحيل DNA المستخلص من الدم على هلام الاكاروز مع بعض التحوير وكما يأتي:

1. تم اذابة 1.5غم من الاكاروز في 100ml من TBE(1X\2) بواسطة تسخين المزيج الى درجة الغليان .
2. برد المزيج الى درجة حرارة 40 م ثم اضيفت صبغة بروميد الاثيديوم بتركيز 5 mg\ m1 .

3.حضرت صفيحة الاسناد وصب المزيج بعد غمس مشط الحفر comb قرب احدى نهايتي الصفيحة.و ترك الهلام ليتصلب لمدة 30 دقيقة .

4.وضعت الصفيحة في مسندها في وحدة الترحيل ثم غطي ببفر الترحيل TBE على ارتفاع 1 ملم .

5 .تم تحميل العينات في الحفر المخصصة بأضافة ما يقارب 5 µl – من DNA .

6.تم ترحيل العينات بجهد كهربائي 70 فولت و 20 ملي امبير لمدة 1-2 ساعة .

7.وضعت الصفيحة في جهاز التصوير photoducomentaion لتصوير الهلام .

3 – 6 حساب عدد خلايا الدم البيض الكلي

Total count of W.B.C

1.أخذ 0.02 مل من الدم .

2.أضيف إلى عينة الدم 0.4 مليلتر من W.B.C solution لغرض تكسير كريات الدم الحمر .

3.وضعت قطرة من خليط الدم و W.B.C solution على حافة سلايد عد الكريات Counting Chamber .

4.تم حساب عدد الخلايا البيض في المربعات الطرفية الأربعة التي يقسم كل منها إلى 16مربع وقسمت على عدد المربعات وضربت في 200 ثم أستخرج العدد الكلي لخلايا الدم البيض .

3 – 7 حساب عدد خلايا الدم البيض التفاضلي

Differential count of W.B.C

1. وضعت قطرة دم على حافة الشريحة الزجاجية .
2. فرشت القطرة بطريقة المسحة Smear .
3. تركت الشريحة لتجف بدرجة حرارة الغرفة .
4. ثبتت المسحة بالكحول ألمثيلي المطلق Absolute Methanol .
5. صبغت بصبغة كمزا Gimsia stain لمدة 2 – 2.5 دقيقة وغسلت بدارئ السورنسن الدافئ وجففت الشريحة.
6. تم حساب 100 خلية تشمل خلايا Monocyte والخلايا العدلة Nutrophil .

3 – 8 : قياس مستويات هرمون الاريثروبايوتين: Measurment of Erethropoitin levels

تم العمل حسب الخطوات الاتية وبدرجة حرارة الغرفة (حسب الطقم الخاص بقياس هرمون الاريثروبايوتين)

1. اضيف 100 µl من محلول EPO diluent لكل حفرة.
2. اضيف 100 µl من المحلول القياسي و السيطرة والعينة لكل حفرة .
3. حضنت بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين .
4. ازيل المحلول من الثقوب بالسحب دون الغسل
5. .أضيف 200µl من محلول الاقتران لكل حفرة .
6. .حضنت الصفيحة لمدة ساعتين بدرجة حرارة الغرفة .
7. .سحب السائل وغسل أربع مرات بمحلول الغسل .
8. أضيف 200µl من محلول المادة الأساس لكل حفرة وحضنت بدرجة حرارة الغرفة لمدة 20-25 دقيقة
9. أضيف 100 µl من المحلول الموقف وقرأت النتائج على طول موجي 450nm خلال 15 عن طريق رسم المنحنى القياسي ومقارنته بالقراءة الناتجة .

3 – 9 قياس مستويات هرمون الـ Measurment of Atrial natriuretic :ANP peptides Level

وتم العمل حسب الخطوات التالية : (حسب الطقم الخاص بقياس الببتيد الصوديومي الأذيني)

1. أضيف 100µl من المحلول القياسي ، الـ Blank والمصل لكل حفرة وتغطى وتحضن لمدة ساعتين بدرجة حرارة 37 درجة مئوية .
2. أزيل السائل من كل حفرة ولكن دون الغسل .
3. أضيف 100µl من الكاشف المحدد Detection reagent A لكل حفرة يغطى ويحضن لساعة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية .
4. سحب السائل وغسلت الصفيحة تكرر هذه العملية ثلاث مرات ويتم الغسل باضافة 400µl من محلول الغسل باستخدام الماصة ونكمل عملية ازالة السائل ،وبعد الغسلة الاخيرة نزيل أي بقايا من محلول الغسل وتقلب الصفيحة وتنشف على ورقة بيضاء .
5. أضيف 100µl من الكاشف المحدد Detection reagent B لكل حفرة يغطى ويحضن لساعة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية .

6.تكرر عملية السحب ،الغسل كما في الخطوة رقم 4.

7. أضيف 90µl من محلول المادة الأساس لكل حفرة تغطى وتحضن لـ 30 دقيقة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية بعيدا عن الضوء .

8. أضيف 50µl من المحلول الموقف لكل حفرة أذا لم يظهر التغير اللوني بشكل واضح تحرك الصفيحة بهدوء للتأكد من تمازجها تماما .

9. تحدد الكثافة الضوئية لكل حفرة باستخدام Microplate reader على درجة 450 nm .

3 - 10قياس مستويات الالبومين ألمجهري البولي :

Measurement of microalbuminuria Levels

يعتمد مبدأ الاختبار على التحديد المناعي لألبومين الإنسان بواسطة الجسم المضاد للذهب Antibody-gold-conjucated الاقتران الزائد يعود الى منطقة الانتشار الحاوية على غير المتحرك حيث يتم جمع الإدرار بأنابيب نظيفة وتوضع فيها الشريحة الخاصة بالاختبار لمدة خمس ثواني وبعدها يقارن اللون الناتج مع الالوان الموجودة على علبة شرائح الاختبار ومن خلال اللون الناتج يتم تحديد مقدار الألبومين .

3-11: قياس مستويات الحديد -Measurement of Iron Levels

تم استخدام الخطوات التالية :(Little,2005)

1. اخذ 250 µl من المصل ووضع في انبوبة اختبار والتي كانت حاوية على 1 مل من محلول الكاشف الاول R1 .
2. اضيف الى انبوبة السيطرة Blank 250 µl من المصل و 1مل من محلول الكاشف الاول R1 .
3. اضيف الى انبوبة الاختبار 250 µl من محلول الكاشف الثاني R2 واهمل 250 µl من من المحلول وتركت الانبوبة لمدة 5 دقائق في حمام مائي .
4. تم قياس الامتصاصية على طول موجي 546 nm وتم حساب نسبة الحديد وفقا للمعادلة التالية :

$$T. = \frac{a}{St.} \times 100$$

3- 12 قياس سعة ارتباط الحديد الكلية : Measurement of Total Iron Banding Capacity

تم استخدام الخطوات التالية :(Yong, 2006)

1. اضيف 500µl من محلول الكاشف الاول R1 و 25 µl من المصل .
2. / تركت الانبوبة لمدة 30دقيقة بعدها نقلت الى جهاز الطرد المركزي بسرعة 450 دقيقة لمدة 10 دقائق دورة.
3. ناخذ 200 µl من الراشح لكل من انبوبة الاختبار وانبوبة السيطرة الحاويتان على 1مل من كل المصل ومحلول الكاشف الاول R1 .
4. اضيف إلى أنبوبة الاختبار 250 µl من محلول الكاشف الثاني R2 واهمل 250 µl من من المحلول وتركت الانبوبة لمدة 5 دقائق في حمام مائي .
5. تم قياس الامتصاصية على طول موجي 546 nm وتم حساب نسبة الحديد وفقا للمعادلة التالية :

$$T. = \frac{a}{St.} \times 300$$

3- 13 قياس مستويات الفيريتين : Mesurement of ferritin level

تم استخدام الخطوات التالية : (Tietz,2005)

1- أضيف 20 µ من المصل الى 100 µ من ferritin conjucated reagent ونتظر لمدة 45 دقيقة .
2- غسلت العينة بالماء المقطر 5 مرات .
3- أضيف 100µ من محلول TMB لمدة 20 دقيقة الى ان يظهر المحلول بلون ازرق غامق .
4- أضيف المحلول الموقف وهو حامض HCL للعينة لمدة 5 دقيقة وبعدها تقرا النتائج مطيافيا .

3- 14 التحليل الإحصائي

تمـت الاستعانة بالبرنـامج الجـاهز SPSS لغرض معالجـة البيانـات وقد تـــم استخدام اختبـار t-test للمقارنـة بين متوسطي عينتين مستقلتين والبرنـامج الإحصـائي Statistica لغرض رسم الإشكال البيانية .

جدول (8-4) العدد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض وعدد الصفيحات الدموية لدى الذكور والاناثالمصابين بـ AML قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية

الفئة او المجموعة	العدد (N)	العدد الكلي لكريات الدم البيض W.B.Cs	Lymphocyte (%)	Nutrophile (%)	Monocyte (%)	Esinophile (%)	Basophile (%)	Platelets count
العينة القياسية ذكور	15	6983.33 ±392.1	34.93 ±0.76	60.46 ±0.58	3.33 ±0.37	0.80 ±0.20	0.0	231.26 ±14.9
العينة القياسية إناث	15	6520 ±330.8	34.80 ±0.79	58.20 ±0.45	4.46 ±0.48	1.06 ±0.31	0.0	414.4 ±170.6
ذكور	15	8363.78** ±925.3	37.33** ±1.02	58.73** ±1.03	3.33** ±0.38	0.86** ±0.21	0.33* ±0.12	72.46** ±5.35
إناث	10	5914.54** ±1607.3	36.80** ±1.48	58.50** ±1.92	3.70** ±0.36	1.10** ±0.31	0.60** ±0.16	61.60** ±4.55

المعدل ± الخطأ القياسي

$p<0.05$ *

$p<0.01$**

جدول (9-4) العدد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض لدى الذكور و الاناث المصابين بـ AMLبعد العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية

الفئة او المجموعة	العدد (N)	العدد الكلي لكريات الدم البيض W.B.Cs	Lymphocyte (%)	Nutrophile (%)	Monocyte (%)	Esinophile (%)	Basophile (%)	Platelets count
العينة القياسية ذكور	**15**	**6983.33** ±392.1	**34.93** ±0.76	**60.46** ±0.58	**3.33** ±0.37	**0.80** ±0.20	**0.0**	**231.26** ±14.9
العينة القياسية إناث	**15**	**6520** ±330.8	**34.80** ±0.79	**58.20** ±0.45	**4.46** ±0.48	**1.06** ±0.31	**0.0**	**414.4** ±170.6
ذكور	**15**	**6451.76**** ±353.1	**37.05**** ±0.86	**55.88**** ±0.71	**4.11**** ±0.30	**3.29**** ±0.25	**0.0**	**37.61**** ±2.48
إناث	**10**	**6484.6**** ±259.1	**36.53**** ±0.85	**55.53**** ±0.92	**4.84**** ±0.49	**3.33**** ±0.35	**0.0**	**41.05**** ±2.43

المعدل ± الخطأ القياسي

$p<0.05$ *

$p<0.01$**

جدول (3-4) النسبة المئوية للتشوهات الكروموسومية لدى الذكور ،الإناث المصابين بـ AMLبعد العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية

المجموعة أو الفئة	العدد (N)	كروموسوم حلقي Ring chromosome	التقاء النهايات الكروموسومية End to end associations	إشكال كروموسومية شاذة Bizarre configuration	نقصان المجموعة الكروموسومية Ploidy reduction	فرط المجموعة الكروموسومية Hyperdiploidy	تحلل كروموسومي
العينة القياسية	30	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
الذكور	17	14.70** ±1.81	4.94** ±1.47	47.11** ±1.66	13.23** ±4.23	19.52** ±4.18	0.0
الاناث	13	2.61* ±1.07	0.0	8.76** ±2.49	8.38 ±3.56	11.76* ±3.34	1.15* ±0.37

المعدل ± الخطأ القياسي

$p<0.05$ *

$p<0.01$**

الفصل الرابع

النتائج Results

4-1-الدراسة الوراثية الخلوية : Cytogenetic Studies

درست التغيرات الكروموسومية العددية والتركيبية في خلايا الدم البيضاء لـ 55 عينة من المرضى قسمت الى 25 عينة قبل العلاج الكيميائي و30 عينة بعد العلاج الكيميائي مقارنة بـ 30فردا من الاصحاء كعينة قياسية واستخدمت طريقة الـ Solid لدراسة التغايرات العددية وطريقة التحزيم Banding لدراسة التغايرات التركيبية .

4-1-1 التشوهات الكروموسومية Chrmosomal aberrations

أظهرت الدراسة الحالية وجود تغيرات كروموسومية عددية وتركيبية في عينات المرضى، فقد ظهرت تغيرات كروموسومية عددية لدى احد المرضى قبل العلاج الكيميائي وبعد العلاج الكيميائي، الشكلان (4-1) ،(4-2) ولوحظ وجود تغيرات تركيبية قبل العلاج الكيميائي في حالة واحدة من الحالات المدروسة وكانت الهيأة الكروموسومية لها هي : del (1) ، (-1)، XY ،45، شكل (4-1) ويلاحظ من شكل الهيأة الكروموسومية لهذه الحالة فقدان نسخة من كروموسوم 1 ، كما اظهرت الدراسة وجود تغيرات تركيبية بعد العلاج الكيميائي في حالة واحدة إذ كانت الهيأة الكروموسومية لها هي (9:22) t ،XY ،45 شكل (4-2) ويلاحظ من شكل الهيأة الكروموسومية حدوث انتقال بين كروموسومي 9 و 22.

شكل (4-1) كروموسومات احد مرضى اللوكيميا قبل العلاج الكيميائي محضرة بطريقة التحزيم اذ يلاحظ حدوث تغيرات عددية وتركيبية (1) del, (1 -) 45,XY,

(1600 X، صبغة جمزا)

شكل (4-2) كروموسومات أحد مرضى اللوكيميا بعد العلاج الكيميائي محضرة بطريقة التحزيم اذ يلاحظ حدوث تغيرات عددية وتركيبية 45,XY, t (9:22)

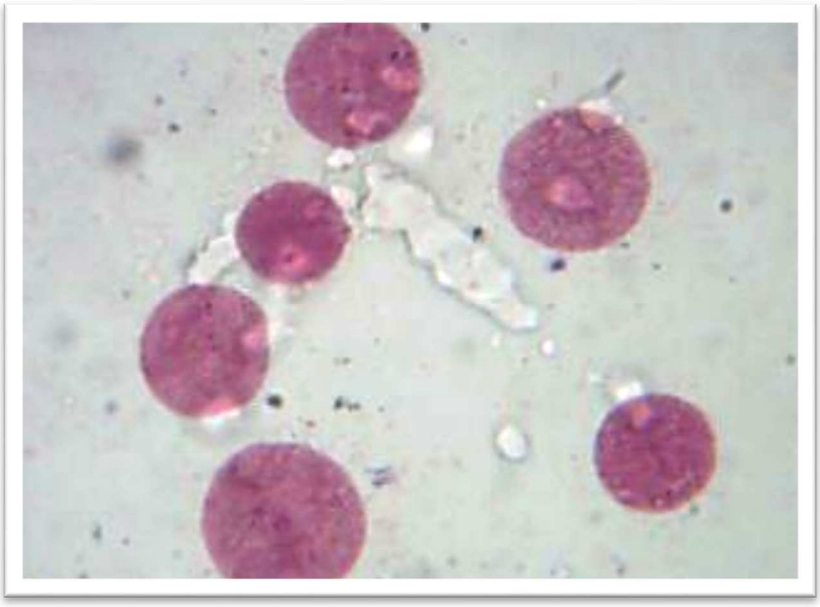
(1600 X، صبغة جمزا)

4-1-2 معامل الانقسام الخلوي ومعامل الأرومة الليفية Mitotic and Blast index

تم حساب معدل معامل الانقسام الخلوي (MI) ومعامل الأرومة الليفية (BI) قبل العلاج الكيميائي، وقد أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (4-1) بصورة عامة وجود زيادة معنوية ($p< 0.05$) في متوسط معامل الانقسام الخلوي لدى الذكور (8.32) مقارنة بعينة السيطرة (2.29) والإناث (7.75) مقارنة بالعينة القياسية (2.14) .وأظهرت النتائج الموضحة في جدول (4-1) شكل (3-4) بصورة عامة وجود زيادة معنوية ($p<0.05$) في متوسط معامل التحسس لدى الذكور (61 . 19) مقارنة بالعينة القياسية (25 .11).

أما الإناث فقد بلغ معدل معامل الانقسام (18.04) مقارنة بالعينة القياسية وبينت النتائج الموضحة في جدول (2-4) بصورة عامة وجود زيادة معنوية ($p<0.05$) في متوسط معامل الانقسام الخلوي لدى الذكور (5.70) مقارنة بالعينة القياسية (2.29)إما في الإناث (5.43) مقارنة بالعينة القياسية (2.14).

كانت الزيادة معنوية ($p <0.01$) في متوسط معامل الأرومة الليفية لدى الذكور (49.41) مقارنة بعينة السيطرة (11.25) في حين كانت الزيادة معنوية ($p < 0.05$) في متوسط معامل الأرومة الليفية لدى الإناث (47.30) مقارنة بالعينة القياسية (12.04).



شكل (3-4) الخلايا الارومية المتحسسة لدى إحدى المريضات بعد العلاج الكيميائي

(1600 X، صبغة جمزا)

جدول (4-1) معامل الانقسام الخلوي MI ومعامل التحسس BI لدى الذكور و الإناث المصابين بـ AML قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية

الفئة أو المجموعة	العدد (N)	معامل الانقسام الخلوي MI	معامل التحسس BI
العينة القياسية الذكور	15	2.29 ±0.21	11.25 ±0.60
العينة القياسية الإناث	15	2.14 ±0.151	12.04 ±0.84
الذكور	15	8.32** ±0.31	19.61* ±1.59
الإناث	10	7.75** ±0.351	18.04* ±2.14

المعدل ± الخطأ القياسي

* $p<0.05$

** $p<0.01$

جدول (2-4) معامل الانقسام الخلوي MI ومعامل التحسس BI لدى الذكور و الإناث المصابين بـ AML بعد العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية

الفئة او المجموعة	العدد (N)	معامل الانقسام الخلوي MI	معامل التحسس BI
العينة القياسية الذكور	15	2.29 ±0.21	11.25 ±0.60
العينة القياسية الإناث	15	2.14 ±0.151	12.04 ±0.84
الذكور	15	5.70* ±0.39	49.41** ±2.77
الإناث	15	5.43* ±0.351	47.30* ±2.46

المعدل ± الخطأ القياسي

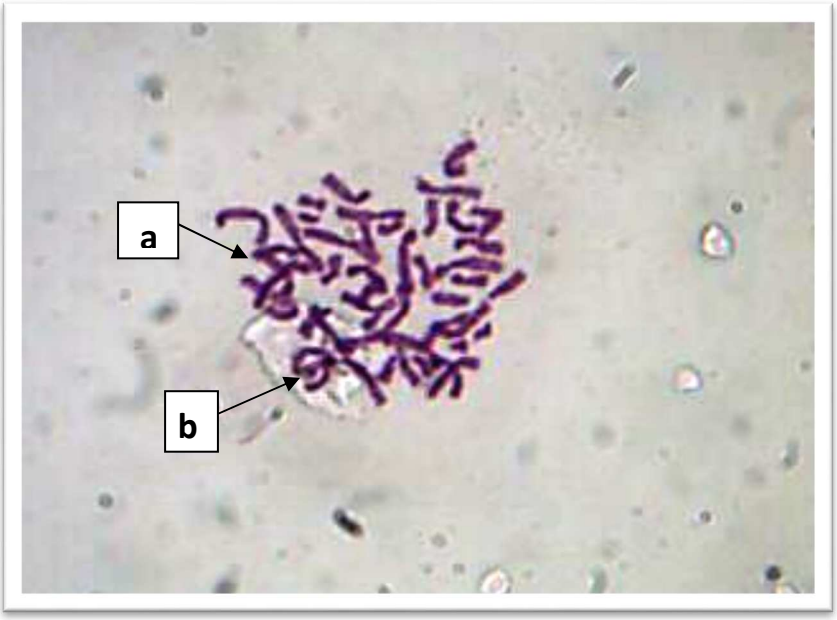
$p<0.05$*

$p<0.01$**

4-1- 3 التشوهات الكروموسومية Chromosomal abnormalities

تم حساب النسبة المئوية للتشوهات الكروموسومية لـ (30) مريضا بعد العلاج الكيميائي وقد أظهرت النتائج الموضحة في جدول (4-3) بصورة عامة وجود زيادة معنويـــــــــة ($p < 0.01$)في النسبة المئوية للكروموسوم الحلقي (14.70) (شكل4-4-b) التقاء النهايات الكروموسومية (4.94) (شكل 4-4- أ) ، إشكال كروموسومية شاذة (47.11) (شكل 4-4) و(شكل 4-5) ، نقصان المجموعة الكروموسومية (13.23) (شكل 4-6) وفرط المجموعة الكروموسومية (19.52) (شكل 4-7) مقارنة بعينة السيطرة (0.0) ،في حين كانت نسبة التشوهات لدى الإناث اقل من الذكور بصورة عامة وكانت معنوية ($p < 0.05$) للكروموسوم الحلقي (2.61) ، وكروموسومات مجزأة (1.15) (شكل 4-8) مقارنة بالعينة القياسية ، إشكال كروموسومية شاذة (8.76) (شكل 4-9) ، نقصان المجموعة الكروموسومية (8.38) وفرط المجموعة الكرموسومية (11.76) مقارنة بالعينة القياسية .

- أ-



- ب-

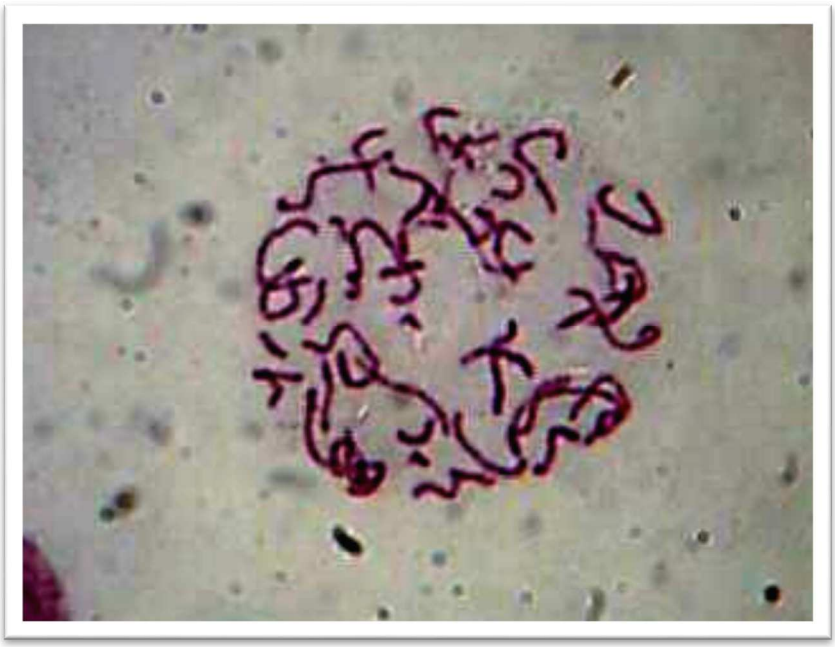
شكل (4-4) اشكال كروموسومية شاذة لكروموسومات الطور الاستوائي (Metaphase) لخلايا الدم اللمفاوية لمرضى بعد العلاج الكيميائي .

أ- التقاء النهايات الكروموسومية .

ب – (a) التصاقات كروموسومية ، (b) كروموسوم حلقي .

(1600 X، صبغة جمزا)

- أ -



- ب-

شكل (4-5) اشكال كروموسومية شاذة لكروموسومات الطور الاستوائي (Metaphase) لخلايا الدم اللمفاوية لمرضى بعد العلاج الكيميائي .

أ- تكثف غير تام مع تطاول كروموسومي.

ب -تكثف بسيط جداً مؤدياً إلى تكوين أشكال كروموسومية خيطية غير منتظمة.

(1600 X، صبغة جمزا)

شكل (6-4) قلة المجموعة الكروموسومية لخلايا الدم اللمفاوية لأحد المرضى بعد العلاج الكيميائي .

(1600 X، صبغة جمزا)

شكل (7-4) تكثف شديد مع قصر كروموسومي وفرط المجموعة الكروموسومية لخلايا الدم اللمفاوية لاحد المرضى بعد العلاج الكيميائي .

(1600 X، صبغة جمزا)

شكل (4-8) كروموسومات متجزأة خلال الطور الاستوائي لخلايا الدم اللمفاوية لأحدى المريضات بعد العلاج الكيميائي .

(1600 X، صبغة جمزا)

شكل (4-9) التصاق سنترومیري للكروموسومات المتناظرة في الطور الاستوائي (Metaphase) لخلايا الدم اللمفاوية لمرضى بعد العلاج الكيميائي .

(1600 X، صبغة جمزا)

4- 2 الدراسة البايولوجية الجزئية Molecular Studies

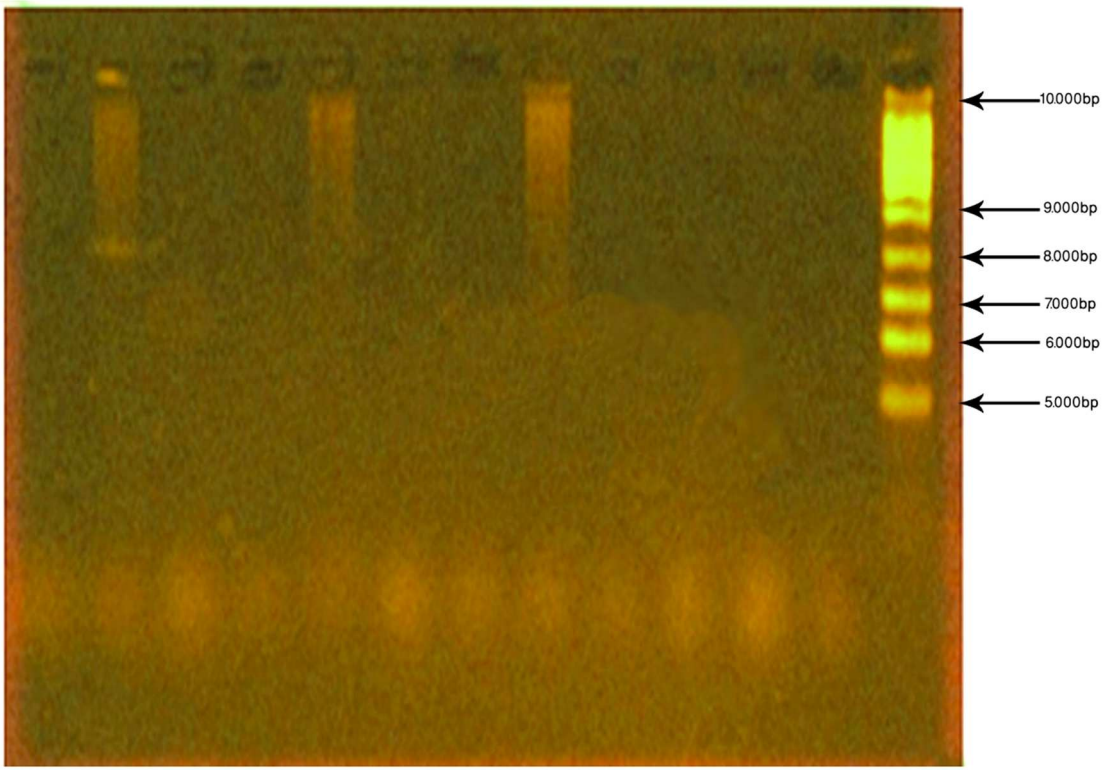
4-2- 1 دراسة الطفرات لجين Fms-like Tyrosine kinase FLT3

تم تحديد جين الـ FLT3 الطافر في مرضى اللوكيميا قبل وبعد العلاج الكيميائي ممن لديهم تغيرات كروموسومية ومن ليس لديهم وأظهرت نتائج الدراسة الحالية شكل (4-10) حدوث طفرة لثلاث مرضى فقط ، مجال رقم (5) مريض لوكيميا ليس لديه تغيرات كروموسومية بعد العلاج الكيميائي ، مجال رقم (2) مريض لوكيميا لديه تغير في الهيأة الكروموسومية (9:22) t (45,XY , بعد العلاج الكيميائي ومجال رقم (8) مريض لوكيميا لديه تغير في الهيأة الكروموسومية (1) del , (1-) ,45,XY قبل العلاج الكيميائي والحجم الجزيئي لكل هذه الطفرات كان 10.000 bp زوج قاعدي.

4-2-2 دراسة الطفرات لجين MLL Mixed linage leukemia

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تحديد الجين الطافر الـ MLL لخمس من النساء ويلاحظ من الشكل (4-11) تحديد رقم (5) مريض لوكيميا ليس لديه تغيرات كروموسومية بعد العلاج الكيميائي ولديه ايضا طفرة في جين FLT3 ، مجال رقم (6) ، (7) مريض لوكيميا ليس لديه تغيرات كروموسومية قبل العلاج الكيميائي ، مجال رقم (9) مريض لوكيميا ليس لديه تغيرات كروموسومية قبل العلاج الكيميائي ومجال رقم (8) مريض لوكيميا تغير في الهيأة الكروموسومية (1) del , (-1) , 45,XY قبل العلاج الكيميائي وفي نفس الوقت لديه طفرة في جين الـ FLT3 والحجم الجزيئي للحزمة في عينة رقم (8) هو 10.000 bp زوج قاعدي بينما بلغ الحجم الجزيئي لكل من المجالات (5)،(6)،(7)،(9) 8.000bp زوج قاعدي .

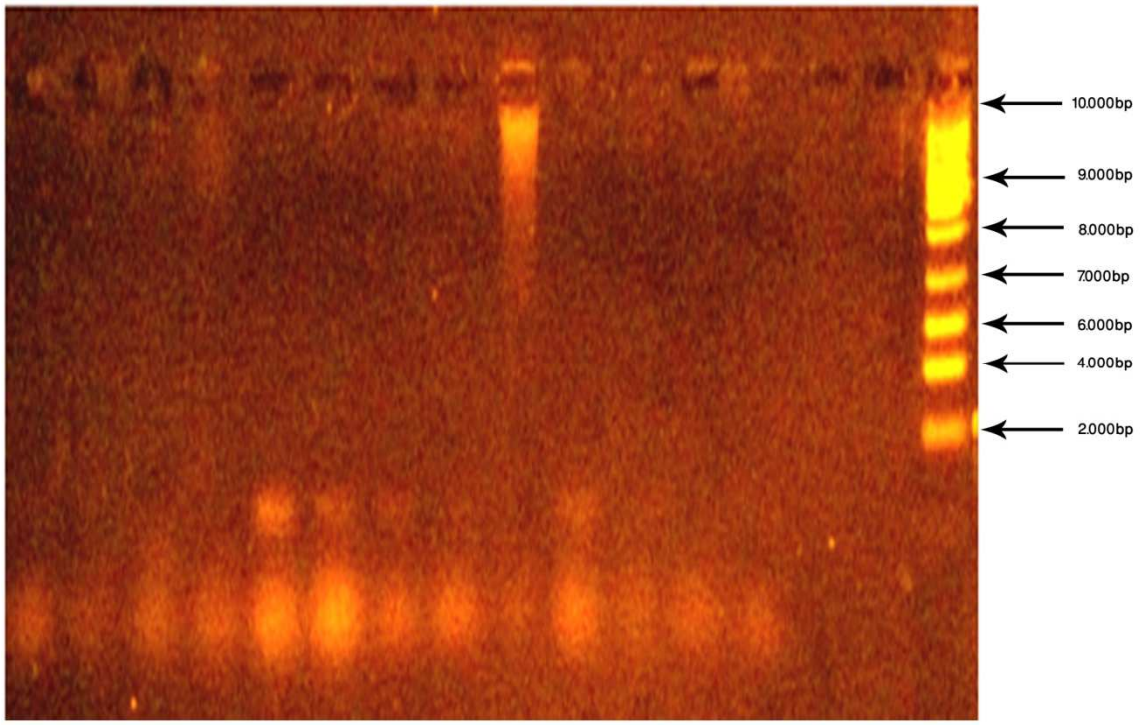
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13



شكل (4-10) الترحيل الكهربائي لناتج تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لجين FLT3 لمرضى AML .

- **المجال (1,3,4) مرضى لوكيميا مع هيأة كروموسومية طبيعية بعد العلاج الكيميائي .**
- **المجال (2) مريض لوكيميا مع هيأة كروموسومية غير طبيعية (9:22)t,XY,45 ويلاحظ حدوث طفرة لجين FLT3بعد العلاج الكيميائي .**
- **المجال (5) مريض لوكيميا مع هيأة كروموسومية طبيعية وحدوث طفرة لجين FLT3قبل العلاج الكيميائي .**
- **المجال (8) مريض لوكيميا مع هيأة كروموسومية غير طبيعية (1) del, (-1),XY,45 ويلاحظ حدوث طفرة لجين FLT3 قبل العلاج الكيميائي .**
- **المجال (6,7,9,10,11) مرضى لوكيميا مع هيأة كروموسومية طبيعية قبل العلاج الكيميائي .**
- **المجال (12) عينة السيطرة .**
- **المجال (13) DNA Ladar .**

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16



شكل (4-11) الترحيل الكهربائي لناتج تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لجين MLL لمرضى AML .

- **المجال (1,2,3,4) مرضى لوكيميا مع هيأة كروموسومية طبيعية بعد العلاج الكيميائي .**

- **المجال (5) مريض لوكيميا مع هيأة كروموسومية طبيعية وحدوث طفرة لجين MLL بعد العلاج الكيميائي .**

- **المجال (6) ، (7) مرضى لوكيميا مع هيأة كروموسومية طبيعية وحدوث طفرة لجين MLL قبل العلاج الكيميائي .**

- **المجال (8) مريض لوكيميا مع هيأة كروموسومية غير طبيعية 45,XY,(-1) ,del (1) ويلاحظ حدوث طفرة لجين MLL قبل العلاج الكيميائي .**

- **المجال (9،10) مريض لوكيميا مع هيأة كروموسومية طبيعية قبل العلاج الكيميائي .**

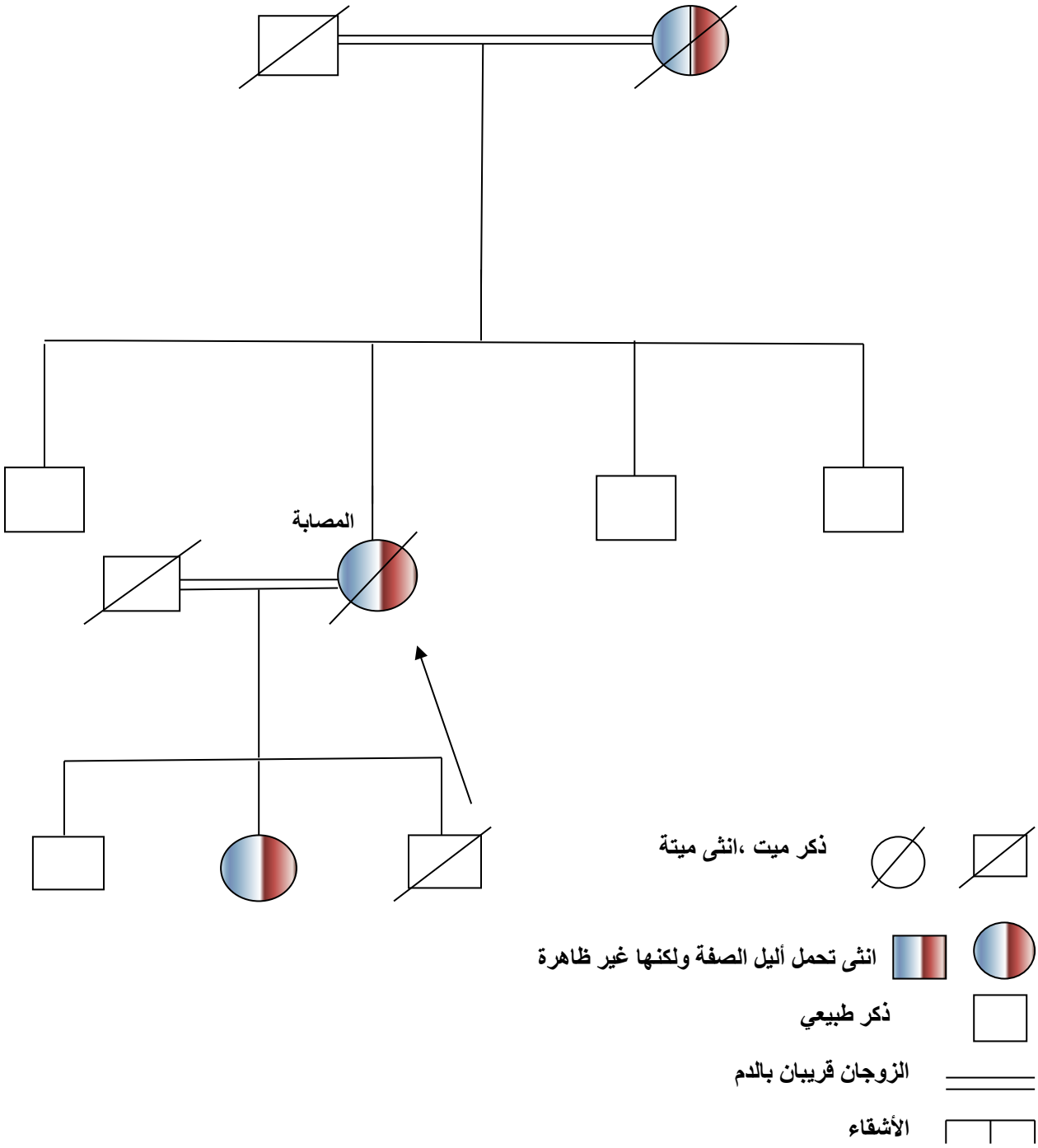
- **المجال (11,12,13) مريض لوكيميا مع هيأة كروموسومية طبيعية بعد العلاج الكيميائي .**

- **المجال (14,15) عينة السيطرة .**

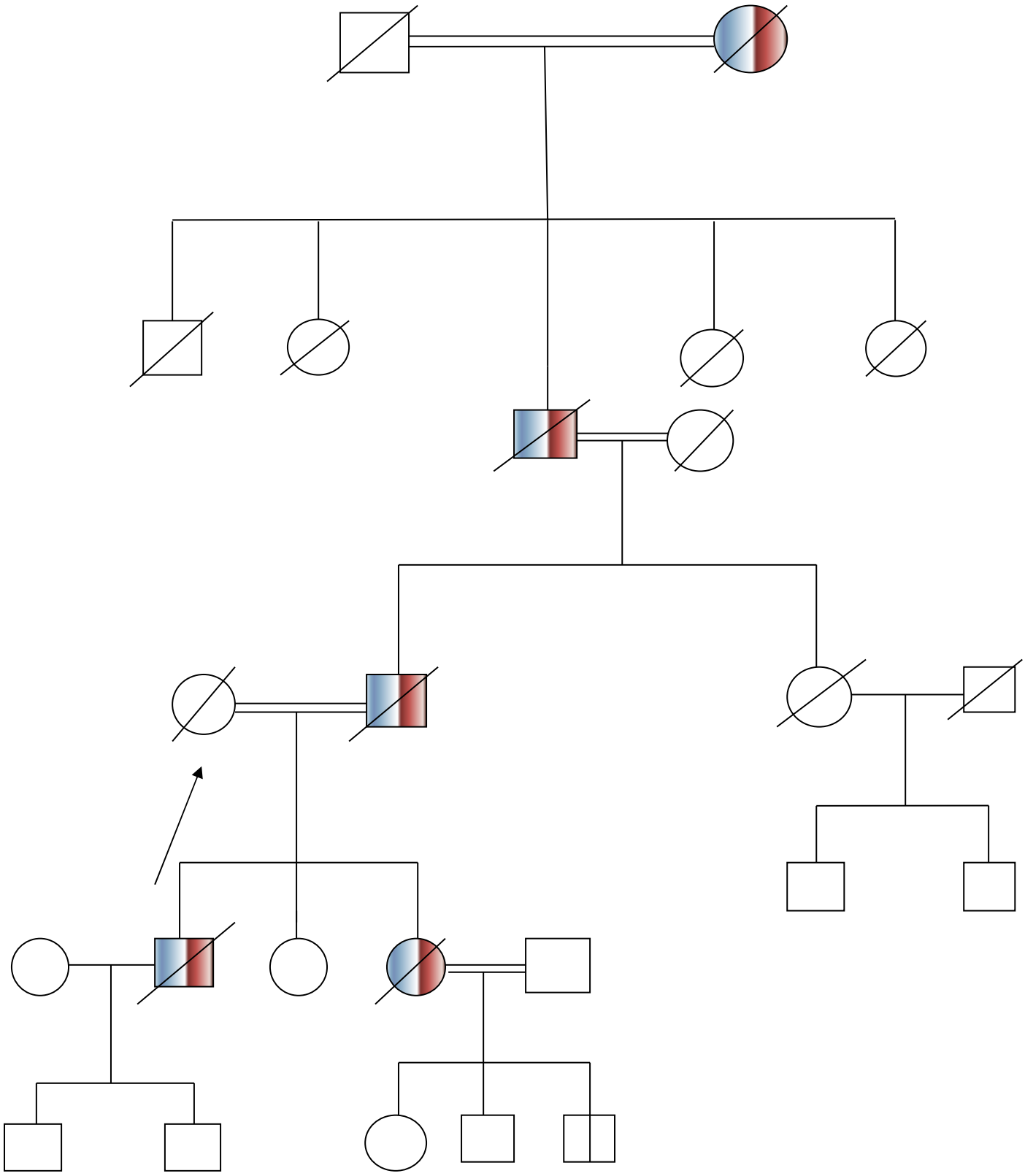
- **المجال (16) DNA Ladar .**

3-4 تحليل سجلات النسب pedigree analysis

تم تحليل سجلات النسب لعائلتين من المرضى كما موضح في الشكل (4-12) ،(4-13).



شكل (4-12) تحليل سجلات النسب لأحد المريضات بعد العلاج الكيميائي



شكل (4-13) تحليل سجلات النسب لأحد المرضى قبل العلاج الكيميائي

4-4 الدراسة الفسلجية : physiological study

4-4-1 مستويات هرمون الاريثروبيوتين EPOوالببتيد الاذيني الصوديومي ANP والالبومين المجهري البولي

درست عدد من المعايير الفسلجية للمرضى قبل وبعد العلاج الكيميائي ومقارنتها بالعينة القياسية اذ أظهرت نتائج الدراسة الحالية الموضحة في جدول (4-4) زيادة معنوية ($p< 0.01$) في متوسط مستويات هرمون الاريثروبايوتين (82.84) مقارنة بالعينة القياسية (14.04) ومتوسط مستويات هرمون الـ ANP (52.61) مقارنة بالعينة القياسية (8.96) ومتوسط مستويات الالبومين المجهري البولي(35.33) مقارنة بالعينة القياسية (0) لدى الذكور قبل العلاج ،وبينت النتائج وجود زيادة معنوية ($p < 0.05$) في متوسط مستويات هرمون الاريثروبايوتين (81.88) مقارنة بالعينة القياسية (10.45) ومتوسط مستويات هرمون الـ ANP (42.02) مقارنة بالعينة القياسية (8.58) ومتوسط مستويات الالبومين المجهري البولي(32.0) مقارنة بالعينة القياسية (0) لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي .وانخفضت النتائج في الإناث عنها في الذكور.

وقد أظهرت النتائج الموضحة في جدول (4-5) وجود زيادة معنوية ($p < 0.01$) كبيرة في متوسط مستويات هرمون الاريثروبايوتين (100.56) ومتوسط مستويات هرمون الـ ANP (53.01) ومتوسط مستويات الالبومين المجهري البولي(61.76) مقارنة بالعينة القياسية لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي . وبينت النتائج وجود زيادة معنوية ($p < 0.05$) في متوسط مستويات هرمون الاريثروبايوتين (91.51) ومستويات الالبومين المجهري البولي(59.23) مقارنة بالعينة القياسية وزيادة معنوية ($p < 0.01$) في متوسط مستويات هرمون الـ ANP (52.67) مقازنة بالعينة القياسية لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي .وانخفضت النتائج في الاناث عنها في الذكور.

جدول (4-4) مستويات هرمون الاريثروبايوتين ,مستويات هرمون الـ ANP ومستويات الالبومين المجهري البولي لدى الذكور و الإناث المصابين بـ AML قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية

المجموعة او الفئة	العدد (N)	مستويات هرمون الاريثروبايوتين mIU/ml	مستويات هرمون الـANP pg/ml	مستويات الالبومين المجهري البوليmg/l
العينة القياسية الذكور	15	14.04 ±0.99	8.96 ±0.99	0
العينة القياسية الاناث	15	10.45 ±1.32	8.58 ±1.01	0
الذكور	15	82.84** ±4.61	52.61** ±4.03	35.33** ±4.56
الاناث	10	81.88* ±5.6	42.02* ±4.14	32.0* ±4.8

المعدل ± الخطأ القياسي

$p<0.05$ *

$p<0.01$**

جدول (5-4) مستويات هرمون الاريثروبايوتين ,مستويات هرمون الـ ANP ومستويات الالبومين المجهري البولي لدى الذكور و الإناث المصابين بـAML بعد العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية

المجموعة او الفئة	العدد (N)	مستويات هرمون الاريثروبايوتين mIU/ml	مستويات هرمون الـ pg/ml ANP	مستويات الالبومين المجهري البوليmg/l
العينة القياسية الذكور	15	14.04 ±0.99	8.96 ±0.99	0
العينة القياسية الاناث	15	10.45 ±1.32	8.58 ±1.01	0
الذكور	15	100.56** ±4.6	53.01** ±2.4	61.76** ±4.13
الاناث	10	91.51* ±5.06	52.67** ±3.9	59.23* ±2.3

المعدل ± الخطأ القياسي

p<0.05 *

p<0.01**

4-4-2 مستويات الحديد ،قابليـــة ارتباط الحديد الكلية ومستـويات الفيـتريتين

Levels of Iron ,Total iron Binding capacity and Ferritin

أظهرت النتائج الموضحة في جدول (4-6) وجود انخفاض معنوي ($p < 0.01$) في مستويات الحديد (46.94) مقارنة بالعينة القياسية (67.79) وقابلية ارتباط الحديد الكلية (225.09) مقارنة بالعينة القياسية (325.78) وزيادة معنوية ($p < 0.01$) في مستويات الفيرتين (443.12) مقارنة بالعينة القياسية (130.40) لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي . بينت النتائج وجود انخفاض معنوي ($p <0.01$) في مستويات الحديد (34.26) مقارنة بالعينة القياسية (88.63) وقابلية ارتباط الحديد الكلية (179.23) مقارنة بالـعينة القياسية (297.50) وزيادة معنوية ($p< 0.01$) في مستويات الفيريتين (218.70) مقارنة بالـعينة القياسية (114.36) لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي .

أظهرت النتائج الموضحة في جدول (4-7) وجود انخفاض معنوي ($p< 0.01$) في مستويات الحديد (40.24) وقابلية ارتباط الحديد الكلية (197.95) مقارنة بالعينة القياسية وارتفاع معنوي ($p < 0.01$) في مستويات الفيرتين (290.9) مقارنة بالعينة القياسية لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي . وكان الانخفاض معنويا ($p < 0.01$) في مستويات الحديد (26.76) وقابلية ارتباط الحديد الكلية (200.28) وارتفاع متوسط مستويات الفيرتين (170.74) وكان هذا الارتفاع معنويا ($p < 0.01$) مقارنة بالعينة القياسية لدى الإناث بعد العلاج الكيميائي .

4-4-3 العدد الكلي والتفريقي لكريات الدم البيض وعدد الصفيحات الدموية

Total ,differential count of WBCs and platelets count

بينت النتائج الموضحة في جدول (4-8) وجود ارتفاع معنوي ($p< 0.01$) في معدل العدد الكلي لكريات الدم البيض (8363.78) ومعدل الخلايا الليمفاوية (37.33) ومعدل الخلايا الحمضة (0.86) وارتفاع معدل الخلايا القعدة (0.33) معنويا $p < 0.05$ بينما انخفضت معنويا 0.01 p معدلات الخلايا العدلة (58.73) ومعدلات الصفيحات الدموية (72.46) لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي . أظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي $p< 0.01$ في معدل الخلايا الليمفاوية (36.80) مقارنة بالعينة القياسية (34.80) ومعدل الخلايا العدلة (58.50) مقارنة بالعينة

القياسية (58.20) ومعدل الخلايا الحمضة (1.10) مقارنة بالعينة القياسية (1.06) ومعدل الخلايا القعدة (0.60) مقارنة بالعينة القياسية (0.0) .

بينما كان الانخفاض معنويا $p< 0.01$ في معدل الصفيحات الدموية (61.60) مقارنة بالعينة القياسية (414.4) ومعدل الخلايا الوحيدة (3.70) مقارنة بالعينة القياسية (4.46) ومعدل العدد الكلي لكريات الدم البيض (5914.54) مقارنة بالعينة القياسية (6520) لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي .

أظهرت النتائج الموضحة في جدول (4-9) انخفاض معنوي $p< 0.01$في معدل العدد الكلي لكريات الدم البيض (6451.76) مقارنة بالعينة القياسية (6983.33) ومعدل الخلايا العدلة (55.88) مقارنة بالعينة القياسية (60.46) ومعدل الصفيحات الدموية (37.61) مقارنة بالعينة القياسية (231.26) بينما كان الارتفاع معنويا $p <0.01$ في معدل الخلايا الليمفاوية (37.05) مقارنة بالعينة القياسية (34.93) ومعدل الخلايا الوحيدة (4.11) مقارنة بالعـينة القياسية (3.33) ومعدل الخلايا الحمضة (3.29) مقارنة بالعينة القياسية (0.80) لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي .

بينت النتائج الموضحة في الجدول اعلاه وجود انخفاض معنوي $p < 0.01$ في معدل العدد الكلي لكريات الدم البيض (6484.6) مقارنة بالعينة القياسية (6520) ومعدل الخلايا الـعدلة (55.88) مقارنة بالعينة القياسية (58.20) ومعدل الصفيحات الدموية (41.05) مقارنة بالعينة القياسية (414.4) فيما كان الارتفاع معنويا $p< 0.01$ في معدل الخلايا الليمفاوية (36.53) مقارنة بالعينة القياسية (34.80) ومعدل الخلايا الوحيدة (4.84) مقارنة بالـعينة القيـاسية (4.46) ومعدل الخلايا الحمضة (3.33) مقارنة بالعينة القياسية (1.06) لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي .

جدول (4-6) مستويات الحديد ,قابلية ارتباط الحديد الكلية ومستويات الفيريتين لدى الذكور و الإناث المصابين بـAML قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية

المجموعة أو الفئة	العدد (N)	مستويات الحديد Iron mg/dl	قابلية ارتباط الحديد الكلية TIBC mg/dl	مستويات الفيريتين ng/ml
العينة القياسية الذكور	15	67.79 ±1.29	325.78 ±15.66	130.40 ±18.2
العينة القياسية الإناث	15	88.63 ±10.14	297.50 ±13.5	114.36 ±20.36
الذكور	15	46.94** ±2.49	225.09** ±15.1	443.12** ±40.4
الإناث	10	34.26** ±2.86	179.23** ±5.21	218.70** ±9.79

المعدل ± الخطأ القياسي

$p<0.05$ *

$p<0.01$**

جدول (7-4) مستويات الحديد ,قابلية ارتباط الحديد الكلية ومستويات الفيريتين لدى الذكور و الإناث المصابين بـAML بعد العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية

المجموعة او الفئة	العدد (N)	مستويات الحديد Iron mg/dl	قابلية ارتباط الحديد الكلية TIBC mg/dl	مستويات الفيريتين ng/ml
العينة القياسية الذكور	15	**67.79** ±1.29	**325.78** ±15.66	**130.40** ±18.2
العينة القياسية الإناث	15	**88.63** ±10.14	**297.50** ±13.5	**114.36** ±20.36
الذكور	15	**40.24**** ±1.96	**197.95**** ±5.55	**290.9**** ±23.6
الإناث	10	**26.76**** ±2.55	**200.28*** ±7.22	**170.74*** ±7.33

المعدل ± الخطأ القياسي

$p<0.05$ *

$p<0.01$**

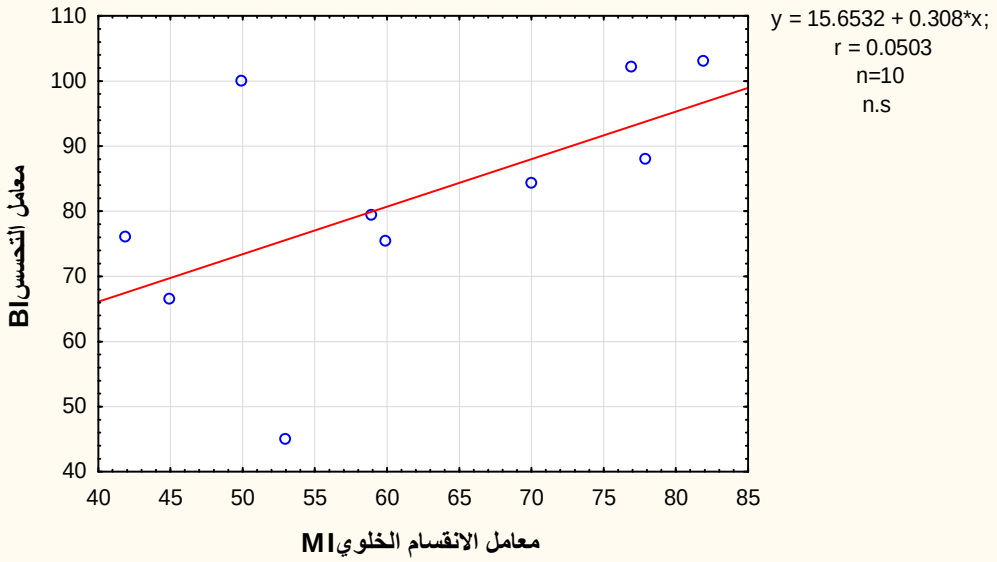
4-4- 4 العلاقات بين بعض المعايير الوراثية والفسلجية

أظهرت نتائج الدراسة الحالية كما موضح في شكل(4- 14)وجود علاقة ارتباط غير معنوية (r=0.0503) بين معامل الانقسام الخلوي ومعامل التحسس لدى الإناث بعد العلاج الكيميائي بينما كانت علاقة الارتباط معنوية ($p < 0.05$) شكل (4- 15) حيث كانت قيمة معامل الارتباط (r=0.592) بين معامل الانقسام الخلوي ومعامل التحسس لدى الإناث بعد العلاج الكيميائي.بينت نتائج الدراسة الحالية شكل (4- 16) وجـــود عـــلاقة ارتبـــاط معنوية ($p < 0.05$)حيث كانت قيمة معامل الارتباط (r=0.615) بين مستويات هرمون الـ ANP (pg/ml) ومستويات البروتين البولي (ml/l) لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي وكانت علاقة الارتباط غيرمعنوية شكل (4- 17) حيث كانت قيمة معامل الارتباط (r=0.433) بين مستويات هرمون الـ ANP ومستويات الالبومين المجهري البوليلدى الإناث بعد العلاج الكيميائي .

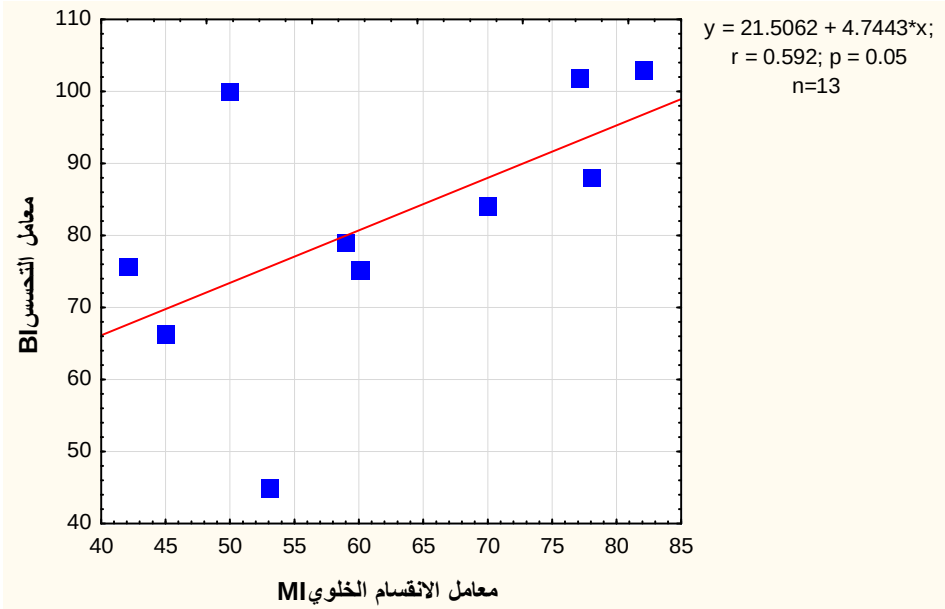
أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود علاقة ارتباط غير معنوية (r=0.584) بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين (mIU/ ml) لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي بينما كانت علاقة الارتباط معنوية ($p < 0.01$) شكل (4- 19) حيث كانت قيمة معامل الارتباط (r=0.751) بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين (mIU/ml)لدى الإناث بعد العلاج الكيميائي .

وكانت علاقة الارتباط معنوية ($p < 0.05$) شكل (4-20) حيث كانت قيمة معامل الارتباط (r=0.527) بين مستويات الفيرتين (ng/ml)وقابلية ارتباط الحديد الكلية (mg/ dl) لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي بينما كانت علاقة الارتباط غير معنوية (r=0.141) شكل(4-21) بين مستويات الفيرتين وقابلية ارتباط الحديد الكلية لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي.

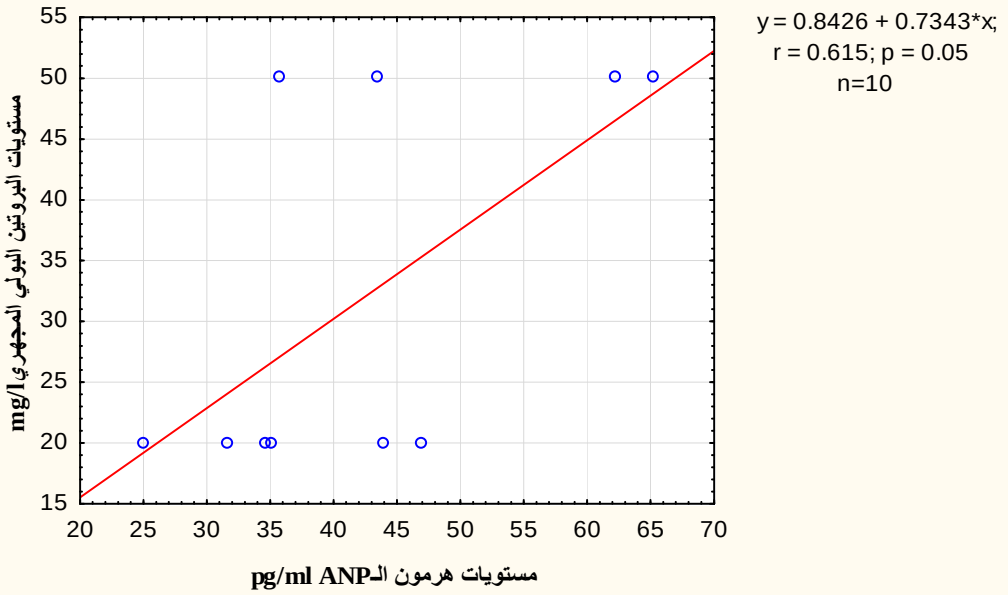
أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود علاقة ارتباط معنوية ($p < 0.05$) شكل (4-22) حيث كانت قيمة معامل الارتباط (r=0.498) بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين(mIU /ml) لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي بينما كانت علاقة الارتباط غير معنوية (r=0.089) شكل (4-23) بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي .



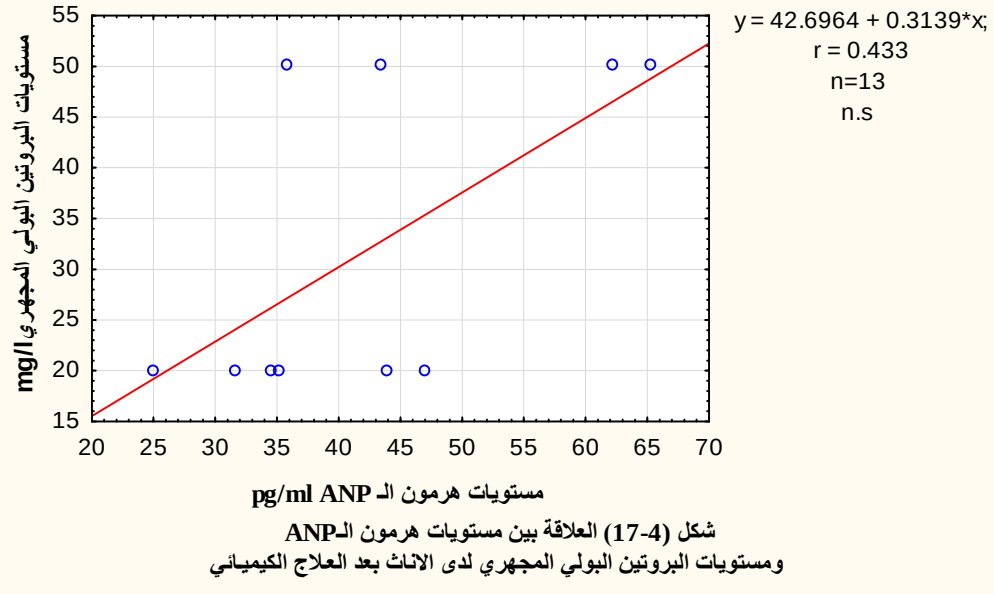
شكل (4-14) العلاقة بين معامل الانقسام الخلوي ومعامل التحسس لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي



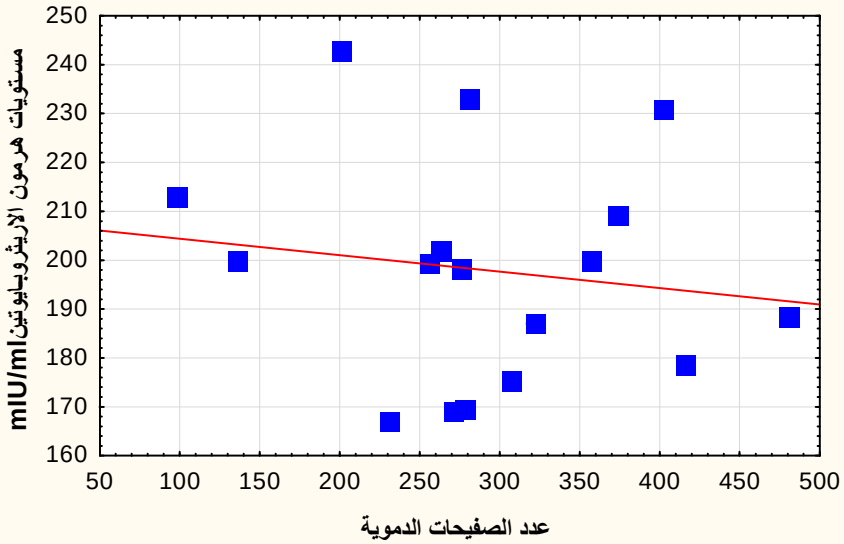
شكل (4-15)العلاقة بين معامل الانقسام الخلوي ومعامل التحسس لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي



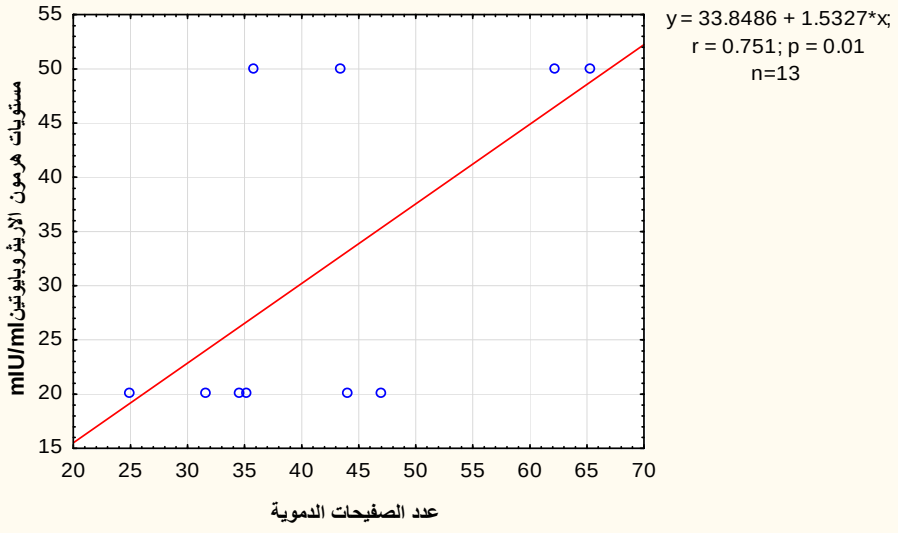
شكل (4-16) العلاقة بين مستويات هرمونANP
ومستويات البروتين البولي المجهري لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي



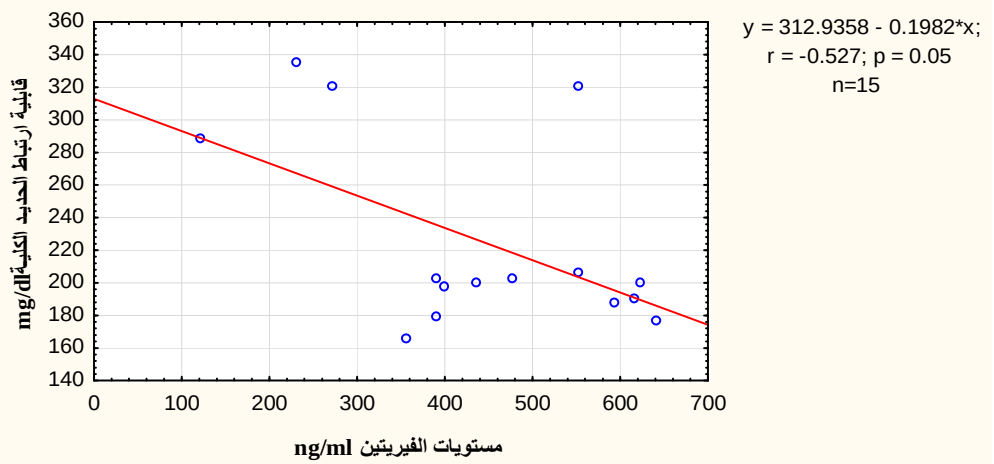
شكل (4-17) العلاقة بين مستويات هرمون الـANP
ومستويات البروتين البولي المجهري لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي



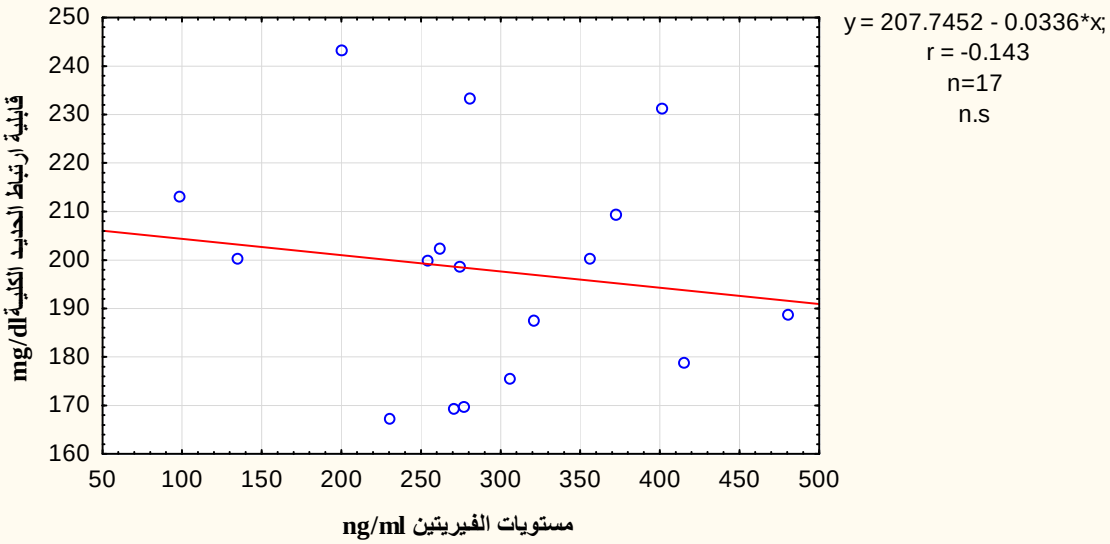
شكل (4-18) العلاقة بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي



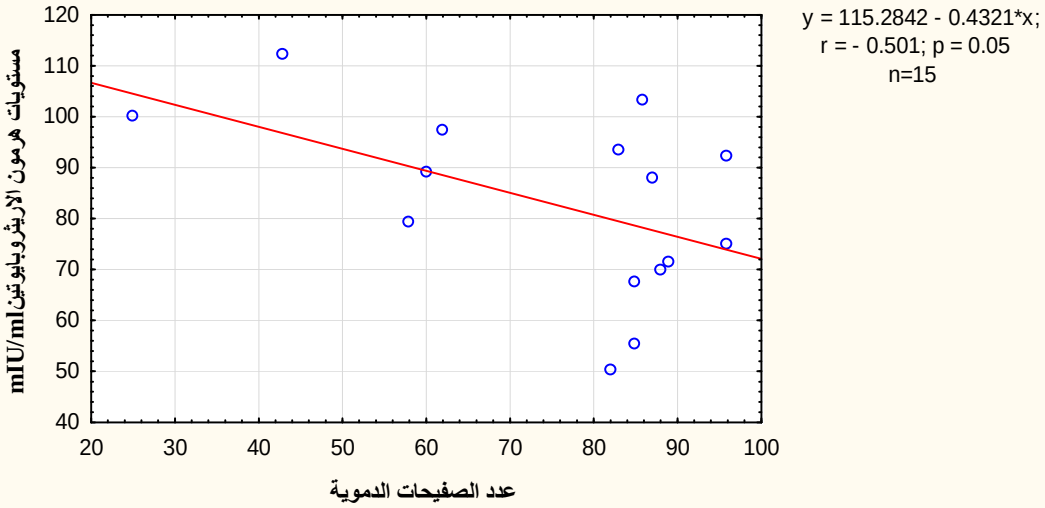
شكل (4-19) العلاقة بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي



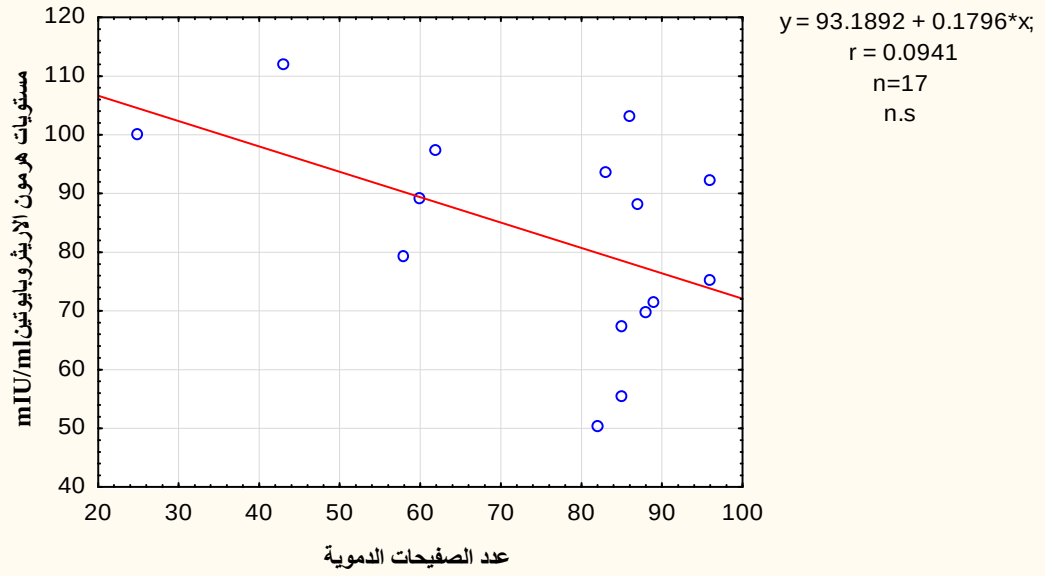
شكل (4-20) العلاقة بين مستويات الفيريتين وقابلية ارتباط الحديد الكلية لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي



شكل (4-21) العلاقة بين مستويات الفيريتين وقابلية ارتباط الحديد الكلية لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي



شكل (4-22) العلاقة بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي



شكل (4-23) العلاقة بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبايوتين لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي

4- 4-5 العلاقات الوراثية الفسيولوجية

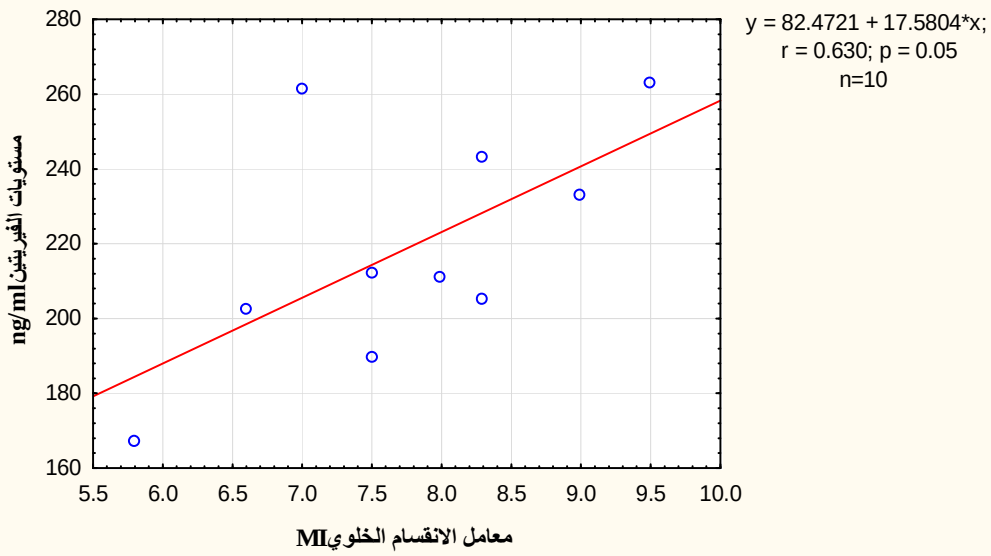
أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود علاقة ارتباط معنوية ($p< 0.05$) (شكل 4-24) كانت قيمة معامل الارتباط ($r=0.630$) بين معامل الانقسام الخلوي ومستويات الفيرتينng /ml لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي ووجود علاقة ارتباط معنوية ($p < 0.01$) (شكل 4-25) حيث كانت قيمة معامل الارتباط ($r=0.793$) بين معامل التحسس ومستويات الالبومين المجهري البوليmg/l لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي .

وبينت الدراسة وجود علاقة ارتباط معنوية ($p < 0.05$) (شكل4- 26) إذ كانت قيمة معامل الارتباط بين معامل التحسس ومستويات الحديدmg /d1 ($r=0.602$) لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي، وبينت الدراسة الحالية وجود علاقة ارتباط معنوية ($p < 0.05$) (شكل 4- 27) حيث كانت قيمة معامل الارتباط بين معامل التحسس وعدد الخلايا الليمفاوية ($r=0.696$) لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي .

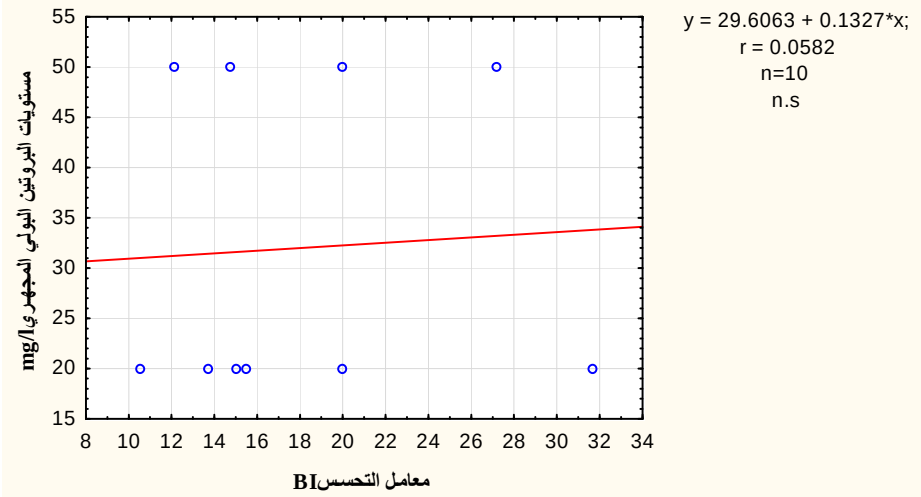
كما أظهرت نتائج الدراسة (شكل 4- 28) وجود علاقة ارتباط معنوية($p < 0.01$) إذ كانت قيمة معامل الارتباط بين معامل التحسس وعدد الخلايا العدلة ($r=0.754$) لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي وبينت الدراسة الحالية وجود علاقة ارتباط معنوية ($p < 0.05$) (شكل 4- 29) إذ كانت قيمة معامل الارتباط معامل التحسس وعدد الخلايا الحمضة($r=0.732$) لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي.

وجدت الدراسة الحالية علاقة ارتباط معنوية ($p < 0.05$) (شكل 4- 30) حيث كانت قيمة معامل الارتباط بين معامل التحسس وعدد الخلايا القعدة ($r=0.628$) لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي وبينت الدراسة وجود علاقة ارتباط معنوية ($p < 0.05$) (شكل 4- 31) إذ بلغت قيمة معامل الارتباط بين معامل الانقسام الخلوي ومستويات الحديد mg /dl ($r=0.538$) لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي.

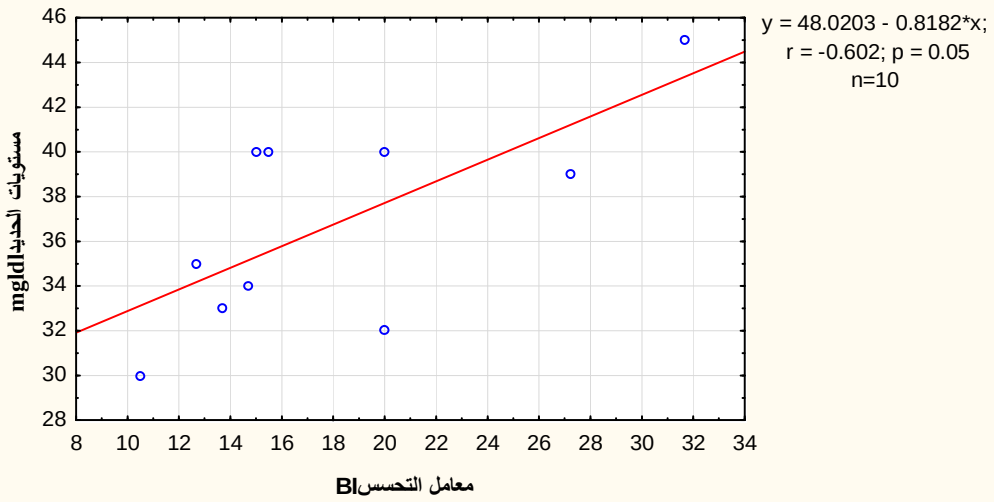
أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود علاقة ارتباط معنوية ($p < 0.01$) (شكل4- 32) حيث كانت قيمة معامل الارتباط بين معامل الانقسام الخلوي وعدد الخلايا الحمضة ($r=0.688$) لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي وكانت علاقة الارتباط معنوية ($p < 0.05$) (شكل 4- 33) حيث كانت قيمة معامل الارتباط بين معامل الانقسام الخلوي ومستويات الحديد($r=0.559$) لدى الإناث بعد العلاج الكيميائي.



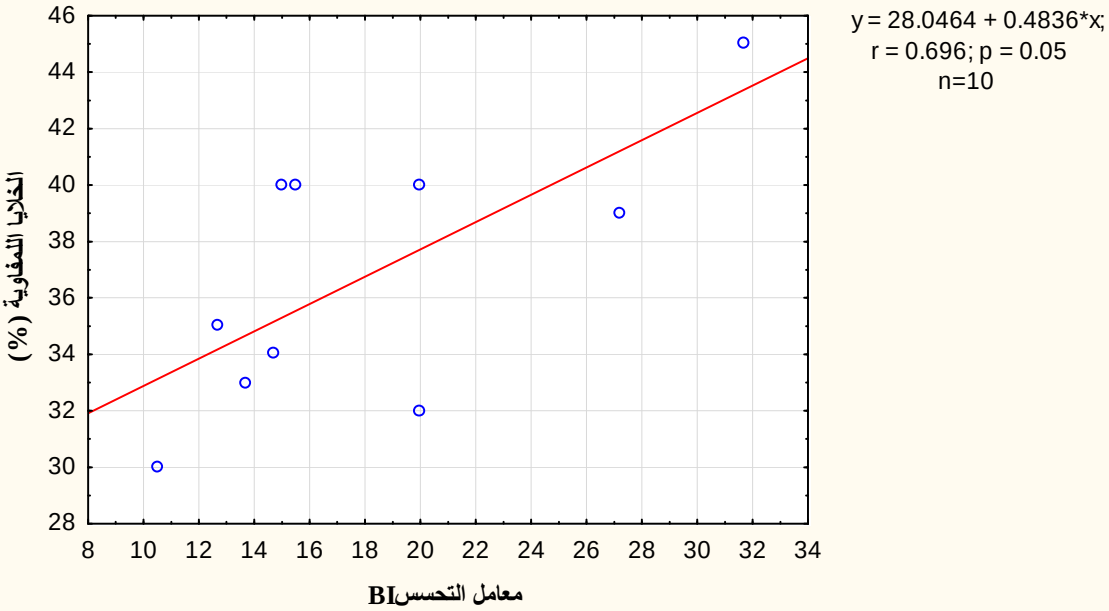
شكل (4-24) العلاقة بين معامل الانقسام الخلوي ومستويات الفيريتين لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي



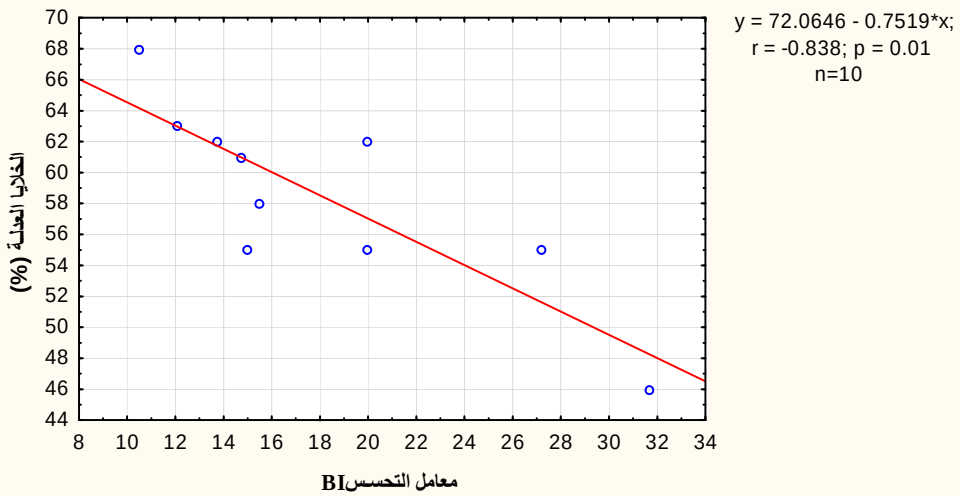
شكل (4-25) العلاقة بين معامل التحسس ومستويات البروتين البولي المجهري لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي



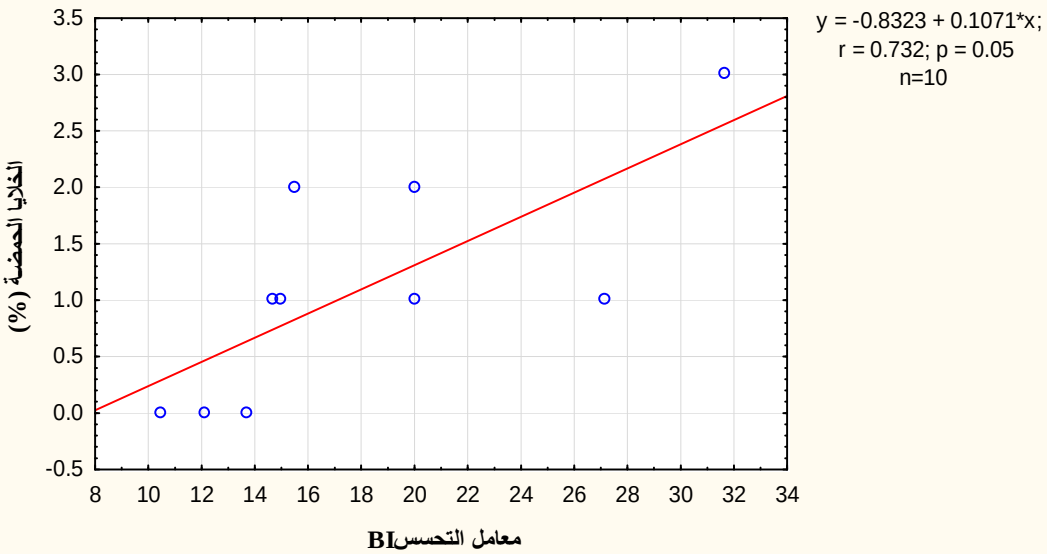
شكل (4-26) العلاقة بين معامل التحسس ومستويات الحديد لدى الاناث قبل العلاج الكيميـائي



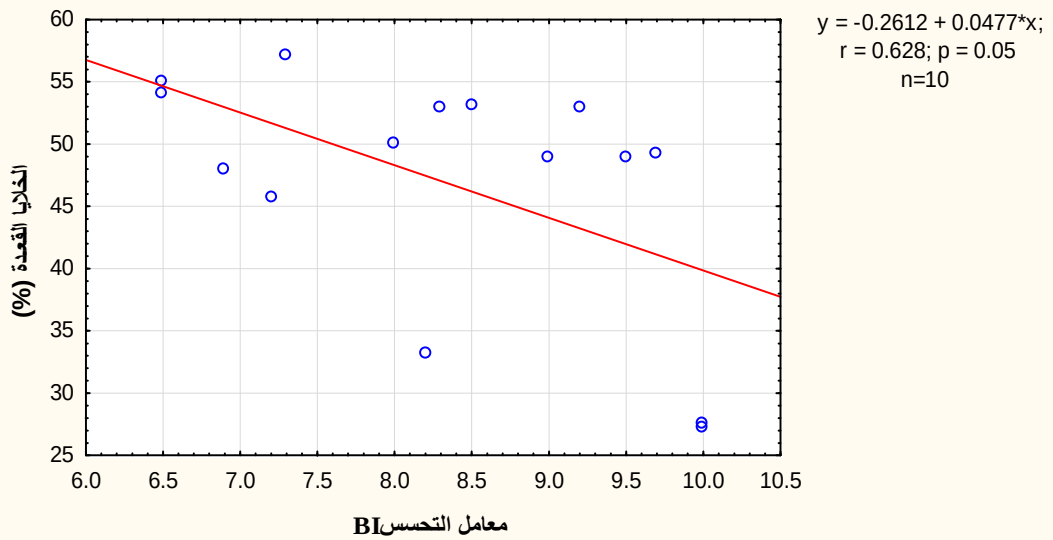
شكل (4-27) العلاقة بين معامل التحسس وعدد الخلايا اللمفاوية لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي



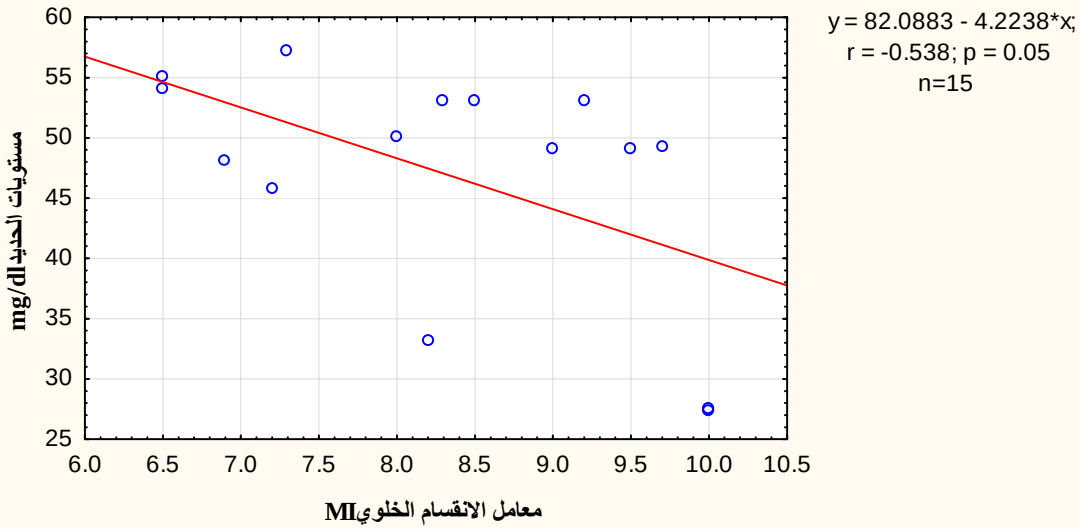
شكل (4-28) العلاقة بين معامل التحسس وعدد الخلايا العدلة لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي



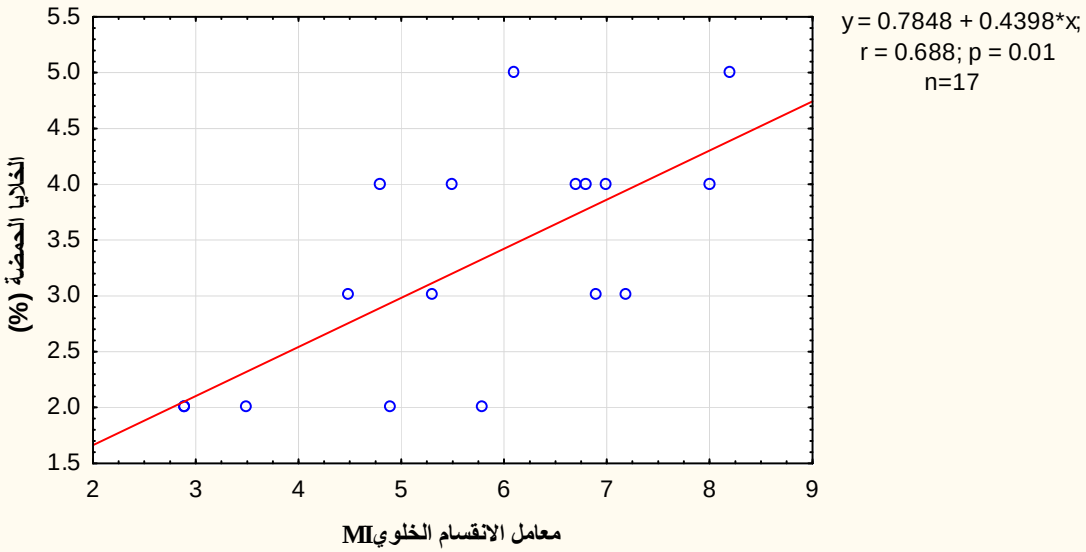
شكل (4-29)العلاقة بين معامل التحسس وعدد الخلايا الحمضة لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي



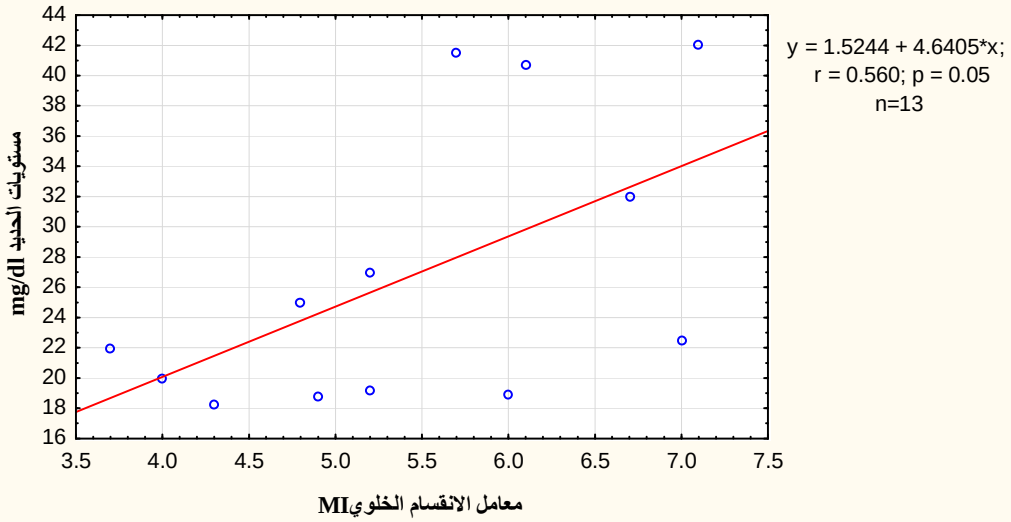
شكل (4-30)العلاقة بين معامل التحسس وعدد الخلايا القعدة لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي



شكل (4-31) العلاقة بين معامل الانقسام الخلوي ومستويات الحديد لدى الذكورقبل العلاج الكيميائي



شكل (4-32) العلاقة بين معامل الانقسام الخلوي وعدد الخلايا الحمضة لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي



شكل (4-33) العلاقة بين معامل الانقسام الخلوي ومستويات الحديد لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي

الفصل الخامس

المناقشة Discussion

تعد التحليلات الوراثية الخلوية من أهم العلامات التي تستخدم للتشخيص الأولي لابيضاض الدم الحاد الـ AML ومن أهم العلامات المستخدمة للدلالة على الاصابة بـهذا المرض هي الانتقالات الكروموسومية chromosomal translocation والانقلابات الكروموسومية chromosomal inversions (Grimwade *et al*.,2009). تختلف الانتقالات الكروموسومية حسب خطورة الاصابة فبعض التغيرات تؤدي الى اصابة عالية مثل الانتقالات بـــين كـــروموسوم 21,8(q22;q22) (8;21)t وانقــلاب بكرومـــوسوم (16) (p13.q22) (16) inv وهناك اصابات متوسطة للمرضى الذين لا تظهر لديهم تغيرات وراثية خلوية بل تغيرات جينية وزيادة في كروموسوم رقم 8 (+8) ،(p22q23) (9,11) t وبعض التغيرات الغير معروفة للان (Dohner *et al*. ,2010) ومنها تغيرات كروموسومية تكون ذات اصابة قليلة، منها نقص في الــــذراع القصير لكروموسوم رقم 5 اونقص الكـروموسوم نفسه (-5,5q-) وانتقال كروموسومي بين (q21q26) (3;3) t وانتقال بين كروموسوم 22,9 (9,22) ويـــرافق هذا النوع من الانـــتــقالات تغيــرات جينـــيـــة وخصوصـــا فـــي مناطق التضاعف المترادف الداخلي internal tandam duplication (ITD) فـــي جيـــن الـــ fms-like tyrosin kinase (FLT3) (Donnell *et al*. ,2010) .

وبينت الدراسة الحالية وجود تغيرات كروموسومية قبل العلاج الكيميائي اذ كانت الهيأة الكروموسومية (1) del ،(-1), XY , 45 شكل (1-4) وهذا يتطابق مع العديد من الدراسات ومنها دراسة Krzgsztof وجماعته(2006)حيث بينت الدراسة من خلال التحليلات الوراثية الخلوية والتي اجريت على 100 مريضا مصابا بـ الـ AML العديد من التغيرات الكروموسومية والتي شخصت على المستوى الجزيئي (q25; q34) (3;5) t بحيث تضمنت حدوث طفرة في جين nucleuphosmin (NPM1) وكذلك (p32;q23) (1;11) t والتي تتضمن حدوث طفرة في جين Mixed linge leukemia (MLL) وكذلك التغيرات الكروموسومية التي تـــعد اكثر شيوعا لمرضى ابيضاض الدم ومنها حدوث حذف في الذراع الطويل لكروموسوم رقـــم (1 (q21) (1) del والتي لم تشخـــص علـــى المستوى الجزيئـــي، وبينت دراســـة (Yaghmaie *et al* .,2009) التي اجريت على 80 مريضا مصابا بالـ AML وجود تغيرات

كروموسومية مختلفة منها انتقال بين كروموسومي 21,8 (8;21) بنسبة 3.7% ، ثلاثية الكروموسوم رقم 8 ، trisomy 8 وانتقال بين كرموسوم (q22; q21) (15;17) t بنسبة 7.4% من مجموع الحالات وظهور هيأة كروموسوم معقـــدة complex karyotype بنسبة 1 % تتطابق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة James (2010) والتي بينت حدوث انواع معقدة من التغيرات الكروموسومية ومنها حدوث انتقال في كروموسوم رقم 3 (q21 q26) (3;3) t ، ونقص في كروموسوم (7-) ، نقص في الذراع الطويل لكروموسوم 7(-7q) .

واظهرت الدراسة الحالية شكل (4- 2) وجود تغيرات في الهيأة الكروموسومية (9:22) t , 45,XY بعد العلاج الكيميائي، إذ إن العلاج الكيميائي يعمل على إيقاف النمو الشاذ للخلايا antineoplastic وتعمل معظم الأدوية الكيمياوية المدمرة للخلايا السرطانية بالتأثير على الدنا DNA بعرقلته وتفتيته وتعطيل تضاعفه وبالتالي إعاقة تسلسل دورة حياة الخلية مثل مرحلة الانقسام والتكاثر والنمو إضافة إلى تقويض وتعطيل عمليات بناء البروتينات داخل الخلايا ،ويختلف كل عقار في طريقة عمله والمرحلة التي يتدخل فيها ويؤثرفي دورة حياة الخلية (Hann *et al*. ,2005).

وفي دراسة Burnett وجماعته (2010) إن هناك علاقة ايجابية بين العلاج الكيميائي وبين حدوث التغيرات الكروموسومية والتي ممكن إن تؤثر أيضا في المستوى الجـزيئي وحـــدوث طفرات في جينات معينـة مثل FLT3 ، NPM1 ، CEBPA ،وهذا يتطابق مع دراسة Hagop وجماعته (2007) والتي تمت على مرضىAM L بعد تقسيمهم الى مجموعتين حسب مدة اخذ العلاج الكيميائي إذ وجدت علاقة ايجابية بين عقار الـ dectitabin وبين اصابة المرضى بمرض Myelodysplastic Syndrome وتطابقت نتائج الدراسة الحـــالية مـــع دراســـة Je وجماعته (2006) والتي بينت حدوث تغيرات كروموسومية لدى المرضى مثل t (4;12) t (9;22) و(del (20q نتيجة جرعات مختـلفة من عقاري الـ daunorubicin والـ cytarabine .

1-5 معامل الانقسام الخلوي ومعامل الارومة الليفية Mitotic and Blast index

معامل الانقسام عبارة عن دليل يحسب كنسبة بين عدد الخلايا التي هي في اطوار الانقسام المختلفة الى عدد الخلايا الكلي المنقسمة وغير المنقسمة (Ghosh *et al*. ,1991). وبينت بعض الدراسات (van *et al*.,2005) وجود عـــلاقة ايـــجابية بيـــن الإصـــابة بســـرطان الثدي (breast cancer) ارتفاع معدل الانقسام الخلوي وهذا يدل على تأثر هذا العامل بالأصابة

بالسرطان بشتى أنواعه وربما يعود السبب إلى النمو غير المسيطر عليه للخلايا وانتشارها وانقسامها بشكل غير طبيعي مما يؤدي إلى حدوث زيادة كبيرة في معدل الانقسام الخلوي وفي الدراسة الحالية جدول (4-1) ارتفعت معدلات الانقسام الخلوي ومعامل التحسس لدى الذكور والإناث مقارنة بالسيطرة ،وبصورة عامة لوحظ إن هذا العامل يرتفع بشكل معنوي عند الإصابة بالإمراض السرطانية (Ghali,2002) .أن أهمية دراسة دليل الانقسام الخلوي تتبلور في إيجاد علامة بيولوجية مبكرة Early Biomarker للكشف عن الإصابة بالسرطان لأن سرعة انقسام الخلايا يعطي فكرة جيدة عن طبيعة الإصابة بالسرطان.

لقد ظهرت الدراسة الحالية جدول(4-2) انخفاض معدلات الانقسام الخلوي لدى الذكور والإناث مقارنة بقبل العلاج الكيميائي ولكنها بقيت مرتفعة مقارنة بالعينة القياسية، ربما يعود السبب إلى إن احد أهداف برنامج العلاج هو لإيقاف سرعة انقسام الخلايا والحد منها عن طريق التداخل العلاجي أو إيقاف تأثير العامل الخارجي في انقسام الخلايا لقد ارتفعت معدلات معامل التحسس لدى الذكور والإناث بعد العلاج الكيميائي مقارنة بقبل العلاج الكيميائي وهذا يدل على إن العلاج الكيميائي يزيد من تمايز الخلايا اللمفاوية وانقسامها لذلك ينخفض عدد الخلايا اللمفاوية وتوقف الخلايا عند مرحلة الخلية الارومية (Rowe *et al.*,2006) ، إذ إن هذا العامل يزداد في حالات الإصابة بسرطانات الدم وخاصة AML (القيسي ،2005). كما أن نتائج الدراسة الحالية تتوافق مع دراسة Mary and Jacob (2007) من حيث إن العلاج الكيميائي يعتبر عاملا مثبطا لإفراز انترلوكين IL-2 المهم في تمايز خلايا T اللمفاوية وبالتالي ازدياد BI لدى المرضى.

2-5 التشوهات الكروموسومية Chromosomal abnormalities

تعمل معظم الأدوية الكيميائية على تدمير الخلايا السرطانية بالتأثير في الـ DNA من خلال عرقلة تضاعفه او تفتيته وبالتالي إعاقة تسلسل دورة حياة الخلية في مراحلها المختلفة ولكن هذه الأدوية تعمل في الوقت نفسه على التأثير في الخلايا الطبيعية ، اذ يختلف كل عقار في طريقة عمله والمرحلة التي يتدخل ويؤثر في دورة حياة الخلية (Amadori *etal* ,2005) وتتطابق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Lucya and Michelle (2007)حيث ازدادت نسبة حدوث التشوهات الكروموسومية المختلفة لدى المرضى بعد العلاج الكيميائي بأستخدام عقار الـ Doxorubicin والـ vin blastin كما موضح فـــي (جدول 4-3) والإشكال (4-4-b) ،(4-4- أ) ،(4-5) ،(4-6) (4-7) ،(4-8) ،(4-9) وتتـــطابق نتائج الـدراسة الحـالية شكل (4-9) مع دراسة Appelbaum and Gundaker (2006) إن بعض الأدوية الكيميائية تعمل على منع الخلايا من الانقسام عن طريق التأثير في خيوط المغزل Spindal Fibers منها عقار الـ vincristine والـ vinblastine وتتطابق نتائج الدراسة الحاليـة شـكل (4 -5 أ-ب) مع دراسة Buccisano وجماعته (2006) حدوث تغيرات كروموسومية لبعض المرضى بعد العلاج الكيميائي ومنها (p23;q23) (9;11) t ،(5q) del-5- بالاضافة إلى ظهور تشوهات كروموسومية واشكـال كـــروموسومية شـاذة. واستخدام عناصر الالكلة alkylating agents مثل عقار الـ cyclophosphamide الذي يتداخل مع عمليات الانقسام ويعمل على احداث تغيرات كروموسومية مختلفة مثل (7q)del/ 7 – في 26% من المرضى بالاضافة الى تأثير هذا العقار في الـ DNA لعمله على تفتيت هيكلية الحامض النووي في كل مراحل دورة حياة الخلية (Estey *et al.* ,2007). وتتوافق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Grimwade وجماعته (2010) حدوث ارتفاع معنوي بنسبة التشوهات الكروموسومية وخاصة الاشكال الكروموسومية الشاذة والكروموسومات الحلقية بعد العلاج الكيميائي بأستخدام عقارات كيميائية مختلفة. وربما يعود سبب حصول هذه التشوهات الى كون العقار الكيميائي كاي مادة سامة تعمل بميكانكيات مختلفة التأثير في المادة الوراثية واحد اهم هذه الميكانيكيات انتاج الجذور الحرة Free radical في الدم تعمل في اكسدة الـ DNA واحداث الكسور الكروموسومية مما يؤدي الى التغيرات التركيبية .

3-5 الدراسة الجزيئية Molecular studies

يلعب جين الـFLT3 دورا مهما في انقسام وتمايز الخلايا الجذعية (stem cell) ومن اكثر الطفرات شيوعا لجين الـ FLT3 هي المضاعفات المترادفة الداخلية (FLT3 / ITD) فقد حددت بعض الدراسات الطفرات التي تحدث لهذا الجين تعتبر من العوامل التشخيصية الاولية للاصابة بالـ AML (Nahla and Thoraya,2010) . وفـي دراسة Hong وجماعته (2007) تبين ان مستويات تعبير جين الـ FLT3 تختلف بأختلاف انواع ابيضاض الدم لدى الكبار وزيادة تعبير جين الـ FLT3 كما ان وجود FLT3/ ITD يعتبر من العلامات السريرية المهمة للاصابة بابيضاض الدم الحادة AML .وبينت الدراسة الحالية شكل (4-10) المجال (2) حـــدوث طفرة لجين FLT3 مع تـغيرات كـــروموسومية غير طبيعية وهـذا يتطـابق مـع دراسـة levis وجماعته (2005) والتي بينت امكانية حدوث الطفرات لجين الـ FLT3 بعد العلاج الكيميائي لعدد من المرضى بأستخدام عقاري الـ Cytarabineوالـ Daunorubicin التي تكون ذات سمية عالية تعمل على احداث طفرة في جين الـFLT3. ويعتبر الـFLT3 من المفاتيح الجزيئية والتي تلعب دورا مهما في أمراضية الـ AML (Shinichiro ,2011) كما وتطابقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Natasa وجماعتها (2007) والتي أجريت على 113عينة أخذت من نخاع العظم حيث وجد أن 17.7 % لديهم طفرة FLT3 / ITD بعد العلاج الكيميائي وبقية المرضى ان لديهم طفرة قبل العلاج الكيميائي أيضا وهذا يتطابق أيضا مع دراسة Beitinjaneh وجماعته (2010) التي أشارت إلى حدوث طفرة لجين FLT3 بعد العلاج الكيميائي .وتتطابق نتائج الدراسة الحالية شكل (4- 10) المجال (5) والمجال (8) مع دراسة Ewa وجماعته (2010) والتي اجريت على 80عينة مأخوذة من نخاع العظم حيث وجد ان 14.28 % من المرضى لديهم طفرة في جين FLT3 / ITD مع هيأة كروموســومية طبيعية 20 % من المرضى لديهم طفرة في جين الـ FLT3 / ITD مع هيأة كروموسومية معقدة complex karyotype وفي دراسة Gregory وجماعته (2009)والتي شخصت طفرات في عدد من الجينات مثل FLT3، NPM1، MLL وCEBPA في الـ AML وخصوصا في المرضى الذين يكون لديهم هيأة كروموسومية طبيعية. يعتبر حدوث طفرة في جين الـFLT3 اكثر ترددا عن غيره من الجينات. وأظهرت دراسة Thomas وجماعته (2010) أن أكثر من 35 % من المصابين بالـ AML تظهر لديهم طفرات في جين FLT3 .

إن الطفرات التي تحدث في جين Mixed linage leukemia (MLL) تعد من أول التداخلات الجزئية التي تحدث لمرضى الـ AML وتشكل نسبة 10 % من مجموع الطفرات

التي تحدث لمرضى ابيضاض الدم الحاد (Bloom field *et al.* ,2006). وتتفق نتائج الدراسة الحالية شكل(4-11) المجـــال (6)،(7) (9) (10) مع دراســة Cerveira وجماعته (2006) التي أظهرت حدوث اختلالات في جين الـMLL لعدد من مرضى ابيضاض الدم على الرغم من وجود هيأة كروموسومية طبيعية.واظـــهرت دراســـة Matthew وجمــاعته (2008) ان البروتينات التي يشفر لها جين MLL تلعب دورا مهما في احداث ابيضاض الدم وخاصة AML وابيضاض الدم اللمفاوي acute lymphocytic leukemia (ALL) .واتفقت نتـــائج الدراسة الحالية شكل (4-11) المجال (5) مـــع دراســة Sergigy وجماعته (2005) والتي اجريت على 61 مريضا بـ الـAML 27 مريضا يعالجون اشعاعيا ،34 مريضا يعالجون كيميائيا اظهرت النتائج حدوث انتقالات لجين MLL في كلا المجموعتين وحدوث مضاعفات لهذا الجين على الرغم من ان المرضى لديهم هيأة كروموسومية طبيعية وبينت دراسة Mrozek وجماعته (2007) حدوث انتقالات جينية لـMLL نتيجة العلاج باستخدام عقارات كيميائية مختلفة كلا حسب نوعه وحسب الجرعة المعطـــاة.وأظهرت الــدراسة الحـــالية شكل(4-11) المجال 8 حدوث طفرة لجين MLL إضافة الى حدوث طفرة لجين FLT3 مع هيأة كروموسومية غير طبيعية حيث من الممكن ان تحفيز البروتين المنتج من جين الـMLL يحفز مجموعة المستقبلات لجين الـ FLT3 وتعملان عــلى إحداث الإصابة بابيضاض الدم (Ayton *et al.* ,2005) .وتتطابق نتائج الدراسة الحاليــة مــع دراســة Ryoichi وجماعته (2005) ممكن ان يحدث تداخل بين جين MLL وجين FLT3 عن طريق البروتينات التي يشفر لها كل جين مثل بروتين MLL-ENL والذي يعتبر احد الأنواع الأخرى من منتجات جين MLL والتي تحفز جين الـFLT3 .وأظهرت دراسة Dohner وجمـــاعته (2005)ان نسبة 30 % الى 40 % من المرضى والذي تكون لديهم طفرة MLL-PTD تكون لديهم طفرة FLT3.ITD بينما من النادر وجود طفرة في جين NPM1 اوCEBPA مع MLL-PTD .

وتحدث طفرات في جين MLL أو جين FLT3 او الاثنين معا لدى بعض المرضى على الرغم من وجود تغيرات كروموسومية منها t(15;17)(q22;q22)، t(8;21) ،او تكون لديهم هيأة كروموسومية معقدة complex karyotype (q21,q26) t(3;3) (q21 q26) in(3) اوتغيرات عددية -5 او 7 – (Mrozek and Clara,2006) . ويعتبر جين الـ MLL من اكثر الجينات التي تحدث لها انتقالات وتؤثر بمدى واسع في إحداث ابيضاض الدم الحاد الـ AML (Thirman *et al.*,2007).

4-5 الدراسة الفسلجية Phisyological Studies

1-4-5 مستويات هرمون الاريثروبيوتينوالـANP والالبومين المجهري البولي

الاريثروبيوتينErythropoietin هرمون يفرز 90 % منه بواسطة الكلية و10 % من الكبد استجابة الى انخفاض مستويات الاوكسجين الـ hypoxia ويعمل على زيادة انتاج الخلايا الحمر في نخاع العظم وبالتالي يزداد عدد الكريات الحمر الذي يؤدي الى زيادة إيصال الأوكسجين إلى الأنسجة لأداء الفعاليات المختلفة (Descatha *et al.* ,2005) وبينت الدراسة الحالية جـــدول(4 -4) زيادة معنوية في مستويات الاريروبيوتين لدى المرضى قبل العلاج الكيميائي وهذا يتطابق مع دراسة Valent (2008) التي اظهرت ارتفاع مستويات هرمون الاريثروبيوتين لدى مرضى الـ lymphoma وابيضاض الدم leukemia والذي يؤدي إلى إنتاج عدد قليل من خلايا الدم الحمر والذي يؤدي الى اصابة المرضى بأمراض الكلى او الكبد .وبينت دراسة (Urabe ,2005) ممكن استخدام ارتفاع مستويات هرمون الـ EPO كدليل قوي لحدوث الإصابة بالإمراض السرطانية المختلفة والإصابة بأمراض فقر الدم الخبيث aplastic anemia وابيضاض الدم النخاعي وابيضاض الدم اللمفاوي.

وتتطابق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Richmond وجماعته (2005) إن اغلب مرضى ابيضاض الدم ينتج لديهم فقر الدم anemia والذي يؤدي الى ارتفاع مستويات هرمون الاريثروبيوتين لتعويض نقص خلايا الدم الحمر وبالتالي محاولة زيادة كميات الأوكسجين المنقولة الى الانسجة.وبينت الدراسة الحالية جدول (4-5) وجود ارتفاع معنوي في مستويات الاريثروبيوتين EPO بشكل كبير بعد العلاج الكيميائي وبينت العديد من الدراسات ان العلاج الكيميائي او الإشعاعي الذي يتلقاه مرضى ابيضاض الدم بمختلف انواعها يعمل على ارتفاع مستويات هرمون الاريثروبيوتين لان اغلب المرضى يكون لديهم فقر دم فيحتاج الى زيادة مستويات الاريثروبيوتين لزيادة إنتاج خلايا الدم الحمر (Powers *et al.*,2007) وتطابقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Mualla وجماعته (2008) التي أجريت على (75) عينة من المرضى (50) مرضى AML ،(25) مرضى ALL والذين يعالجون كيميائيا بينت وجود علاقة طردية بين نسبة الهيموغلوبين hemoglobin ومستويات الاريثروبيوتينEPO لدى المرضى بعد العلاج حيث اظهرت الدراسة ارتفاع في نسبة الـEPO وانخفاض نسبة الهيموغلوبين وبالتـــالي انخـــفاض اعـــداد خلايا الدم الحمر وأظهرت دراسة (Greenberg *et al.*,2009) ان المرضى الذين يعالجون كيميائيا والذين يصابون بـMyelodysplastic syndrome بعد العلاج الكيميائي يرتفع مستويات هرمون

الاريثروبيوتينEPO مقارنة بالمرضى قبل العلاج الكيميائي .وبينـــت الـــدراسة الحالية جدول (4-4) (جدول 4-5) ارتفاع معنوي في مستويات هرمون ANP والالبومين المجهري البولي قبل العلاج الكيميائي قبل وبعد العلاج الكيميائي ولكن الارتفاع كان أكثر بعد العلاج الكيميائي حيث ان هرمون الـANP يؤثر على وظيفة الكلية وتوازن ضغط الدم في الجسم ويرافق ارتفاع مستويات هذا الهرمون ارتفاع في مستويات الالبومين المجهري البولي Microalbuminuria ويسبب هذا الارتفاع في كـــلا العـاملين التأثير علـــى الكلية (Monica *etal*,2005) وتتطابق نتـــائج الـــدراسة الحـــالية مع دراسة George وجماعته (2006) والتي أجريت على 180 مريضا قسم منهم مصاب بابيضاض الدم النخاعي الحاد AML والقسم الاخر مصاب بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد ALL أظهرت اصابة اغلب المرضى بأمراض الكلى والكبد والتي ربما تكون ناتجة عن ارتفاع مستويات هرمون الـANP الذي يؤثر على وظائف الكلى والكبد والقلب ويـــتداخل تأثيره عـــلى بعض الهرمونات لاسيما Thyroid hormone وأظهرت دراسة Pedersenو Milman (2007) ارتفاع في مستويات الالبومين المجهري البولي لدى مرضى سرطان الرئة بشكل كبير مقارنة بالعينة القياسية وربما يعود السبب الى تداخل عمل الالبومين المجهري البولي وارتفاع نسبة الـ ANP وممكن ان يستخدم ارتفاع مستويات الالبومين المجهري البولي كـــعلامة لـــعدد مـــن الامراض السرطانية وبينت دراسة (Yu-sheng *et al*.,2010) وجود علاقة ايجابية بين مستويات الالبومين المجهري البولي وكافة أنواع السرطان وخاصة في الرجال وتتوزع هذه النسبة بين سرطان الرئة والبروستات prostat cancer وتطابقت نتائج الدراسة الحـالية مع دراسة Lone وجماعته(2008) والتي بينت انه ممكن ان تعكس مستويات الالبومين المجهري البولي درجة شدة المرض عند مرضى السرطان وبالـــذات ابيضاض الدم . تتفـــق نتائج الدراســـة الحـــالية مع دراســـة Keiichi وجماعته (2007) ارتفاع مستويات الـANP والـBNP بعد العلاج الكيميائي لعدد من مرضى السرطان . واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Hayakawa وجماعته (2006) والتي بينت ارتفاع مستويات الـANP لدى الأطفال الذين يعانون من ابيضاض الدم والذين يعالجون بعقار الدوكسوروبين doxorubicin. وظهور الإمراض القلبية لدى اغلب المرضى وترتفع مستويات الالبومين المجهري البولي لدى اغلب المرضى بعد العلاج الكيميائي والعلاج الاشعاعي radiotherapy (Nuver *et al*. ,2005)وهذا يتطابق مع النتائج الحالية .

5-4-2 مستويات الحديد ،قابلية ارتباط الحديد الكلية ومستويات الفيرتين

Level of Iron ,Total Iron Binding Capacity and Ferritin

فقر الدم Anemia هو النقص المرضي في كمية الأوكسجين التي تحمل الهيموغلوبين في كريات الدم الحمر ويعتبر فقر الدم من المشاكل الشائعة لدى مرضى السرطان قبل العلاج بالنسبة لمرضى ابيضاض الدم leukemia وبعد العلاج الكيميائي أو الإشعاعي لمختلف أنواع السرطانات (Ernest,2008). وأظهرت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-6)انخفاض في مستويات الحديد وسعة الحديد الكلية TIBC مقارنة بالعينـــة القياســـية تتطابق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Gambino وجماعته (2005) انخفاض نسبة الحديد وبالتالي انخفاض قابلية ارتباط الحديد الكلية TIBC لدى مرضى ابيضاض الدم قبل وبعد العلاج الكيميائي،وأظهرت دراسة قامت بها (Mahap *et al*.,2010) انخفاض نسبة الحديد وتعرض المرضى للإصابة بـMDS بعد الإصابة بابيضاض الدم النخاعي الحادAML نتيجة لانخفاض إعداد خلايا الدم الحمراء.

ويحدث فقر الدم نتيجة انخفاض انتاج خلايا الدم الحمراء والذي يعود الى انخفاض مستويات هرمون الاريثروبيوتينerythropoietin والذي يحفز انتاج خلايا الدم الحمراء حيث تعمل ابيضاض الدم الحاد AML على انخفاض مستويات الاريثروبيوتين وبالتالي حدوث فقرالدم (Britton *et al*.,2006) .بينت الدراسة الحالية جدول (4-6) ارتفاع مستويات الفيرتين قبل العلاج الكيميائي ،يعد الفيرتين Ferritin احد العلامات الطبية المهمة والتي يدل على مقدار الحديد المخزون في الجسم ويستخدم كعلامة مهمة للتشخيص (Waalen *et al*.,2008). وتتطابق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Maggio وجماعته (2007) التي بينت ارتباط ارتفاع مستويات الفيرتين ببعض الامراض ومنها امراض الشرايين التاجية coronary artery ،الامراض السرطانية واظهرت دراسة (Kabat *et al*. ,2007) ارتفاع مستويات الفيرتين لدى مرضى ابيضاض الدم AML وابيضاض الدم اللمفاوية الحادة ALL لأن ارتفاع مستويات الفيرتين يعني انتاج كميات كبيرة من الحديد الحر Free iron والذي يكون عامل مسرطن carcinogenic مثل بقية الجذور الحرة والذي يعمل على تحطيم الـDNA وتطابقت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسة التي قامت بها , Mary وجماعتها (2009).

وبينت الدراسة الحالية جدول (4-7) انخفاض مستويات الحديد وقابلية ارتباط الحديد الكلية ومستويات الفيرتين بعد العلاج الكيميائي مقارنة بمستوياتها قبل العلاج الكيميائي ،بينت العديد

من الدراسات انه من الضروري الحفاظ على مستويات الهيموغلوبين عالية خلال العلاج الكيميائي او الاشعاعي لمرضى ابيضاض الدم لتقليل تأثير انخفاض الاوكسجين hypoxia (Heeney *et al*.,2005) . تتطابق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Kebriaei وجماعته (2008) انخفاض اعداد كريات الدم الحمر لدى مرضى ابيضاض الدم بعد العلاج الكيميائي وهذا يؤدي الى انخفاض مستويات الحديد وبالتالي انخفاض قابلية ارتباط الحديد الكلية لدى المرضى وبينت دراسة Cashen وجماعته (2010) أجريت على 120 مريضا بابيضاض الدم النخاعي الحاد (AML) acute myeloid leukemia إصابتهم بفقر الدم الناتج عن قلة إعداد كريات الدم الحمر نتيجة تحللها بتأثير العلاج الكيميائي والإشعاعي وربما هذا الانخفاض في الإعداد يؤدي إلى انخفاض نسبة الهيموغلوبين وبالتالي انخفاض نسبة الحديد وقابلية ارتباط الحديد الكلية وحدوث نزف عند بعض المرضى بعد اخذ العلاج الكيميائي . وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Gloriaوجماعتها (2009) والتي أجريت على 112 مريضا تتروح أعمارهم بين (84-23) والذي يتلقون علاجا كيميائيا انخفاض مستويات الفيرتين بعد العلاج، ربما يعود السبب الى كون العلاج الكيميائي يعمل على التقليل من إنتاج الحديد الحر Free Iron والذي يـــكون ســببا فــي سمية الخلايا وبالتـــالي حدوث السرطان .وبينت دراسة (Parry *et al*.,2005) انخفاض نسبة الفيرتين بعد العلاج الكيميائي حيث ممكن ان يعتبر انخفاض مستويات الفيرتين دليل على تجاوب المرضى مع العلاج الكيميائي.

3-4-5 العدد الكلي والتفاضلي لكريات الدم البيض وعدد الصفيحات الدموية

Total ,differential count of W.BCs and Platelets count

تعد كريات الدم البيض من العناصر الرئيسية بالجهاز المناعي فهي تكافح العدوى وتدافع عن الجسم بمهاجمة الأجسام الغريبة ،حيث ترتفع نسبة كريات الدم البيض لدى المرضى الـAMLاو تبقى ضمن المستويات الطبيعية (Klepin *et al*.,2009) .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-8) ارتفاع في معدل العدد الكلي لكريات الدم البيض ،معدل الخلايا اللمفاوية ،معدل الخلايا الحمضة واتفاع معدل الخلايا القعدة بينما انخفاض اعداد الخلايا المتعادلة وهذا يتطابق مع دراسة (Fenaux *et al*.,2010) التي بينت ارتفاع عدد كريات الدم البيض غير الناضجة مقارنة بأعداد كريات الدم الحمر والصفيحات الدموية وتكون على شكل blasts والتي تظهر اغلبها في نخاع العظم . jتطابق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Appelbaum وجماعته (2008) تدني تعداد الخلايا الفعالة لاسيما الخلايا المتعادلة او العدلة

nutrophils والتي تكون انشط الكريات في مكافحة العدوى المختلفة مما يفقد الجسم مناعته الطبيعية . وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع Estey وجماعته (2008) ترتفع معدلات الخلايا القعدة Basophils في الدم نتيجة الاصابة بالحساسية او الالتهابات وخصوصا الاصابة بالامراض السرطانية .ويتطابق مع دراسة (ACS,2010) بينما انخفضت مستويات الصفيحات الـــــدموية لـــــدى المرضى قبل العلاج الكيمـــــيائي وهـــذا يتـــفق مـــع دراســـــة (Pages *et al*.,2005) التي اجريت على عدد من المرضى المصابين بابيضاض الدم النخاعية الحادة انخفاض اعداد الصفيحات الدموية والذي يعرض المريض الى مخاطر سهولة النزف وفقر الدم نتيجة انخفاض مستويـــات الهليموغلوبين وفقد الدم لخاصية التجلط.وأظهرت دراسة (Johanna *et al*.,2005) ان حدوث السرطان وبالذات ابيضاض الدم يؤثر على خلايا البلعم الكبير Macrophage والذي ينتج السايتوكين cytokines ،انترفيرون كاما Interferon gamma ،انترلوكين IL-1 ومعامل تنخر الورم tumor necrosis (TNF) حيث يؤثر على هذه العوامل على مقدار الاستفادة من الحديد والذي يحفز نخاع العظم على انتاج خلايا الدم الحمر وتقل مستويات هرمون الاريثروبيوتينوهذا يقلل من انتاج خلايا الد الحمر وبالتالي حدوث نقص في انتاج الصفيحات الدموية وهذا يطابق نتائج الدراسة الحالية .واظهرت نتائج الدراسة الحالية جدول (4-9) حدوث انخفاض معنوي في معدل كريات الدم البيض،معدل الخلايا العدلة وارتفاع في معدل الخلايا اللمفاوية ومعدل الخلايا الحمضة ومعدل الخلايا الوحيدة وكان هذا الانخفاض اكثر عن العلاج الكيميائي من التأثيرات الجانبية للعلاج الكيميائي هو انخفاض تعداد كريات الدم البيضاءلاسيما كريات الدم اللمفاوية والكريات المتعادلة حيث مقدرة الكريات البيضاء بالاعداد الـــــلازمة لاستبـــــدال الـــــخلايا المـكـتهلة والتي انتهت دورة حياتها بالدورة الدموية (Van *et al*.,2010) .بينت دراسة Wu وجماعته (2009) ارتفاع كريات الدم اللمفاوية بعد العلاج الكيميائي لدى ملرضى ابيضاض الدم AML .بينما لم تتفق نتائج الدراسة الحـــــالية مع دراسة Kryczek وجماعته (2007) حيث بينت انخفاض اعداد كريات الدم اللمفاوية وبالذات خلايا T المساعدة (TH17) بعد العلاج الكيميائي ،يعتبر العلاج الكيميائي واستخدام العقاقير الكيميائية هي الاكثر تأثيرا على كريات الدم البيض وبالذات الخلايا اللمفاوية والمتعادلة والوحيدة وربما يعود السبب الى كون الخلايا المتعادلة والوحيدة هي الاكثر تأثرا لكونها الخط الاساسي في الدماغ عن الجسم ضد الاجسام الغريبة والفايروسات فتكون الهدف الاساسي للعقاقير الكيميائية بأعتبارها مواد سامة . وتتطابق الدراسة الحالية مع دراسة Gore وجماعته (2010) ارتفاع نسبة الخلايا الحمضة لدى مرضى ابيضاض الدمAML بعد العلاج مقارنة بمعدلاتها قبل العلاج الكيميائي حيث يكون لها دور في المناعة الخلطية Humeral Immunity.وأظهرت

دراسة(Ivanov *et al.*,2006)تأثير العلاج الكيميائي على اعداد الخلايا الحمضة Esinophil وارتفاعها نتيجة تأثيرها بالعلاج الكيميائي لدى مرضى ابيضاض الدم .وربما يعود السبب الى ان كريات الدم الحمضة لها علاقة بتفاعلات الحساسية allergic reactions وتؤثر العقاقير الكيميائية باعتبارها مواد سامة على الامينوكلوفيولين وبالذات IgE .واظهرت الدراسة الحالية انخفاض اعداد الصفيحات الدموية انخفاضا كثيرا مقارنة بأعدادها قبل العلاج الكيميائي ،بعد انخفاض الصفائح الدموية من التأثيرات الجانبية للعلاج الكيميائي حيث ان انخفاض معدلاتها يعرض المريض لمخاطر سهولة النزف كذلك يستلزم مراقبة مقدارها والتحسب لأنخفاض معدلاتها اثناء المعالجات واتخاذ كافة الاحتياجات لمنع حدوث الجروح او الكـــدمات حتى البسيط منها والذي يمكنه التسبب بنزيف حـــاد يصعب ايقافـــه عند تدني المعدلات (Buckley *et al.*,2005). وتتطابق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Monereal وجماعته (2005) إن انخفاض إعداد الصفيحات الدموية لدى مرضى ابيضاض الدم يكون سببا في عدم اداء الصفيحات لوظيفتها بشكل صحيح وبالتالي زيادة خطرالاصابة بالنزف. وتتطابق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة FossوBruserud (2008) ان العقاقير الكيميائية المستخدمة في العلاج الكيميائي تتداخل مع وظائف الصفيحات الدموية من خلال تأثيرها على السايتوكينات cytokines .

5-5 العلاقات بين بعض المعايير الوراثية والفسلجية

اظهرت الدراسة الحالية (شكل 4-13) وجود علاقة ارتباط معنوية بين معامل الانقسام الخلوي ومعامل التحسس لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي بينما كانت علاقة الارتباط غير معنوية بين معامل الانقسام ومعامل التحسس لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي وربما يعود السبب الى انخفاض معدلات معامل الانقسام الخلوي نتيجة تأثرها بالعلاج الكيميائي وايقاف الانقسام عند مرحلة الخلية الارومية (Blast cell) وبالتالي ازدياد معدل معامل التحسس.وبينت الدراسة الحالية وجود علاقة ارتباط معنوية بين مستويات هرمون الـANP والالبومين المجهري البولي لدى الاناث قبل العلاج الكيميائي حيث بينت دراسة Moore وجماعته (2005) ان هرمون الـANP يعمل على زيادة مستويات البروتين البولى المجهري نتيجة لزيادة اخراج اليوريا ويمكن استخدام هذه العلاقة كعلامة تشخيصية ممكن ان تفيد في تشخيص العديد من الامراض ومنها ابيضاض الدم وربما يكون لارتفاع مستويات هرمون الـANP علاقة بأمراض الكلية التي يصاب بها بعض مرضى ابيضاض الدم وبالتالي حدوث ارتفاع في مستويات الالبومين المجهري البولي . بينما كانت هذه العلاقة غير معنوية بعد العلاج الكيميائي. واظهرت الدراسة الحالية

(شكل 4-16) وجود علاقة ارتباط معنوية بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الـ EPO لدى الاناث بعد العلاج الكيميائي وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع Yves (2005) حيث ان مستويات الحديد تنخفض لدى مرضى ابيضاض الدم بعد العلاج الكيميائي فيؤدي انخفاض الحديد الى ارتفاع مستويات هرمون الاريثروبيوتين وبالتالي حدوث حالة Thrombocytosis الناتجة من انخفاض اعداد الصفيحات الدموية . واظهرت دراسة Sabine وجماعته (2005) وجود علاقة بين ارتفاع مستويات الاريثروبيوتين وبين انخفاض عدد الصفيحات الدموية . بينما اظهرت نتائج الدراسة الحالية شكل4(-15) عدم وجود علاقة ارتباط بين مستويات هرمون الاريثروبيوتين وعدد الصفيحات الدموية قبل العلاج الكيميائي وربما يعود السبب الى ان اغلب المرضى يصابون بنزف دم حاد وهذا يعني انخفاض مستويات الحديد نتيجة العلاج الكيميائي وبالتالي حدوث النزف الناتج عن قلة اعداد الصفيحات الدموية لدى المرضى.وكانت علاقة الارتباط معنوية بين عدد الصفيحات الدموية ومستويات هرمون الاريثروبيوتين لـــدى الذكور قبل العلاج الكيميائي شكل(4-19) بينما كانت العلاقة غير معنوية بعد العلاج ،ربما يعود السبب إلى إن ارتفاع مستويات هرمون الاريثروبيوتين وانخفاض الحديد أدى الى انخفاض عدد الصفيحات الدموية ويمكن اعتبار هذا الانخفاض علامة دالة للتشخيص المبكر لابيضاض الدم .

بينت الدراسة الحالية شكل4(-17) وجود علاقة ارتباط معنوية بين مستويات الفيرتين وقابلية ارتباط الحديد الكلية TIBC لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي وتتطابق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Lipschitz وجماعته (2005) وجود علاقة ارتباط بين مستويات الفيرتين في المصل مع كمية المخزون من الحديد وبالتالي قابلية ارتباط الحديد الكلية لدى مرضى ابيضاض الدم وممكن اعتباره علامة أولية مهمة للتشخيص . وكانت علاقة الارتباط غيرمعنوية بين مستويات الفيرتين وقابلية ارتباط الحديد الكلية لدى الذكور بعد العلاج الكيميائي وربما يعود السبب الى انخفاض مستويات الفيرتين بعد العلاج مقارنة بمستوياتها قبل العلاج الكيميائي وبالتالي ارتفاع نسبة قابلية ارتباط الحديد الكلية على الرغم من انخفاض مستويات الحديد بعد العلاج.

5-6 العلاقات الوراثية الفسلجية

أظهرت الدراسة الحالية (شكل 4-21) وجود علاقة ارتباط بين معامل الانقسام الخلوي ومستويات الفيرتين لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي، ربما يعود سبب الارتباط إلى كون معامل الانقسام الخلوي يرتفع قبل العلاج الكيميائي اي تزداد إعداد الخلايا المنقسمة وبالتالي تزداد الحاجة الى استهلاك كميات كبيرة من الحديد فيؤدي هذا الى زيادة مستويات الفيرتين الذي يمثل

مقدار الحديد المخزون في الجسم فيزداد تحرر الحديد الحر (Free Iron).وأظهرت الدراسة الحـــــالية شكل(4 -23) وجود علاقة ارتباط معنوية بين معامل التحسس ومستويات الحديد لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي بما إن ابيضاض الدم تعمل على انقسام كريات الدم بشكل غير طبيعي وعدم وصول الخلايا إلى مرحلة النضج نتيجة تأثيرها على نخاع العظم الذي يحتاج إلى نسبة عالية من الأوكسجين لأداء فعالياته الوظيفية إي زيادة في مستويات الحديد وبما إن معامل التحسس يمثل عدد الخلايا المتحسسة اي غير المنقسمة في مرحلة الخلية الارومية Blast cell فربما لم تزود هذه الخلايا بالشكل الكافي من الحديد لإكمال عمليات الانقسام وتوقفت عند مرحلة الـ Blast cell نتيجة الإصابة بابيضاض الدم النخاعي الحاد Acute mylioed leukemia وأظهرت الدراسات الحالية شكل (4-24)،(4-25) وجود علاقة ارتباط معنوية بين معامل التحسس وعدد الخلايا اللمفاوية وعدد الخلايا العدلة لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي ربما يعود السبب إلى إن إعداد خلايا الدم البيضاء عادة تزداد نتيجة الإصابة بالإمراض السرطانية بصورة عامة وبالذات تزداد إعداد الخلايا اللمفاوية lymphocyte والخلايا المتعادلة nutrophil والتي تعد الخط الدفاعي الأول والأكثر تأثيرا نتيجة الإصابة بالإمراض وخاصة الإمراض السرطانية ولذلك تكون اغلب هذه الخلايا متوقفة عند مرحلة الـBlast عدم إكمال نضوج الخلايا البيض عدم أداء فعالياتها بصورة طبيعية.بينت الدراسة الحالية وجود علاقة ارتباط معنوية بين معامل التحسس وعدد الخلايا الحمضة لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي وأظهرت دراسة Boyum وجماعته (2006) ارتفاع نسبة الخلايا الحمضة لدى مرضى ابيضاض الدم الحادة AML ومرضى ابيضاض الدم المزمنة CML قبل العلاج الكيميائي وربما يؤدي ارتفاع الخلايا الى ازدياد معدلات معامل التحسس لدى المرضى .بينت الدراسة الحالية شكل (4 -27) وجود علاقة ارتباط معنوية بين معامل التحسس وعدد الخلايا القعدة لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي .ربما يعود السبب إلى ان الخلايا القعدة لها وظيفة التهامية بالإضافة إلى احتوائها على الهيبارين،الهستامين والسيروتوتين Serotonin وتعمل ابيضاض الدم من خلال تأثيرها على وظائف نخاع العظم إلى زيادة إعداد الخلايا القعدة وممكن ان يؤدي هذه الزيادة إلى زيادة معامل التحسس. أظهرت الدراسة الحالية شكل (4-28) وجود علاقة ارتباط معنوية بين معامل التحسس الخلوي ومستويات الحديد لدى الذكور قبل العلاج الكيميائي ربما يعود السبب الى انخفاض مستويات الحديد قبل العلاج الكيميائي وارتفاع معامل الانقسام الخلوي نتيجة انقسام الخلايا بشكل غير مسيطر عليه تزداد الحاجة الى كميات كبيرة من الحديد .

أظهرت الدراسة الحالية وجود علاقة ارتباط معنوية بين معامل الانقسام الخلوي وعدد الخلايا الحمضة بعد العلاج الكيميائي وهذا يتطابق مع دراسة (Sezer *et al*.,2005) التي أظهرت ارتفاع معدلات الخلايا الحمضة لمرضى ابيضاض الدم النخاعية الحادة ومرضى ابيضاض الدم اللمفاوية المزمنة (Chronic lymphocytcc leukemia (CLL المعالجين كيميائيا بعقارات الفلودرابين fludarabine والسايكلوفوسفومايد cyclophosophomid .وربما يكون لهذا الارتفاع تأثير على معدلات معامل الانقسام الخلوي ،

أظهرت الدراسة الحالية شكل (4-30) وجود علاقة ارتباط معنوية بين معامل الانقسام الخلوي ومستويات الحديد بعد العلاج الكيميائي ربما يعود السبب الى انخفاض معدلات الانقسام الخلوي مقارنة بمعدلاتها قبل العلاج الكيميائي لأن العلاج يعمل على تقليل إعداد الخلايا المنقسمة بشكل غير طبيعي لذلك تشخيص معامل الانقسام الخلوي وبالتالي انخفاض مستويات الحديد لدى المرضى .وممكن استخدام هذه العلاقات الوراثية الفسلجيةالتي ظهرت في الدراسة الحالية كعلامة تشخيصية مبكرة نستدل من خلالها على وجود الإصابة بابيضاض الدم النخاعية الحادة AML .

الاستنتاجات:

1 – ارتفاع معدلات معامل الانقسام الخلوي قبل العلاج الكيميائي وكذلك ارتفاع معدلات معامل الارومة الليفية BI بعد العلاج الكيميائي نتيجة تحسس الخلايا.

2 – ارتفاع نسبة التشوهات الكروموسومية لدى المرضى بعد العلاج الكيميائي مقارنة بها قبل العلاج الكيميائي .

3 – حدوث طفرات في كلا الجينين FLT3 وMLL لدى المرضى قبل العلاج وكان حدوث الطفرة اكثر ترددا في جين MLL .

4 – العلاقة الموجبة بين حدوث التغيرات الكروموسومية وحدوث الطفرات لدى المرضى لتحديد سبب المرض .

5 – ارتفاع مستويات هرمون الاريثروبايوتين والـANP والالبومين المجهري البولي بعد العلاج الكيميائي بشكل كبير نتيجة التأثيرات الجانبية للعلاج.

6 – انخفاض مستويات الحديد وقابلية ارتباط الحديد لدى المرضى قبل وبعد العلاج الكيميائي.

7 – ارتفاع مستويات الفيرتين لدى المرضى قبل العلاج الكيميائي والذي يعد مؤشرا للاصابة بالامراض السرطانية.

8- حدوث طفرات في بعض الجينات ومنها جيني الـ FLT3 وMLL بعد العلاج الكيميائي .

التوصيات :

1- اجراء الاختبارات الوراثية المبكرة للزوجين قبل الزواج واجراء الاختبارات الخاصة بالابناء بعد الولادة لتجنب تفشي المرض .

2-عدم الزواج من الاقارب وذلك للاحتمالية الكبيرة للاصابة بالمرض .

3-اجراء الدراسات المبكرة للعوائل المصابة من خلال دراسة تاريخ العائلة (دراسة جزيئية وراثية) .

4-اجراء العلاج الجيني gene therapy للمرض .

5-دراسة احتمالية ظهور طفرات في جينات اخرى ممكن ان يكون لها دور في احداث اللوكيميا .

المصادر العربية

- **وزارة الصحـــة العراقية (2004):**أثار التلوث بالمواد المشعة وعلاقتها بحدوث اللوكيميا ندوة علمية حول بيئة العراق بعد الحرب .دبي .

- **القيـــــسي ، ضـــــحى ســـــالـــم . (2005) :** دراسة المقاومة العلاجية لمرضى السرطان اللمفاوي باستخدام التقنيات الوراثية الخلوية . رسالة ماجستير . كلية الطب . الجامعة المستنصرية .

References المصادر الاجنبية

-**American Cancer Society .(2010).**Cancer factes and figures.Atlanta.**,90.** 1-5.

-**Amadori,S.; Suciu,S. and Stasi,R.(2005).**Ozogamicin as a single treatment for Frial patients 61 years of age and older with acute myeloid leukemia . Leukemia .,***19***.1763-1773.

-**Andrea,D and Alan,D.(2010).**Susceptibility pathway in fanconi anemia and Cancer .N.Engl.Med.20.111-116 .

- **Aplec,R and Lange .B.(2004).** Acute myelioed leukemia in adult . Cancer Midicin .***5*** th ed .,20-25.

-**Appelbaum,F. and Pearce,S.(2006) .**Hematopoietic cell transplantation in First complete remission versus early replace .Res.Clin .Hematol.***19***. 333-339.

-**Appelbaum,R.(2008).**Acute myeloid leukemia in adult .Clinical Oncology., ***5***.25-35.

-**Ashby ,D.;Gale,D.and Busbridge.(2010).**Erythropoietin production Administration in human causes amarked and prolonged reduction In circulating hepcidin .Haematologica.,***3***(95).505-508.

-**Ayton,P. and Cleary ,M.(2005).**Molecular mechanism of leukemia genesis Mediared by MLL fusion protenis .oncogene .***20***.5695-5707.

-**Bethesda,M D.(2006).** Childhood acute myeloid leukemia .National cancer Institute .9.25-39.

-**Beitinjaneh,A.;Jang,S.;Roukoz,H.andMajhail,N.(2010).**Prognostic Significance of FLT3 internal tandom duplication and tyrosine kinase Domain mutations in acute leukemia .Leuk.Res.***34***.831-836.

-**Bloomfield ,C.;Mrozek,K.andCaligiuri,M.(2006).**Cancer and leukemia group B leukemia correlative science commit-tee .major accomplishments And futurs directions .Clin cancer Res.***12***.364-367.

-**Boyum,O.;Foss,D. and Richerd ,E.(2006).**Icreasing esinophilic cell in Leukemia patiants .J Clin.Hematol.***15***.1-8.

-**Bozzone .Donna .(2009) .** leukemia .chelsea house – 31st street . 1 st ed 20-95.

-**Britton,R.;Leicester,B. and Bacon,K.(2006).**Iron toxicity and chelation Therapy .Hematology .***76***(3).219-228.

-**Buccisono,F.;Maurillo,L.andGattei,V.(2006).**The kinetics of reduction of Minimal residual disease impacts on duration of response and survival Of patients with acute myeloid leukemia .leukemia .***20***.25-27.

-**Buckley,M.;James,J.;Brown,D.;Dean,M.and Donald,A.(2005).**Anovel approach to the assessment of variations in the human platelet count Pub Med .***83***.480-484.

-**Burnett,A.;Hills,R.;Green,C.;Koo,K.;Patel,Y.andGilkes,A.(2010).**The Impact on outcome of the addition of all – trans retinoic intensive Chemotherapy in younger patients with non acute promyeloid ,acute Myeloid leukemia .overall results in genotypic subgroup defined by Mutations in NPM1,FLT3 and CEPA.Blood .***115***(5).Abstract.

-**Cammenga,J;Horn,S.and Berghol Z,U.(2005).**Extracellular kit receptor Mutants commonly found in core binding factor AML ,are Constitutively active and respond to imatinib mesylate.Blood .***106***. 99-107.

-**Cashen,A.;Schiller,G.and Donnell,M.(2009).**Study of decitabine for the First –line treatment of older patients with acute myeloid leukemia . J Clin Oncol.***28***(4).61-70.

-**Cerveria ,N.;Correia ,C.and Bizarro,S.(2006).**SEPT2 is a new fusion partner Of MLL in acute myeliod leukemia with t(2;11) (q37;q23) oncogene. ***25***.6147-6152.

-**Chandra,S.(2008).**Down syndrome traced one gene .Med.15 .1-14.

-**Chen,W;Rassidakis ,GZ.and Medeiros,L J.(2006).** Nucleophosmin gene Mutation in acute myeloid leukemia . Arch.Pathol lab Med.***92***. 81-89.

-**Chu,E;Devita,V.and Jones,J.(2006).**Cancer chemotherapy drug manual. Bartlett publisheres .4 th ed .25-30.

-**Daly,Lilian.(2008).**Understanding acute mylioed leukemia (AML). Foundation instituit .4 th ed .17-20.

-**Desanto,NG.(2005).**Anemia and erythropoietin.Nephrol.***25***.79-87.

-**Descatha,A.;Jenabian,A.;Coso,F.and Ameille,J.(2005).**Occupational Exposures and hematological malignancies overview on human recent Data.Cancer .***16***(8).939-953.

- **Dohner,Konstanze and Dohner,Hartmut.(2008).** Molecular characterization Of acute mylioed leukemia .Haematologica . ***93***(7) . 976-952.

-**Dohner ,K.;Schlenk,R.andHabdank,M.(2005).**Mutant Nucleophosmin (NPM1) Predicts favorable prognosis in younger adults with acute Myeloied leukemia and normal cytogenetics –interaction with other Gene mutations .Blood .***106*** .3740-3746.

-**Dohner,H.(2007) .**Implecation of the molecular characterization of acute Myeloied leukemia .Hematology Am Soc.***9***.412-415.

-**Dohner,H.;Estey,E.and Amadori,S.(2010).** Dignosis and management Of acute myeloid leukemia in adults .recommendations frome internati onal expert panel . Blood .***115***.453-466.

-**Donnell,M.;Appelbaum,F. and Coutre,E.(2010).**Acute myeloid leukemia . NCCN clinical practice gudelines in oncology .Oncology .***18***.16-19.

-**Ebert,BL;Prets,J;Bosco,J.and Tamayo,P.(2008).**Identification of RPS14 as a5q Syndrom gene by RNA interference screen .nature .***9***. 335-451.

-**Ernest,H.(2008).**Anemia causes and treatment .Hematology.***15***.1-7.

-**Estey ,E and Dohner,H .(2006) .**Acute mylioed leukemia . anderson Cancer center . ***368***. 1894-1907 .

-**Estey,E.and Dohner,H.(2008).**Acute mylioed leukemia .syptomes and Dignosis .Blood.***45***.1-10.

-**Estey,E.;Thall,F.andCortes,J.(2007).**Comparision of idorubicin ,fludarabine And topotecan based regimens in teretment of newly diagnosed acute Myeloid leukemia .Blood .***98***.3575-3583.

-**Estey,E;Kantarjian,M. and Miller,B.(2008).**Therapy for acute myeloid Leukemia .Hematology .***30***.25-30.

-**Ewa,M.;Marta,P.;Tomasz,N.;Jerzy,N.and Danuta,J.(2010).**FLT3 internal tandem duplication and FLT3-D835 mutation in 80 AML patients categorized in to cytogenetic risk group .Hig Med Dow.***64***.466-470.

-**Eyre,HJ;Lange,DP.andMorris,LB.(2007).**Cancer chemotherapy .American Cancer society .***35***(10) . 422-427.

-**Falini,B;Mecucci,C;Tiacci,E.and Alcalay,M.(2007).**Cytoplasmic Nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with normal karyotype Arch.Pathol lab Med.***66***.254-259.

-**Fairbanks,V.and Klee,G.(2007).**Biochemical aspectes of hematology Blood .***19***(4).273-277.

-**Farrar, J.; Nates, M. and Caywood, E.(2008).**Abnormalities of large ribosomal subunit protein ,RPL35a in diamond –blackfan anemia Blood .,***112***.29-35.

-**Fenaux,P.;Mufti,G.and Lindberg,E.(2010).**Azacitidine prolongs overall Survival compared with conventional care regimens in elderly patients With low bone marrow blast count acute myeloid leukemia .J Clin Oncol.***28***(4).Abstract .

-**Fisher,J W.(2003).**Pharmacologic modulation of erythropoietin production Annu Rev pharmacol Toxicol .***28***.10-22.

-**Frommer, G.(2005).**Acute myeloid leukemia abnormalities .Hematol. ***67***(5).56-59.

-**Foss,B. and Bruserud,O.(2008).** Platelet function and clinical effect in acute Myelogenous leukemia .Thromb Haemost .***99***(1).27-37.

-**Freireich,Emil,J.(2008).**Acute leukemia.leukemia. Mercll Manual. ***10***.1-6.

-**Frohling ,S;Scholl,C;Gilliland,DG.and Levine,RL.(2005).** genetic of mylioed Malignancies .pathogenetic and clinical implications. Jclin oncol.***32*** .95-100.

-**Gambino,T.;Sit,H. and Lone ,J.(2005).**Iron and iron binding capacity In leukemia patiants .Hemattology .***9***.44-48.

-**Garbino,R.(2006).**The relationshipe between chemically measured total Iron –binding capacity concentration and immunologcally measured Transferin concentration .Clin.Chem.***43***(12).240-242.

-**George,K.;Antonis ,P.;Ioanna,T.and Dimitrios,P.(2006).** Normalization of Thyrioed hormone level in patients with either hyper or hypothyrodesim Resulets in profound change of atrial natriuretic peptide (ANP) level . Hormones.***1***(2).104-112.

-**Ghali,K.H.(2002).**Genetic and Immunological Study on Iraqi Patients with Bladder Cancer. PhD. Thesis.. Al- Mustansiriyah. Univ

- **Ghosh, B.; Talukder, G.and Sharma, A. (1991) .** Effects of Culture media on Spontaneous incidence of Mitotic index, Chromosomal abberations Micronucleus count sister Chromatid exchanges and cell cycle kinetics in peripheral blood lymphocytes.med . Toxicol. 11 . 21 – 30 .

-**Gjerset,D;Falini,Ido ;Massimo,F;Martelli;C.(2007).**Acute myelioed Leukemia carring cytoplasmic mutated nucleophosmin (biological and Clinical features) .Blood .***109*** .674-885.

-**Gloria,M.;Hesham,M. and Amin,M.(2009).**Baseline serum ferritin predicts Rate of infection in patients with acute myelogenous leukemia and high Risk myelodysplastic syndrom.Blood.***114***.Abstract .

-**Gore,S.;Gojo,I. and Sekeres,M.(2010).**Singel cycle of arsenic trioxide Based consoldation chemotherapy spares anthracycline exposure in The primary management of promyeloctic leukemia .J Clin Oncol. ***28***(6).1330-1336.

-**Greenberg ,P.;Sun,Z.;Miller,k.;Bennett,J.and Taliman,M.(2009).** Treatment Of myelodysplastic syndrome patients with erythropoitin with or Without granulocyte colony –stimulating factor .resultes of prospective Randomized phase 3.Blood.***114***(12).312-320.

-**Gregory,T.;Wald,D.;Chen,Y.;Xiong,Y.and Tse,W.(2009).**Molecular Prognostic markers for adult acute myeloid leukemia with normal Cytogenetics .J Hematol .Oncol. ***2***.23-27.

-**Grimwade,D.;Hills,R.and Moorman,V.(2010).**Refinement of cytogenetic Classifiction in acute myeloid leukemia .determination of prognostic Significance of rare recurring chromosomal abnormalities.Blood .***116***. 354-365.

-**Grimwade,D.;Hills,R.andWanger,K.(2009).**Independent prognostic factores AML outcome .Hematology .***34***.385-395.

-**Gupta, V and Bamezai, R.(2010).**Bloom syndrome ,genomic instability And cancer .Cancer Lett.***236***.,1-12.

-**Guyton ,M.D. and Hall,John.E.(2006).**Text book of medical physiology . Elsever saunders .11 th ed .420-423.

-**Hagop,M.;Susan,B.;Xuelin,H.;Guillermo,G.and Manero,M.(2007).** Survival Advantage with decitabine versus intensive chemotherapy in patients With higher myelodysplastic syndrome .NIH.***109***(6).1-9.

-**Hann,M.;Stevens.,R.andGoldstone,A.(2005).**Randomized comparision of DAT versus ADE as induction chemotherapy in children and younger Adults with acute myeloid leukemia .Blood .***89***.2311-2318.

-**Hayakawa,H.;Komado,Y.;Hirayama,M.andHori,H.(2006).**Plasma level of natriuratic peptides in relation of doxorubicin – induced cardiotoxicity and cardic function in children with cancer .Pub Med.***37***(1).Abstact .

-**Haroon Z.A,Amin,K.and Jiang,X.(2003).**Anovel role of Erythropoietin during fibrin induced wound healing Response.AM.J. pathol. ***3.***993-1000.

-**Harrison,M.(2008).**Principles of internal medicine .elsevier .17 th ed 20-25.

-**Harrison ,P;Pulsoni ,A;Tosti,M.and Mele,L.(2009).**Clinical and Biological

Features of acute myelioed leukemia occuring as second malignancy .Br J Haematol .***12***.95-100.

-**Heeney,M.;Andrews,N.andFrazer,D. (2005).**Iron homeostasis and inherited Iron overload disorder .an overview . Hematol Oncol. ***18***(6).403-408.

-**Heilman,S.(2008).** Principles and practice of oncology .elsiver.2 sco. 13-24.

-**Hoffbrand,Victor.A;Catovsky,Daniel.and Edward,G.D.(2005).** Postgraduate Hematology .Black well .5th ed. Chapter (31).509-520.

-**Hong,P.;Guang,S.;Fan,G.;Jian,K.andYang,Z.(2007).**Fms like tyrosin kinase(FLT)3 and FLT3 internal tandem duplication in different types of Adult leukemia .analysis of 147 patients .Blood.***49***.650-659.

-**Hu,X;Zheng,C.;Liu,C.;Zhang,S.and Xiao,H.(2009).**Effect and prognostic Analysis of treatment for acute myeloid leukemia using chinese Drugs combined with chemotherapy .Chin J Integr Med.***15***(3). Abstract .

-**Huebers,H;Eng,M.;Josephson,B.and Rettmer,R.(2005).**Plasma iron and Transferrin iron –binding capacity evaluated by colorimetric and Immunoprecipitation method .Clin.Chem.***33***.273-277.

-**Ivanov,I.;Mckenzie,B.andZhou,L.(2006).**The orphan nuclear receptor ROR Gammat direct the differentiation program of proin flammatory IL-17 T helper cells .cell.***126***.199-203.

-**Jackson,D.J.;Worheide,G.and Degnan,B.M.(2007).** Ferritin and the response to Oxidative stress . Biochemical Journal .***7***.160 .

-**James ,F.(2010).**New prognostic markers in acute myeloid leukemia . Perspective from the clinic .Hematology .***22***.47-55.

-**Je-hwan,L.;Seong-jun,C.;Jung-hee,L.;Jae-hoo,P.and Hawk,K.(2006).** Standered induction chemotherapy followed by attenuated consolidation in elderly patients with acute myeloid leukemia . Ann. Hematol.***85***.357-365.

-**Johanna,G.;Vander,B.;Susan,R.;Thomas,L.and Chris,E.(2009).**Platelet count And the risk for thrombobiosis and death erly.J Thromb.Haemost ***7***(3). 399-405.

-**Kabat,G.;Rohan,T.and Salonen,R.(2007).**Dose excess iron play arol in Carcinogenesis .Pub Med .***18***(10).1047-1053.

-**Kasvosve,I and Delanghe,J.(2005).**Total iron binding capacity and Transferrin concetration in assesment of iron status .clin.lab.Med ***40***(10).8-14.

-**Kasyutich,O.;Ilari,A.;Fiorillo,A.and Tatchev,D.(2010) .**Silver ion incorporation And nanopartical formation inside the cavity of Pyrococcus furiosus Ferritin .structural and size –distribution analysis .Journal of american Chemical society . ***10***.25-35 .

-**Kebriaei,P.;Lima,M.and Estey,E.(2008).**Mangment of acute leukemias . Leukemia .***27***.2-5.

-**Keene ,Nancy(2005).**Childhood leukemia.Aguide for Families Frindes . leukemia .***3.***1-15.

-**Keene,N.(2005) .**Aguide for leukemia therapy .National cancer institutes. ***9***.15-18.

-**Keiichi,J.;kengi,N.;Tomohiro,K.andMinako,O.(2007).**Temporal changes in Atrial natriuratic peptides after radiotherapy for thoracic esophagel Cancer .ASTRO.***69***(5).1417-1423.

-**Kelly ,LM and Gilliland ,DG.(2002) .** genetic of mylioed leukemias .Annu Rev Genomics Hum.Genet . ***3***. 179-198.

-**Klepin,H.;Balducci,L.and Daoust,R.(2009).**Acute myelogenous leukemia In older adults .Oncology.***14***.222-232.

-**Kong,X.;Wang,E.;Hellerman,G. and Lockey,R.(2007).**Mice deficient in Trial natriuretic peptide receptore A(NPRA) exhibit decreased lung Inflammation .Clin.Immun.127(4).5-10.

-**Konopleva,D;Look,A.and Griffin,J D (2005).**Role of FLT3 in leukemia . Curropin Hematol .***9***.242-249.

-**Krzysztof ,M. and Bloomfieid ,C.(2006) .**Chromosome aberrations ,gene Mutation and expression changes and prognosis in adult acute myeloid Leukemia .Hematology .***26***.169-177.

-**Krzystof,M.;Kristiina,H.andClara,B.(2007).**Prognostic value of cytogenetic Finding in adults with acute myeloid leukemia .Int J .Hematol.***72***.261-271.

-**Kryczek,I;Wei,S.andZou,L.(2007).**T h 17 and regulatory T cell dynamics and The regulation by IL-2 in tumor microenviroment . J Immunol.***178***. 6730-6735.

-**Lacklititz,B.(2003).**Adult leukemia.acomprehensive guide for patients and Families .Med.line.***10.***1-9.

-**Lemly,K.;Abbdullah,I.and Myers,B.(2005).**Evolution incipient nephropath In kidny patiant .Clin.Bio.***58***(3).109-201.

-**Levis ,M. and Small,D.(2005).**FLT3 tyrosine kinase inhibitors .Int J Hematol .***82***.100-107 .

-**Lin,FK;Suggs,S.andLin,CH.(2006).**Cloning and expression of human Erythropoitin gene .PNAS.***82.***7580-7584.

-**Lidstrom,M.(2011).**NPM1/B23.amltifunctional chaperone in ribosome Biogenesis and chromatin remodeling .Biochem.Res.Int.237(1). 152-158.

-**Lipschitz,D.;Cook,J.andFinch,C.(2005).**Aclinical evaluation of serum ferritin As an index of iron stores.New england journal of midicin .***290***.1213-1216.

-**Little,D.(2005).**Hemochromatosis ,diagnosis and management .Ann.Biol. Clin .***55***.,189-193.

-**Lone,J.;Ivar,H.;Trond,J.and Bjarne,K.(2008).**Association of albuminurea And cancer incidence .Nephrol.***19***.1-12.

-**Lucy,G.and Michelle,M.(2007).**Therapy related AML .clinical and Morphological features .Blood .***27***.71-75.

-**Maggio,A.(2007).**Light and shadows in the iron chelation treatment of hematological diseases .Haematol.***183***(4).407-421.

-**Maha,A,;Linda,V.;Jocelyn,M. and Heather,A.(2010).**Red blood cell Transfusion independence following the initiation of iron chelation Therapy in mylodysplastic syndrome .Hematology .***5***.1-5.

-**Mary,E.;King,C.and Jacob,M.(2009).**Recent developments in acute myelogenous leukemia .Hematol.***12.***15-21.

-**Mary,E. and Jacob,R.(2007).**Recent developments in acute myelogenous Leukemia therapy .Oncologist.***12***.14-21.

-**Matthew ,C.;Lee,N.;Tatiana,R.;Garrett,M.andThomos,L.(2008).**Aberrant Chromatin at genes encoding stem cell regulators in human mixed - Lineage leukemia .genedev.***22***.3403-3408.

-**Medex,Thomson.(2008).** Guidline therapy for acute leukemia .Health care Series.11 th ed .100-115.

-**Meyer,B.;Larson,T.and Robertson,L.(2006).**Effect of atrial natiuretic Peptide on vasa recta blood flow in human .Am.J.Physiol.***25***.1-5 .

-**Michaued ,J;Wu,F,Osato,M.and Cottles,G M.(2005).**In vitro analyses of Known and noval mutation RUNX1 / AML 1 ,implecation for Mechanismes of pathogenesis.Blood .***99***.1364-1372.

-**Misner,William.(2006).**Dite For increasing your natural Epo.Hammer nutrition.***28***.1-9.

-**Miyake,T;Kung,CK.and Goldwasser ,E.(2006).**Purification of human Erythropoietin.J Biol Chem***.252***.5558-5564.

-**Monica,N.;Mascia ,M.;Anna,P.andAlessandra,D.(2005).**Polymorphisms in The hANP (human atrial natriuretic peptide) gene ,albuminurea and Hypertension .American Heart Association.***37*** .1-13.

-**Monreal,M.;Fernadez,L.;Pinol,M.and Julian,J.(2005).**Platelet count and srvival in patients with colorectal cancer –apreliminary study .Thromb Haemost.***79***.916-918.

-**Moore,B.;Kenna,K.;Tormy,P. and Thompson,J.(2005).**The albuminuric Action of atrial natriuretic peptide .J Clinic Card.***20***(9).Abstract .

-**Morgan,E.(2005).**Transferrin biochemistry ,physiology and clinical Significance .Clin.Chem.***198***.123-126.

-**Mrozek,k;Marcucci,G;Paschka,P.and Whitman,SP. (2007).** clinical relevance of Mutations and gene –expression changes in adult acute mylioed Leukemia with normal cytogenetics .Blood .***109*** . 43-48.

-**Mrozek,K.(2007).** The spectrum of molecular aberrations in myelodysplastic Syndromes .in shadow of acute leukemia .haematologica.***92(6)*** . 723-

-**Mrozek,K.;Heerema,N.;Bloomfield,C.(2007).**Cytogenetices in acute Leukemia .Blood Rev.***19***.110-115.

-**Mrozek,K.and Clara,D.(2006).**Chromosome aberrations gene and expression changes and prognosis in adult myeloid leukemia. Hematology . ***27***.169-177.

-**Mualla ,G.;Sule,U.;Fatma,A.;Aytemiz,G.and Cigdem,A.(2008).**Serum Erythropoietin levels in pediatric hematologic disorders and impact Of recombinant human erythropoietin use .Hacettepe univ .***26*** .72-76.

-**Nahla ,M.and Thoraya,M.(2010).**Internal tandem duplication of FLT3 Gene in egyption adult acute myeloid and acute lymphoplastic leukemia with. J AS.***6***(9).344-350.

-**Natasa ,C.;Sanja,A.;Marija,D.;Vladimir,B.andMilica,C.(2007).**Important of Early detection and follow-up of FLT3 mutations in patients with acute Myeloid leukemia .Ann.Hematol.***86***.741-747.

-**Nuver,J.;Smith,A.;Sleijfer,D.andVangessel,A.(2005).**Microalbuminurea , Decreased fibrinolysis and inflammation as early signs of atheroscleros In long term survivors of disseminated testcular cancer . Pub Med.***40***(5). Abstract .

-**Ong,D.;Wang,L.;Zhu,Y.;HO,B.andDing,J.(2005).** The response to LPS and Acute phase of pseudomonas infection . Journal of endotoxin research. ***5***. 267-280.

-**Pages,F.;Berger,A.and Camus,M.(2005).**Effector momory T cells ,early metastasis and survival in colorectel cancer .N Engl.J.Med.***353***.205-209.

-**Parry,D.;Worwood,M.and Jacobs,A.(2005).**Serum ferritin in acute leukemia at presentation and during remission. Hematology. ***3***. 245-247.

-**Pederson.L. and Milman,N.(2007).** Microalbuminurea in patients with lung Cancer . Pub Med.***34***(1). Abstract .

-**Percy,MJ.(2008).**Again – of – function mutation in the HIF2A gene in the Familial erythrocytosis .N Eng J Med .***8***.162.200.

-**Potter,L.;Yoder,A.;Flora,D. and Dicky,M.(2009).**Natriuretic peptides . Their structures receptors ,physiological function and theraputic Applications. Pharmacol.***192***.66-70.

-**Powers,M.;Nishino,L.;Raza,A.and Zu,C.(2007).**Polymorphisms in TGF beta And TNF alpha are associated with myelodysplastic syndrome Phenotype .Arch Pathol Lab Med .***131***(12).1789-1793.

- **Prifer, V**.(1984). Characterization of plasmid DNA by agarose gel electrophoresis. In . Advanced molecular genetics. Springerverlage, Berline , 26-37.

-**Richmond,T;Chohan,M.and Barbr,D.(2005).**Turning cells red .signal transduction mediated by erythropoietin. Cell Biol.***15***(3).146-155.

-**Rowe,J.(2006).**Significant advances in the biology and therapy of AML Over the past foure decades.Clin.Hematol.***19***.259.262.

-**Ryoichi,O.;Hideaki,N.;Katsutoshi,O.;Hidetoshi,K.and Tomohiko,T**. **(2005).** Dimerization of MLL fusion protiens and FLT3 activation synergize To induce multiple –lineage leukemogenesis.oncology .***115***(4).919-929.

-**Sabine,H.;Alexander,K.;Renate,H.and Christian,B.(2005).**Effect of Altitude on thrombopoietin and the platelet count in healthy volunteers. Thromb Haemost.***93***.115-117.

-**Sato,T;Konno,T.andBall,W.(2005).** Implecation of acute mylioed leukemia. EMBO .***9***(11).300-315.

-**Schlennk,RF;Dohner,K;Krauter ,J;Frohling,S.and Corbacioglu,A. (2008) .**Mutations and tretment outcome in cytogenetically normal acute Mylioed leukemia .N.Engl J Med . ***358*** .18-25.

-**Seiter,Karen(2010).**Acute Myelogenous leukemia .emidicin.Heamatology ***3***.1-7.

-**Sergiy,V.;Karin,B.;Klaus,R.;Vladimir,G.and Bebeshko,D.(2005).**MLL Gene alterations in radiation –associated acute myeloid leukemia . Oncology .***27***(1).71-75.

-**Sezer,O.;Schmind ,M.;Hallek,M.and Beinert,T.(2005).**Esinophilia during Fludarabine treatment of chronic lymphocytic leukemia .Ann Hematology.***78***(10).Abstract .

-**Shinichiro,T.(2011).**Dowenstream molecular pathway of FLT3 in the Pathogenesis of acute myeloid leukemia .biology and therapeutic Implications .Hematology and Oncology .***15***.1-23.

-**Shiota,V.;Arjamaa,O. and Kokkonen ,K.(2005).**Anoval cardic hormone Related to A,B and C.type natriuretic peptides.Endocrinology .25. ***139***(9).2-10.

-**Siek,G.(2005).**Direct serum total iron-binding capacity assay sutiable for Automated analyzers.Clin.Chem.***48***(1).161-166.

-**Sit,D;Kadiroglu,AK;Yilmaz,ME.andkara,IH.(2005).**The prevalence of insulin resistance and its relationship between anemia secondary hyper parathyroidism ,inflammation and cardic para meters in chronic hemo dialysis patients.Ren Fail.***27.***17-30.

-**Summers,K;Stevens,J.and Smith,M.(2007).** wilms tumor 1 mutation are Associated with FLT3-ITD and failure of standered induction Chemotherapy in patients with normal karyotype AML . leukemia ***21***.1-50.

-**Theil ,E.(2006).**Ferritin .structure ,gene regulation and cellular function in Animal s ,plants and microorganisims.Annual review of Biochemistry. 56.289-315.

-**Thiede,C;Boomfield,C D,Coco,F.and Frohling,S.(2006).**The high prevalence of FLT3-ITD mutations is associated with poor outcom in adult patient With t(6;9) (p23;q34) positive AML – results of international metaana Lysis.Blood. ***23***. 110-115.

-**Thirman,M.;Gill,H.;Burnett,R.and Ziemin,V.(2007).**Rearrangement of the MLL gene in acute lymphoblastic and acute myeloid leukemia with 11q23 chromosomal translocations .New Engl.J.Med.***329***.909-914.

-**Tietz,W.(2005).**Clinical guide to laboratory tests .blood.,38.1-25.

-**Thomas ,K.;Daniel,B.,Lipka,C.and Thomas,F.(2010).**FLT3 as therapeutic target in AML .still challenging after all these years .Blood .***116***(24). 1-19.

-**Uchida,M.;Flenniken,M.L.;Allen,M.;Willits,D.A.and Crowly,B.E.(2006).** Targeting of cancer cells with ferrimagnatic ferritin cage nanoparticales. Journal of American chemical society .***51***.128-134.

-**Urabe,A.(2005).**Erythropoietin determination in clinical medicine.Pub Med. ***41***(4).Abstract .

-**Valent,P.(2008).**Low erythropoitin production as non –oncogenic co factor Contributing to disease –manifestation in low risk MDS.Leuk.Res.***32*** (9).100-110.

-**Van,D.;Wall,R.and Baak,A.(2005).**Prognostic value of proliferation in invasive Breast cancer .areview .Clin Pathol .***57***.675-681.

-**Van,G.;Tsder,K.;Nyion,L.and Myike,C.(2010).**Effect of chemotherapy On blood parameters in acute myeloid leukemia .Oncol.***8***.34-39.

-**Waalen,J.;Felitti,V.;Gelbart,T.and Beutler,F.(2008).**Screening for Hemochromatosis by measuring ferritin levels.amor effective approach .Blood.***111***(7).3373-3376.

-**Weinstein ,HJ and Tarbell,NJ.(2001) .**Leukemia and Lymphomas . Heamatologica .***6***.1-7.

-**Widmaier,P.;Hershel,R .and Kevin,T.(2008).**Atrial natriuretic factor . A hormone produced by the heart .Science.***191***(2).341-346.

-**Wilkes,GM;Ingwersen,K.and Barton,B.(2006).**Oncology drug handbook . Bartlett publisheres .5 th ed .50-100.

-**World Health Organization (WHO) (2009).**Classification of acute mylioed Leukemia .Blood .***100.***2292-2302.

-**Wu,C.;Wang,S.;Wang,F.;Chen,Q.;Peng,S.and Yang,Y.(2009).**Increased Frequencies of T helper type 17 cells in the peripheral blood Patients with acute myeloid leukemia .Immunology.***158***.199-204.

-**Yaghmaie,M.;Gerayeli,N.;Ghaffari,S. and Tootian,S.(2009).**Some Specific chromosomal aberration of hematologic malignancies In 80 Iranian population .JHOSCR.***3***(3).29-33.

-**Yamanishi,H.;Kimura,S. and Yanagihara,T.(2005).**Fully automated of

Serum iron measurements .Clin.Chem.***40***.540-551.

-**Young ,S.(2006).**Effects of drugs on clinical laboratory tests .Clin.Med. ***11***.215-219.

-**Yu-sheng,L.;Fu-chun,C.;Jou-wei,J.and James,L.(2010).**Association of Albuminuria and cancer mortality .national Taiwan university .***19*** (11).1-10.

-**Yves,B.(2005).**Erythropoietin and platelet production .Haematologica.***84***. 541-547.

-**Zoysa,De and Lee,J.(2007) .** Two ferritin subunits cloning ,characterization And expression analysis .Immunologica . ***23(3)*** .624-635.

Summary :

The present study amied to study some cytogenetic ,molecular biology and physiological sides in acute myeloid leukemia (AML) patients before and after chemotherapy in kerbala proviens .The study consist from three axis :

1-Cytogenetic Study consist of cytogenetic testes its :CA,MI,BI the present Study show numerical chromosomal changes in one case from the cases study before chemotherapy its :45,XY,(-1),del(1) ,another case after chemotherapy its 45,XY,t(9;22),In addition high level of MI mean and BI in patient before chemotherapy compared with control decreased level of MI and high level of BI significantly after chemotherapy compared with their mean before therapy while means of BI,MI stay high compared with control after therapy . The present study showed also Occur different chromosomal abnormalities in patient after chemotherapy also studied pedigree analysis.

2- Molecular biological study in this study used Polymerase Chain Reaction (PCR) to identification mutants genes in disease its : FLT3 (Fms like tyrosin kinase)، MLL(Mixed linage leukemia) for numbers of patient before and after chemotherapy, The study showed that occur mutation for three patient first mutation occur with abnormal karyotype after therapy second mutation occur with normal karyotype ,Third mutation occur with abnormal karyotype before therapy for FLT3 gene compared to MLL gene occur mutations for six patients first mutation with normal karyotype after chemotherapy second and Third mutation with normal karyotype before chemotherapy ، fourth mutation with abnormal karyotype befor chemotherapy and Fifth ,sixth mutation occure with normal karyotype before chemotherapy ,The

study showed that tow of patient had mutation in both genes FLT3 and MLL.

3-physiological study Measurement of erythropoietin ,ANP ,Microalbuminurea level, The study showed significant height($p<0.01$) in three parameters levels before chemotherapy in male while female had significant height ($p<0.05$) before chemotherapy compared with control ,and significant hight in erythropoietin ,ANP,Microalbuminurea more after chemotherapy. The study showed high level of Ferritin for patient before chemotherapy while significant decrease($p<0.01$) in Iron ,Total iron Binding capacity and Ferritin levels after chemotherapy ,The present study showed that significant height($p<0.01$) in Total W.B.C and differential count mean while significant decrease($p<0.01$) in platelets count before chemotherapy,signifcant decrease in Total and differential count,platletes count after chemotherapy compared with their means before chemotherapy.

In addition correlation relationship occur between some genetic and physiological parameters, it: significant positive($p<0.05$) relationship between MI and BI in Female after chemotherapy and significant ($p<0.05$) positive relationship ANP ,Microalbuminuria level in Female before therapy , significant ($p<0.01$) positive relationship between number of platelets and erythropoietin level in female after chemotherapy and significant ($p<0.05$) negative relationship between these parameters in male before chemotherapy , significant ($p<0.05$) negative relationship between ferritin levels and TIBC in male before chemotherapy. The present study showed significant correlation relationship between genetic-physiological parameters ,study showed significant($p<0.05$) positive correlation between MI and ferritin levels

in female before chemotherapy and significant($p<0.05$) negative relationship between BI and Iron levels in female before chemotherapy and significant($p<0.05$) positive correlation between BI and lymphocyte in female before chemotherapy , significant($p<0.01$) negative relationship between BI and Nutrophile in female before chemotherapy , significant($p<0.05$) positive correlation between BI and Esinophile in female before chemotherapy and significant($p<0.05$) positive correlation between BI and Basophile in female before chemotherapy ,In addition significant ($p<0.05$) positive relationship between MI and Iron level in male before chemotherapy and significant ($p<0.01$) positive relationship between MI and Esinophile in male after chemotherapy, significant ($p<0.05$) positive relationship between and MI and Iron levels in female after chemotherapy.

1432هـ

2011م

Republic of Iraq

Ministry of higher education and scientific research

College of education

Department of biology

Genetic and phyisyological study for sample of Acute myeloid leukemia patient in Karbala city

A thesis submitted

To the College Of Education ,Karbala University in Partial Fulfillment Of The Requirements For The Degree OF Doctorate Of Philosophy Ph.D. In Molecular Genetic

By

Yasamin Khdaeir Kalaf Al-Ganimi

Supervised by

Prof. Dr. *Haider kamil Zaidan*

Prof. Dr. *Ali Hammod al Saad*

2011م

1432هـ