

التغيرات الكروموسومية والفسيوولوجية لدى مرضى ابيضاض الدم النقياني الحاد AML في محافظة كربلاء

إ.د حيدر كامل زيدان
كلية العلوم / جامعة بابل

إ.د علي حمود السعدي
كلية العلوم / جامعة بابل

م.م ياسمين خضير خلف
كلية التربية / جامعة كربلاء
*بحث مستل من أطروحة الباحث الأول

الخلاصة :

هدفت الدراسة الحالية إلى دراسة بعض المعايير الوراثية الخلوية والوظيفية لدى مرضى ابيضاض الدم النقياني الحاد في محافظة كربلاء (AML) قبل وبعد العلاج الكيميائي وتضمنت الدراسة إجراء الاختبارات الوراثية الخلوية وهي التغيرات الكروموسومية (Chromosomal Abberation (CA) ومعامل الانقسام الخلوي Mitotic Index (MI) ومعامل الأرومة الليفية (BIBlast Index) إذ أظهرت الدراسة حدوث تغيرات كروموسومية عديدة في حالة من الحالات المدروسة قبل العلاج الكيميائي (1) del(1) (-1),XY 45,XY والحالة الأخرى بعد العلاج الكيميائي وهي tXY,45(9;22) بالإضافة إلى ارتفاع معدلات معامل الانقسام الخلوي MI ومعدلات معامل الأرومة الليفية BI لدى المرضى قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية في حين انخفضت معدلات MI وارتفعت معدلات BI معنويًا بعد العلاج الكيميائي عند مقارنتها مع معدلاتها قبل العلاج. في حين بقيت معدلات BI, MI مرتفعة مقارنة بالعينة القياسية بعد العلاج الكيميائي كما تم قياس مستويات هرمون الأريثروبويتين Erythropoietin والبيبتيد الصوديومي الألدوني ANP (Atrial Natriuritic Peptide) والبروتين البولي المجهرى (Microalbuminuria) حيث بينت الدراسة حدوث ارتفاع معنوي ($p < 0.01$) في مستويات المعايير الثلاثة قبل العلاج الكيميائي في الذكور. أما الإناث فكان الارتفاع معنويًا ($p < 0.05$) قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية، وكان الارتفاع معنويًا في مستويات هرمون الأريثروبويتين وال ANP والبروتين البولي المجهرى (Microalbuminuria) أكثر بعد العلاج الكيميائي.

Summary :

The study aimed to study some cytogenetic, and physiological sides in acute myeloid leukemia (AML) patients before and after chemotherapy in Kerbala province. The study cytogenetic tests include: chromosomal aberration (CA), Mitotic index (MI), Blast index (BI). The result shows numerical chromosomal changes in one case from the studied cases 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 the control decreased level of MI and high level of BI significantly after chemotherapy compared with their mean before chemotherapy 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. Measurement of erythropoietin, ANP, Microalbuminuria 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 height in erythropoietin, ANP, Microalbuminuria more after chemotherapy.

المقدمة :

أوضحت الدراسات الخلوية لابيضاض الدم النقياني الحاد (AML) طبيعة هذا المرض من عدة نواحي ومنها التغيرات النسجية المرضية (Histopathology) و (الطرز المناعية Immunophenotypic) والتغيرات السريرية (Clinical changes)، وقد شخّصت العديد من التغيرات الكروموسومية والتي لها علاقة بظهور المرض ومنها ثلاثية كروموسوم رقم 8 (trisomy 8) والانتقالات الكروموسومية (q22;q22) (8,21) و الانتقالات الكروموسومية inv(16), p13;q22) وغيرها التي أدت إلى حدوث هذه التغيرات [1].

إن أكثر التغيرات علاقة بالـ AML هي الانتقالات الكروموسومية (Translocations) والانتقالات (inversions) والتي لها دور في حدوث المرض وبالتالي سهلت عملية التشخيص، بالإضافة إلى ذلك فإن التغيرات الكروموسومية المكتسبة شخّصت على المستوى الجزيئي وعادة تجرى التحاليل الوراثية الخلوية على عينة من نخاع العظم أو الدم (وهي الأغلب) إذ تظهر تغيرات

تركيبية أو توجد نسخة إضافية من نفس الكروموسوم أو فقدان الكروموسوم فحددت هذه التغيرات الكروموسومية التركيبية والعددية في 54% إلى 78% من المرضى [2].
 ان أكثر التغيرات شيوعاً هي الانقلاب في كروموسوم (16) inv، الانتقال بين كروموسوم 19 و 11 (1911, t) والانتقال بين كروموسوم 15 و 17 (15,17) t. وهناك نسبة من المرضى تظهر لديهم الخارطة الكروموسومية بشكل طبيعي لكنه من الممكن ان تكون قد حدثت لديهم تغيرات في جينات معينة مثل PML – RAR التي تحدث بواسطة انتقال بين كروموسوم 15 و 17t(15;17) أو CBFB, MYH11 الناتج عن (16) inv. في بعض الحالات نجد ان التغيرات الجينية قد يحدث نتيجة إعادة الترتيب المخفي والتي تتضمن حذف قطعة صغيرة من حزمة كروموسومية معينة والتي قد تكون غير مميزة بالتحاليل الوراثة الخلوية القياسية مثل بعض الانغراسات insertion المخفية لقطعة صغيرة جداً من الذراع القصيرة للكروموسوم 17(q,17) والتي تكون حاوية على جين RAR الى موقع جين الـ PML على الذراع الطويلة للكروموسوم 15(P,15). [3]. ومن الناحية الفسيولوجية بينت الدراسات ان للاريتروبايوتين تأثير مهم في تحفيز انتاج ارومة الخلايا الحمراء الاولية proerythroblasts 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 الاريتروبايوتين الى المستوى الذي يحافظ به على اعداد خلايا الدم الحمر المطلوبة دون زيادتها عند الحد الطبيعي. تنتج الكلية في الشخص الاعتيادي حوالي 90% من الاريتروبايوتين اما الباقي ينتج خلايا في الكبد، وعند ما يصاب الشخص بفقر الدم يصبح الدم غير قادر على اصال الاوكسجين بشكل كافي من الكلية الى بقية الانسجة لذلك يحفز انتاج الاريتروبايوتين [4] عند حدوث الاصابة بابيضاض الدم الحاد النخاعية (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 الاريتروبايوتين لإيصال اعداد الخلايا إلى المستوى الطبيعي. بينت عدد من الدراسات ان ارتفاع مستويات هرمون الـ ANP تستخدم كعلامة مهمة للعديد من الأمراض ومنها الأمراض التي لها علاقة بالقلب، تحديد الفشل القلبي الأولي Acute myocardial infraction، تشخيص الفشل الكلوي المزمن Chronic renal failure (CRF) وتشخيص أمراض الكبد [5]. كما ترتفع مستويات الـ ANP في البلازما ويدل هذا الارتفاع على حدوث خلل في معدل ترشيح كبيبات الكلوتين نتيجة الإصابة ببعض الأمراض لاسيما الـ (AML) بالإضافة إلى تأثيرات بعض العقاقير المستخدمة في العلاج الكيميائي لابيضاض الدم على الكلوتين والقلب [6].

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

تم إتباع طريقة [7] تحضير المواد والمحاليل الكيميائية.

طرائق العمل Methods

تم اخذ العينات من المرضى المصابين بأبيضاض الدم الحاد (AML) Acute myloied leukemia لـ (55) مريضاً قبل وبعد العلاج الكيميائي ومقارنتها بـ (30) فرداً من الأصحاء مظهرياً لغرض إجراء الفحوصات الوراثة الخلوية والفسيولوجية.

جمع عينات الدم Blood collection

سحب (7) مل من الدم الوريدي لإجراء الاختبارات أعلاه وتم استخدام طريقة Short term culture و بواسطة محقنة نبيذة مغطاة من الداخل بمادة الهيبارين سحب (3) مل إذ تم رجها بشكل خفيف لمنع تخثر الدم، ثم نقلت بواسطة صندوق مبرد إلى مختبرات جامعة كربلاء - قسم علوم الحياة بوقت لا يتعدى أـ (24) ساعة لإجراء الاختبارات الوراثة الخلوية والفسيولوجية.

زرع الخلايا Cell culture

أخذ (5 - 7) قطرات من الدم وأضيف إلى أنابيب الزرع المحضرة مسبقاً والمحتوية على (5) مل من الوسط الزرع RPMI 1640 والمحتوية على (0.1) مل من محفز النمو (PHAPytohemoaglotinin) ثم خلطت جيداً بعد ذلك وحضنت في درجة حرارة 37° م لمدة 71 ساعة، إذ 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 الحضانة إلى 72 ساعة.

حصاد الخلايا Harvesting

1. أخرجت الأنابيب من الحاضنة بعد اكتمال مدة الحضانة ووضع 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 الزرع في قعر الأنبوب.
3. رج الراسب جيداً باستخدام الخلاط الكهربائي ثم أضيف 10 مل من محلول KCL الواطئ الشد بتركيز (0.075) مولاري ودرجة (37) م° تدريجياً قطرة قطرة مع التحريك والرج المستمر وضعت الأنابيب في الحمام المائي لمدة 20 دقيقة بدرجة 37° م°.

التثبيت Fixation

- 1- نقلت أنابيب الاختبار الى جهاز الطرد المركزي بسرعة (1500) دورة / دقيقة ولمدة (10) دقائق ثم أزيل ورج الراسب بواسطة الخلاط الكهربائي بعد ذلك وضيف لكل انبوبة (5) مل من المثبت المحضر انيا والمكون من الميثانول المطلق وحمض الخليك الثلجي بنسبة 3:1.
- 2- نقلت الأنابيب إلى جهاز الطرد المركزي بسرعة (1500) دورة / دقيقة ولمدة (10) دقائق ثم أزيل الرائق وحفظت الخلايا بعدها في الثلجة بدرجة 4م بعد اضافة 5 مل من المثبت .

تحضير الشرائح الزجاجية Slide preparation

- 1- تم تحضير الشرائح الزجاجية وذلك بمسك الشريحة الزجاجية بالماء البارد المثلج بوضع مائل بزاوية (45) يقطر عليها من (2-3) قطرات من الخلايا بوضع عمودي ومن ارتفاع بحدود (60) سم .
- 2- صبغت الشرائح الزجاجية أنيا بصبغة كمزا وتركت لمدة (2-2.5) دقيقة وبعدها تم غسلها بمحلول سورنسن ثم تركت لتجف .

التحزيم Banding

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

معامل الانقسام Mitotic index (MI)

يحسب عدد الخلايا للمفاوية المنقسمة لكل 1000 خلية واستخرج معامل الانقسام [8] .

دليل الخلايا الارومية للمفاوية Blast index

تـحسب عدد الخلايا اللـمفاوية الارومية لـكل 1000 خلية ويستخرج دليل الخلايا الارومية اللـمفاوية وفق [8] .

قياس مستويات هرمون الايثروروبايوتين: Measurement of Erythropoitin levels

تم العمل بدرجة حرارة الغرفة (حسب الطقم الخاص بقياس هرمون الايثروروبايوتين)

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

وتم العمل (حسب الطقم الخاص بقياس الببتيد الصوديومي الأذيني ANP) .

قياس مستويات الالبومين المجهرى البولي : Measurement of microalbuminuria Levels

تم العمل حسب الطقم الخاص بقياس الالبومين المجهرى البولي .

النتائج والمناقشة Results and Dissection

تعد التحليلات الوراثية الخلوية من أهم العلامات التي تستخدم للتشخيص الأولي لايبيضاض الدم الحاد الـ AML ومن أهم العلامات المستخدمة للدلالة على الإصابة بهذا المرض هي الانتقالات الكروموسومية chromosomal translocation والانتقالات الكروموسومية [9] chromosomal inversions وتختلف الانتقالات الكروموسومية حسب خطورة الإصابة فبعض التغيرات تؤدي الى اصابة عالية مثل الانتقالات بين كروموسوم 21,8 (q22;q22) (8;21) t وانقلاب كروموسوم (16) (p13.q22) inv (16) وهناك اصابات متوسطة للمرضى الذين لا تظهر لديهم تغيرات وراثية خلوية بل تغيرات جينية وزيادة في كروموسوم رقم 8 (8+) , (p22q23) t (9,11) وبعض التغيرات الغير معروفة للان [10] ومنها تغيرات كروموسومية تكون ذات اصابة قليلة, منها نقص في الذراع القصير لكروموسوم رقم 5 وانقص الكروموسوم نفسه (-) (5,5q-) وانتقال كروموسومي بين (q21q26) (3;3) t وانتقال بين كروموسوم 22,9 (9,22) وبينت الدراسة الحالية وجود تغيرات كروموسومية قبل العلاج الكيميائي اذ كانت الهيئة الكروموسومية (1) del (-), XY,45, شكل (1) وهذا يتطابق مع العديد من الدراسات ومنها دراسة [11] 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 nucleophosmin (NPM1) وكذلك (p32;q23) (1;11) t والتي تتضمن حدوث طفرة في جين Mixed linge leukemia (MLL) وكذلك التغيرات الكروموسومية التي تعد اكثر شيوعا لمرضى ابيضاض الدم ومنها حدوث حذف في الذراع الطويل لكروموسوم رقم (1) (q21) (1) del والتي لم تشخص على المستوى الجزيئي واطهرت الدراسة الحالية شكل (2) وجود تغيرات في الهيئة الكروموسومية (9:22), XY,45, t بعد العلاج الكيميائي, إذ إن العلاج الكيميائي يعمل على إيقاف النمو الشاذ للخلايا antineoplastic وتعمل معظم الأدوية الكيميائية المدمرة للخلايا السرطانية بالتأثير على الدنا DNA بعرقلة 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 ويؤثر في دورة حياة الخلية [12].

واوضحت دراسة [13] إن هناك علاقة ايجابية بين العلاج الكيميائي وبين حدوث التغيرات الكروموسومية والتي يمكن إن تؤثر أيضا في المستوى الجزيئي وحدوث طفرات في جينات معينة مثل FLT3 ، NPM1 ، CEBPA ، وهذا يتطابق مع دراسة [14] والتي تمت على مرضى LAM 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 الحالية مع [15] والتي بينت حدوث تغيرات كروموسومية لدى المرضى مثل t (4;12) و t (9;22) و del (20q) نتيجة جرعات مختلفة من عقاري الـ cytarabine والـ daunorubicin . وفي الدراسة الحالية جدول (1) ارتفعت معدلات الانقسام الخلوي ومعامل التحسس لدى الذكور والإناث مقارنة بالسيطرة وكان هذا الارتفاع معنويا ($p < 0.05$)، وبصورة عامة لوحظ إن هذا العامل يرتفع بشكل معنوي عند الإصابة بالأمراض السرطانية [16]. 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 اظهرت الدراسة جدول(2) انخفاض معدلات الانقسام الخلوي معنويا ($p < 0.05$) لدى الذكور والإناث بعد العلاج مقارنة بقبل العلاج الكيميائي ولكنها بقيت مرتفعة مقارنة بالعينة القياسية، ربما يعود السبب إلى إن احد أهداف برنامج العلاج هو إيقاف سرعة انقسام الخلايا والحد منها عن طريق التداخل العلاجي أو إيقاف تأثير العامل الخارجي في انقسام الخلايا مما أدى الى ارتفاع معدلات معامل التحسس لدى الذكور والإناث بعد العلاج الكيميائي مقارنة بقبل العلاج الكيميائي وهذا يدل على إن العلاج الكيميائي يزيد من تميز الخلايا للمقاومة وانقسامها لذلك ينخفض عدد الخلايا للمقاومة وتوقف الخلايا عند مرحلة الخلية الارومية [17]، إذ إن هذا العامل يزداد في حالات الإصابة بسرطانات الدم وخاصة [18] AML. الاريثروبيوتين Erythropoietin هرمون يفرز 90% منه بواسطة الكلية و 10% 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 وبينت الدراسة الحالية جدول(3) زيادة معنوية ($p < 0.01$) في مستويات الاريثروبيوتين لدى المرضى من الذكور و $p < 0.05$) لدى الإناث قبل العلاج الكيميائي وهذا يتطابق مع دراسة [19] التي اظهرت ارتفاع مستويات هرمون الاريثروبيوتين لدى مرضى الـ lymphoma و ابيضاض الدم leukemia والذي يؤدي إلى إنتاج عدد قليل من خلايا الدم الحمر بدوره يؤدي الى اصابة المرضى بأمراض الكلى او الكبد . وهذا يتفق مع دراسة [20] . وتتطابق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة [21] 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) وجود ارتفاع معنوي عند مستوى $p < 0.01$) لدى الذكور و $p < 0.05$) لدى الإناث 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 [22] وتطابقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة [23] 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 الاريثروبيوتين EPO لدى المرضى بعد العلاج حيث اظهرت الدراسة ارتفاع في نسبة EPO وانخفاض نسبة الهيموغلوبين وبالتالي انخفاض اعداد خلايا الدم الحمر وأظهرت دراسة [24] ان المرضى الذين يعالجون كيميائيا والذين يصابون بـ Myelodysplastic syndrome بعد العلاج الكيميائي يرتفع مستويات هرمون الاريثروبيوتين EPO مقارنة بالمرضى قبل العلاج الكيميائي. وبينت الدراسة الحالية جدول (5) (6) ارتفاع معنوي في مستويات هرمون ANP والالبومين المجهرى البولي قبل العلاج الكيميائي قبل وبعد العلاج الكيميائي ولكن الارتفاع كان أكثر بعد العلاج الكيميائي حيث ان هرمون الـ ANP يؤثر على وظيفة الكلية وتوازن ضغط الدم في الجسم ويرافق ارتفاع مستويات هذا الهرمون ارتفاع في مستويات الالبومين المجهرى البولي Microalbuminuria ويسبب هذا الارتفاع في كلا العاملين التأثير على الكلية [25] وتتطابق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة [26] والتي أجريت على 180 مريضا قسم منهم مصاب بابيضاض الدم النخاعي الحاد AML والقسم الاخر مصاب بابيضاض الدم للمقاوي الحاد ALL أظهرت اصابة اغلب المرضى بأمراض الكلى والكبد والتي ربما تكون ناتجة عن ارتفاع مستويات هرمون الـ ANP الذي يؤثر على وظائف الكلى والكبد والقلب ويتداخل تأثيره على بعض الهرمونات لاسيما Thyroid hormone وأظهرت دراسة [27] ارتفاع في مستويات الالبومين المجهرى البولي لدى مرضى سرطان الرئة بشكل كبير مقارنة بالعينة القياسية وربما يعود السبب الى تداخل عمل الالبومين المجهرى البولي وارتفاع نسبة الـ ANP ويمكن ان يستخدم ارتفاع مستويات الالبومين المجهرى البولي كعلامة لعدد من الامراض السرطانية وبينت دراسة [28] وجود علاقة ايجابية بين مستويات الالبومين المجهرى البولي وكافة أنواع السرطان وخاصة في الرجال وتتنوع هذه النسبة بين سرطان الرئة والبروستات prostat cancer وتطابقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة [29] والتي بينت انه ممكن ان تعكس مستويات الالبومين المجهرى البولي درجة شدة المرض عند مرضى السرطان وبالذات ابيضاض الدم . تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة [30] ارتفاع مستويات الـ ANP والـ BNP بعد العلاج الكيميائي لعدد من مرضى السرطان . واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة [31] والتي بينت ارتفاع مستويات الـ ANP لدى الأطفال الذين يعانون من ابيضاض الدم والذين يعالجون بعقار الدوكسوروبين doxorubicin. وظهرت الأمراض القلبية لدى اغلب المرضى وترتفع مستويات الالبومين المجهرى البولي لدى اغلب المرضى بعد العلاج الكيميائي والعلاج الاشعاعي [32] وهذا يتطابق مع النتائج الحالية .



شكل (1) كروموسومات احد مرضى اللوكيميا قبل العلاج الكيميائي محضرة بطريقة التحزيم اذ يلاحظ حدوث تغيرات عددية وتركيبية $45,XY,(0 - 1), del(1)$



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



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

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

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

المعدل ± الخطأ القياسي
* p<0.05
** p<0.01

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

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

المعدل ± الخطأ القياسي

p<0.05*

p<0.01**

جدول (3) مستويات هرمون الاريثروبويتين,مستويات هرمون الـ ANP ومستويات الالبومين المجهرى البولي لدى الذكور و الإناث المصابين ب AML قبل العلاج الكيميائي مقارنة بالعينة القياسية

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

المعدل ± الخطأ القياسي

p<0.05 *

p<0.01**

جدول (4) مستويات هرمون الاريثروبايوتين,مستويات هرمون ال-ANP ومستويات الالبومين المجهرى البولوى لى الذكور و الإناث المصابين بAML بعد العلاج الكيمايى مقارنة بالعينة القياسية

المجموعة او الفئة	العدد (N)	مستويات هرمون الاريثروبايوتين mIU/ml	مستويات هرمون ال-ANPpg/ml	مستويات الالبومين المجهرى البولوى mg/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 القياسى

p<0.05 *

p<0.01**

المصادر :

- 1-Michaud ,J;Wu,F,Osato,M.andCottles,G M.(2005).In vitro analyses of Known and noval mutation RUNX1 / AML 1 ,implecation for Mechanismes of pathogenesis. Blood .99.1364-1372.
- 2-Mrozek,k;Marcucci,G;Paschka,P.andWhitman,SP. (2007). clinical relevance of Mutations and gene –expression changes in adult acute myliod Leukemia with normal cytogenetics .Blood .109 . 43-48.
- 3- Harrison ,P;Pulsoni ,A;Tosti,M.andMele,L.(2009).Clinical and Biological Features of acute myliod leukemia occuring as second malignancy Br J Haematol .12.95-100.
- 4-Fisher,J W.(2003).Pharmacologic modulation of erythropoietin production Annu Rev pharmacolToxicol .28.10-22.
- 5- Shiota,V.;Arjamaa,O. and Kokkonen ,K.(2005).Anovalcardic hormone Related to A,B and C.type natriuretic peptides.Endocrinology .25. 139(9).2-10.
- 6- Meyer,B.;Larson,T.andRobertson,L.(2006).Effect of atrial natiureticPeptide on vasa recta blood flow in human .Am.J.Physiol.25.1-5 .
- 7- Cowell, H.B. (1982) : Types of Chromosomal Changes in human and animal. Carcinog. Mutagen. 22:8 – 51.
- 8-Ghosh, B.; Talukder, G.and Sharma, A. (1991) . Effects of Culture media on Spontaneousincidence of Mitotic index, Chromosomal aberrationsMicronucleus count sister Chromatid exchanges and cell cycle kinetics inperipheral blood lymphocytes.med . Toxicol. 11 . 21 – 30.
- 9- Grimwade,D.;Hills,R.andWanger,K.(2009).Independent prognosticfactores AML outcome . Hematology .34.385-395.

- 10-**Dohner,H.;Estey,E.andAmadori,S.(2010)**. Dignosis and management Of acute myeloid leukemia in adults .recommendations from international expert panel . Blood .**115**.453-466.
- 11- **Krzysztof ,M. and Bloomfield ,C.(2006)** .Chromosome aberrations ,gene Mutation and expression changes and prognosis in adult acute myeloid Leukemia .Hematology .**26**.169-177.
- 12- **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.
- 13 -**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.
- 14- **Hagop,M.;Susan,B.;Xuelin,H.;Guillermo,G.andManero,M.(2007)**. Survival Advantage with decitabine versus intensive chemotherapy in patients With higher myelodysplastic syndrome .NIH.**109**(6).1-9.
- 15- **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.
- 16-**Ghali,K.H.(2002)**.Genetic and Immunological Study on Iraqi Patients with BladderCancer. PhD. Thesis.. Al- Mustansiriyah. Univ.
- 17-**Rowe,J.(2006)**.Significant advances in the biology and therapy of AML Over the past four decades.Clin.Hematol.**19**.259.262.
- 18- **القيسي ,ضحى سالم . (2005)** : دراسة المقاومة العلاجية لمرضى السرطان اللمفاوي باستخدام التقنيات الوراثية الخلوية . رسالة ماجستير . كلية الطب . الجامعة المستنصرية .
- 19-**Valent,P.(2008)**.Low erythropoietin production as non –oncogenic co factor Contributin g to disease –manifestation in low risk MDS.Leuk.Res.**32**(9).100-110.
- 20- **Urabe,A.(2005)**.Erythropoietin determination in clinical medicine.Pub Med. **41**(4).Abstract .
- 21-**Richmond,T;Chohan,M.andBarbr,D.(2005)**.Turning cells red .signal transduction mediated by erythropoietin. Cell Biol.**15**(3).146-155.
- 22- **Powers,M.;Nishino,L.;Raza,A.andZu,C.(2007)**.Polymorphisms in TGF beta And TNF alpha are associated with myelodysplastic syndrome Phenotype . Arch Pathol Lab Med .**131**(12).1789-1793.
- 23-**Mualla ,G.;Sule,U.;Fatma,A.;Aytemiz,G.andCigdem,A.(2008)**.Serum Erythropoietin levels in pediatric hematologic disorders and impact Of recombinant human erythropoietin use .Hacettepeuniv .**26** .72-76.
- 24- **Greenberg ,P.;Sun,Z.;Miller,k.;Bennett,J.andTaliman,M.(2009)**. Treatment Of myelodysplastic syndrome patients with erythropoietin with or Without granulocyte colony – stimulating factor .resultes of prospective Randomized phase 3. Blood.**114**(12).312- 320.
- 25- **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.
- 26- **George,K.;Antonis ,P.;Ioanna,T.andDimitrios,P.(2006)**. Normalization of Thyrioed hormone level in patients with either hyper or hypothyrodesimResulets in profound change of atrial natriuretic peptide (ANP) level . Hormones.**1**(2).104-112.
- 27-**Pederson.L. and Milman,N.(2007)**.Microalbuminurea in patients with lung Cancer . Pub Med.**34**(1). Abstract .

- 28- **Yu-sheng,L.;Fu-chun,C.;Jou-wei,J.andJames,L.(2010).**Association of Albuminuria and cancer mortality .national Taiwan university .*19* (11).1-10.
- 29- **Lone,J.;Ivar,H.;Trond,J.andBjarne,K.(2008).**Association of albuminureaAnd cancer incidence .Nephrol.*19*.1-12.
- 30- **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.
- 31- **Hayakawa,H.;Komado,Y.;Hirayama,M.andHori,H.(2006).**Plasma level of natriuratic peptides in relation of doxorubicin – induced cardiotoxicity and cardiac function in children with cancer .Pub Med.*37*(1).Abstact .
- 32-**Nuver,J.;Smith,A.;Sleijfer,D.andVangessel,A.(2005).**Microalbuminurea,Decreased ibrinolysis and inflammation as early signs of atheroscleros In long term survivors of disseminated testcular cancer . Pub Med.*40*(5). Abstract .