الجمهورية العربية السورية
جامعـــــــة دمشـــــــق
كليـــــــة الطـب البشـري
قســـــم الطب المخبري

دراسة دور السيرغليسين كواسم حيوي لتمييز الابيضاض النقوي الحاد عن الابيضاض اللمفاوي الحاد

Studying the role of serglycin as a biomarker to differentiate acute myeloid leukemia from acute lymphoblastic leukemia

بحث علميّ أعدّ لنيل شهادة الماجستير في الطب المخبري

إشـراف رئاســـة

أ.د. تهاني علي أ.د. رويدة أبو سمرة

إعـداد طالبة الدراسات العليا

رهام نوفل

٢٠١٧

قرار لجنة الحكم

تصريح

"لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة تم اقتباسه بالكامل من عمل علمي آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في جامعة دمشق أو أي جامعة أخرى أو أي معهد تعليمي"

كلمة شكر

لابد لي بداية أن أقف احتراماً وحباً لصانعي نجاحي :الشام ، أهلي .

خالص شكري و امتناني لكل من بذل جهداً وساعدني لتقديم هذا العمل المتواضع.

تعجز كلماتي عن شكر من علمتني أن للنجاح قيمة ومعنى.. و كيف يكون التفاني والإخلاص في العمل.. ومن معها آمنت أن لا مستحيل في سبيل الإبداع و الرقي: الأستاذة الدكتورة **تهاني علي** التي تفضلت مشكورة بالإشراف على هذا البحث، فقدمت لي من خبرتها وحكمتها الكثير فضلا عن مساعدتها ودعمها الدائم خلال سنوات الاختصاص، لك مني عميق الشكر والامتنان.

الدكتورة **فيحاء أبو فخر** لتفضلها مشكورة بالمشاركة في لجنة الحكم، بالإضافة أنها لم تتوانى يوما عن مد يد المساعدة وبث روح التفاؤل في نفسي. لها مني خالص التقدير والاحترام.

الأستاذ الدكتور **عثمان حمدان،** رئيس قسم أمراض الدم في مشفى الأطفال الجامعي، لتفضله مشكوراً بالمشاركة في لجنة الحكم و إثرائه بالنصائح والتوجيهات، له مني جزيل الشكر والعرفان.

فائق الشكر والاحترام لجميع أساتذتي في قسم الطب المخبري، كلية الطب البشري، جامعة دمشق لما قدموه لي من خبرة ودعم في مسيرتي العلمية هذه.

تحية شكر و محبة إلى زملائي في قسم الطب المخبري لماقدموه لي من دافع كبير لإنجاز هذا العمل.

وأخص بالشكر صديقتي **رقية حسن** ...التي كانت خير سند ودعم في كل خطوة ومرحلة في هذا الدرب، لها مني عميق الشكر والامتنان.

تعجز الكلمات عن شكر صديقتي وأستاذتي، التي كانت نجمة كتبي فأنارت أيامي منذ أن بدأت خطاي في هذه المدينة. شكرا لك **أميرة النور**.

كل الشكر والامتنان لزملائي طلاب الدراسات العليا في شعبة أمراض الدم في المشافي الجامعية، فقد كانوا خير معين لي في إنجاز هذا البحث.

لا بدَ من الوقوف بكل احترام وتقدير أمام هذا الصرح العلمي العريق جامعة دمشق، مقدرة جهود رئاسة الجامعة وجهود إدارة كلية الطب البشري ممثلة بالأستاذ الدكتور **نبوغ العوا** عميد كلية الطب البشري، والأستاذة الدكتورة **ميسون قدسي** نائب العميد للشؤون العلمية، والأستاذ الدكتور **علي عمار** نائب العميد للشؤون الإدارية لما يبذلونه من جهود في سبيل تطوير البحث العملي في الكلية.

راجية في النهاية أن أكون قد قدمت في هذا العمل علماً يُنتَفعُ به ..والحمدلله رب العالمين.

رهام نوفل

قائمة المحتويات: ContentsList of

قائمة الرسوم التوضيحية:List of figures ٩

قائمة الجداول List of Tabe:..... ١٠

قائمة المخططات والأشكال التوضيحية: List of Illustration ١١

قائمة الاختصارات : List of abbreviation ١٢

تمهيد :Introduction..... ١٤

أهداف البحث: Aims of the study.....١٥

المراجعة النظرية ١٦

الابيضاض الحاد :Acute Leukemia..... ١٧

١- تعريف الابيضاض الحاد: ١٧

٢- الوبائيات Epidemiology:..... ١٧

٣- الأسباب Etiology : ١٩

٤- الأعراض والعلامات السريرية: ٢٠

٥- تشخيص الابيضاض الحاد: ٢١

٥-١- الموجودات المخبرية: ٢١

٥-٢- الدراسة الشكلية Cytomorphology:..... ٢٢

٥-٣-التلوينات الكيميائية الخلوية Cytochemistry:..... ٢٣

٥-٤-التنميط المناعي Immunophenotyping: ٢٤

٥-٥-الوراثة الخلوية Cytogenetic:..... ٢٥

٥-٥-١- طريقة التهجين التألقي الموضعي (FISH) : ٢٦

٥-٦- الطرق الجزيئية Molecular Methods:..... ٢٦

٦- تصنيف ابيضاض الدم الحاد: ٢٧

٦-١- التصنيف الفرنسي البريطاني الأمريكي(FAB) للابيضاض النقوي الحاد:..... ٢٧

٦-٢- تصنيف منظمة الصحة العالمية WHO للابيضاض النقوي الحاد: ٢٩

٦-٣- التصنيف الفرنسي البريطاني الأمريكي FAB للابيضاض اللمفاوي الحاد: ٣٠

٦-٤- تصنيف منظمة الصّحة العالميّة WHO للابيضاض اللمفاوي الحاد:..... ٣٠

٧- الإنذار: Prognostic: ٣١
٨- المعالجة Treatment: ٣٢
السيرغليسين Serglycin ٣٤
١- اكتشاف السيرغليسين: ٣٤
٢- بنية السيرغليسين: ٣٦
٣- أماكن وجود السيرغليسين: ٣٧
٤- وظيفة السيرغليسين البيولوجية: ٣٨
٥- وظيفة السيرغليسين المفرز: ٤٢
٦- استقلاب السيرغليسين المفرز: ٤٣
٧- دور السيرغليسين في الأمراض: ٤٤
٧-١- دور السيرغليسين في إمراضية الأورام: ٤٥
٧-٢- السيرغليسين في الورم النقوي العديد Multiple Myeloma: ٤٦
٧-٣- دور السيرغليسين في الأورام غير الدموية: ٤٦
٧-٤- سرطان الثدي Breast cancer ٤٧
الدراسة العملية ٤٨
١- المواد والطرائق Material and Design : ٤٩
١-١- تصميم الدراسة Study Design: ٤٩
١-٢- عيّنة الدراسة Study Group: ٤٩
١-٣-معايير التضمين في الدراسة Inclusion Criteria : ٤٩
١-٤- معاير الإقصاء من الدراسة Exclusion Criteria : ٥٠
١-٥- مرافق الدراسة The Research Setting: ٥٠
١-٦- مراحل الدراسة: ٥٠
١-٧- المواد المستخدمة في البحث: ٥١
١-٨- الأجهزة المستخدمة: ٥١
١-٩- طريقة العمل: ٥١
١-١٠- طريقة حساب تركيز السيرغليسن: ٥١
١-١١-عملية تحليل البيانات Data processing and analysis: ٥٢

٢- النتائج والدراسة الإحصائية Results ans statically analysis: ٥٣
الدراسة الوصفية: ٥٣
الدراسة التحليلية: ٥٧
المناقشة Discussion: ٧٦
الاستنتاجات Conclusions: ٧٩
التوصيات والمقترحات :Recommendations and Suggestions ٧٩
ملخص: ٨٠
Abstract: ٨٠
Refrences المراجع ٨١

قائمة الرسوم التوضيحية:List of figures

رسم توضيحي١::نسبة حدوث ووفيات السرطانات في سوريا حسب WHO لعام ٢٠١٢ ..... ١٩

رسم توضيحي2: الفروق الشكلية لخلايا الابيضاض النقوي واللمفاوي الحاد.(١٩) ٢٢

رسم توضيحي 3: الأورمات النقوية في لطاخة دم محيطية ولطاخة نقي عظم.(٢٠) ٢٣

رسم توضيحي4: الأورمات اللمفاوية في لطاخة دم محيطية ولطاخة نقي عظم(٢٠) ٢٣

رسم توضيحي :5 التلوينات الكيميائية التي تأخذها الأورمات النقوية واللمفاوية في الابيضاض الحاد.(١٩) ٢٤

رسم توضيحي6 : إيجابية MPO في الأورمات النقوية و الاستيراز الانوعية للأورمات الوحيدة(٢٠) ٢٤

رسم توضيحي 7: يوضح أهم واسمات الخلايا النقوية.(23) ٢٥

رسم توضيحي 8: أهم واسمات الخلايا الدموية النقوية واللمفاوية.(22) ٢٥

رسم توضيحي ٩: تألق الصبغيات باستخدام FISH ٢٦

رسم توضيحي ١٠: تصنيف الابيضاض النقوي الحاد حسب WHO.(23) ٢٩

رسم توضيحي ١١: تصنيف الابيضاض اللمفاوي الحاد حسب FAB.(٢٦) ٣٠

رسم توضيحي ١٢:تصنيف الابيضاض اللمفاوي حسب WHO لعام ٢٠١٦(٢٣)..... ٣١

رسم توضيحي ١٣: موقع وجود السيرغليسين..... ٣٤

رسم توضيحي 14: بنية مورثة السيرغليسين.(٧)..... ٣٥

رسم توضيحي ١٥:شكل ترسيمي لبنية السيرغليسين ٣٦

رسم توضيحي ١٦:يوضح بنية بروتين السيرغليسين وأنواع سلاسل GAG التي ترتبط به.(٧)..... ٣٦

رسم توضيحي١٧: توزع سلاسل GAG والوسائط التي ساهم السيرغليسين بتخزينها في حبيبات الخلايا.(٦)
..... ٣٩

رسم توضيحي ١٨: وظيفة السيرغليسين في أنواع الخلايا المختلفة.(٣)..... ٣٩

رسم توضيحي ١٩: الدور البيولوجي للسيرغليسين..... ٤١

رسم توضيحي 20: دور السيرغليسين داخل وخارج الخلية. ٤٣

رسم توضيحي ٢١:صورة توضح وظائف السيرغليسين البيولوجية والمرضية.(٥) ٤٥

رسم توضيحي ٢٢: دور السيرغليسين في الالتهاب والأورام..... ٤٧

رسم توضيحي ٢٣:المنحني المعياري الممثل لتراكيز السيرغليسين العيارية مقابل الامتصاصية المقاسة... ٥٢

قائمة الجداول List of Tabe:

جدول1:توزع عينة البحث وفقا لنمط الايبضاض. ٥٣

جدول 2: توزع عينة البحث وفقاً لجنس الفرد والمجموعة المدروسة..... ٥٤

جدول3: توزع عينة البحث وفقاً للمرحلة العمرية للفرد. ٥٥

جدول 4: النسبة المئوية لعينة البحث حسب تعداد الكريات البيضاء..... ٥٦

جدول ٥: الفروق في متوسط قيم تركيز السيرغليسين بين مجموعة مرضى الابيضاض الحاد ومجموعة الأصحاء..... ٥٧

جدول٦: نتائج دلالة الفروق في متوسط قيم تركيز SG بين مجموعة AML ومجموعة ALL..... ٥٨

جدول7: نتائج دلالة الفروق في متوسط قيم تركيز السيرغليسين بين مجموعة الذكور ومجموعة الإناث. ٥٩

جدول8: نتائج دلالة الفروق في متوسط تركيز SGبين مجموعة الأطفال ومجموعة البالغين في مجموعة مرضى الابيضاض الحادّ ٦٠

جدول9: علاقة تركيز السيرغليسين مع المرحلة العمرية عند مرضى الابيضاض الحاد النقوي واللمفاوي. . ٦١

جدول10: نتائج مستوى الدلالة بين الأشخاص الأصحاء وكل من الابيضاض النقوي الحاد ومرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد. ٦٢

جدول11: نتائج دلالة الفروق في متوسط تركيز SG بين مجموعة المرضى الذين كان لديهم WBC ضمن الحدود الطبيعية ومجموعة المرضى الذين WBC أعلى من الطبيعي في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ..... ٦٧

جدول12: نتائج دلالة الفروق في متوسط تركيز السيرغليسين بين مجموعة مرضى AML ومجموعة مرضى ALL وفقاً لحالة تعداد الكريات البيض WBC..... ٦٩

جدول13: نتائج دراسة دلالة الفروق في متوسط قيم تركيز SG بين مجموعة المرضى بابيضاض حادّ ومجموعة الأشخاص الأصحاء الذين لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية..... ٧١

جدول:14: نتائج مستوى الدلالة بين كل نوع من الابيضاض الحاد مع الأشخاص الأصحاء. ٧٢

قائمة المخططات والأشكال التوضيحية: List of Illustration

مخطط١:النسبة المئوية لتوزع نمطي الابيضاض الحاد. ٥٣

مخطط ٢: النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً لجنس الفرد ٥٤

مخطط3: النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً للمرحلة العمرية للفرد ٥٥

مخطط ٤: النسبة المئوية لتوزع نوعي الابيضاض وفق تعداد الكريات البيضاء. ٥٦

مخطط5: المتوسط الحسابي لقيم تركيز السيرغليسين عند الأصحاء ومرضى الابيضاض الحاد. ٥٧

مخطط٦: المتوسط الحسابي لقيم السيرغليسين عند كل من نمطي الابيضاض الحاد. ٥٨

مخطط٧:المتوسط الحسابي لتركيز السيرغليسين وفق جنس الفرد والمجموعة المدروسة..... ٥٩

مخطط8: المتوسط الحسابي لتركيز السيرغليسين وفقا للمرحلة العمرية والمجموعة المدروسة. ٦٠

مخطط9: المتوسط الحسابي لتركيز السيرغليسين في مجموعة المرضى بالابيضاض الحاد وفقا المجموعة المدروسة و المرحلة العمرية. ٦٢

مخطط*10*: المتوسط الحسابي لقيم السيرغليسين عند الأصحاء وكل نوع من نوعي الابيضاض ٦٣

مخطط11: منحني ROCلقيم تركيز السيرغليسين (الخط باللون الأزرق) في مجموعة المرضى بابيضاض حادّ ومجموعة الأشخاص الأصحاء. ٦٤

مخطط12: منحني ROC بين قيم تركيزSG والإصابة AML (الخط باللون الأزرق) ٦٥

مخطط13: منحني ROC لقيم تركيز SG والإصابة ALL (الخط باللون الأزرق)..... ٦٦

مخطط14: المتوسط الحسابي لتركيز SG في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ وفقاً لحالة تعداد الكريات البيض WBC ٦٨

مخطط15: المتوسط الحسابي لتركيز SG في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ وفقاً حالة تعداد الكريات البيض WBC. ٧٠

مخطط16: المتوسط الحسابي لقيم SGعند مرضى الابيضاض الحاد والأشخاص الأصحاء عندما WBC تكون طبيعية. ٧١

مخطط17: متوسط قيم السيرغليسين عند الأفراد الذين تعداد كرياتهم البيضاء طبيعية في عينة البحث ... ٧٢

مخطط18: منحني ROC لقيم تركيزSG والإصابة بابيضاض حادّ (الخط باللون الأزرق) في مجموعة الأفراد الذين كان لديهم WBC ضمن الحدود الطبيعية. ٧٣

مخطط19: منحني ROC لقيم تركيز السيرغليسين والإصابة AML (الخط باللون الأزرق) في مجموعة الأفراد الذين لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية ٧٤

مخطط20: منحني ROC لقيم تركيزSG والإصابة بـALL (الخط باللون الأزرق) في مجموعة الأفراد الذين كان لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية. ٧٥

List of abbreviation : قائمة الاختصارات

ALL: Acute lymphoblastic leukemia.

AML: Acute myeloid leukemia.

CS: chondroitin sulfate.

CTL: cytotoxic T lymphocyte.

ECM: Extra cellular matrix.

FAB: French-American-British.

FISH: Fluorescence in Situ Hybridization.

GAG: Glycosaminoglycan.

LPS: Lipopolysaccharide.

Max: Maximum.

MC: Mast cell.

MDS: Myeloid dysplasia syndrome.

Min: Minimum

MFC: Multiparameter flow cytometry.

MM: Multiple Myeloma.

MPO: Myeloperoxidase.

NK: Natural Killer.

PAS: Periodic Acid Schiff.

PG: proteoglycan.

PCR: polymerase chain reaction.

RT-PCR: Real Time- polymerase chain reaction.

ROC: Receiver Operating Characteristic.

SD: Standard Deviation.

SG: Serglycin.

SB: Sudan Black.

TDT: Terminal deoxynucleotidyTransferase.

TNF: Tumor Necrosis Factor.

WHO: World Health Organization.

تمهيد :Introduction

تشكل الابيضاضات الحادة بنوعيها الابيضاض النقوي الحاد والابيضاض اللمفاوي أحد أسوأ أنواع الابيضاضات إنذاراً، بسبب ترقيها السريع وأعراضها الحادة، وهذا مايتطلب سرعة في التشخيص من أجل تلقي العلاج في أبكر وقت ممكن.(١) حيث يتطلب التشخيص بشكل أساسي إجراء تعداد دم كامل للمريض ومد لطاخة محيطية والتي لا تكفي لتحديد نوع الخلايا الابيضاضية، و إجراء بزل نقي العظم حيث يعتبر إجراءً راضاً لمريض بالإضافة إلى فشل الحصول على الرشافة أحياناً بسبب ارتشاح كامل النقي بالخلايا الابيضاضية، والتنميط المناعي immunophenotype والدراسة الصبغية karyotype وما يحتاجه من وقت وتكاليف باهظة للمريض، لذلك كان لابد من البحث عن واسم يمكننا من التمييز بين نوعي الابيضاض الحاد. (٢) وقد سلطت دراسات سابقة الضوء على بروتيوغليكان داخل خلوي intracellular proteoglycan هام في الخلايا الدموية يلعب دوراً كالبروتيوغليكان الأخرى في الوظائف الحيوية و البيولوجية للخلايا يدعى السيرغليسين.(٣)

يعتبر السيرغليسين أول بروتيوغليكان تم وصفه داخل الخلايا. تم الكشف عن السيرغليسين كبروتين مفرز من الخلايا الورمية للكيس المحي للجرذ، ثم تم عزله لاحقاً من الصفيحات والخلايا السليفة الابيضاضية promyelocyte عند الإنسان.(٤، ٥)

تم الكشف عن مستويات السيرغليسين في عدة خلايا دموية طبيعية كالخلايا البدينة mast cell والخلايا الحمضة eosinophil و الخلايا الأسسة basophil والخلايا المعتدلة neutrophil والصفيحات platelets والخلايا اللمفاوية السامة cytotoxix T cell والخلايا القاتلة الطبيعية natural killer والوحيدات monocyte والبالعات macrophage ، وأيضاً في خلايا من مصدر غير دموي كالخلايا البطانية والخلايا العضلية الملساء والخلايا البنكرياسية والخلايا المضغية وغيرها.(٦، ٧)

وأظهرت الأبحاث وجود تعبيرية للسيرغليسين في خلايا ورمية عديدة كالخلايا الابيضاضية و خلايا الورم النقوي العديد multiple myeloma وخلايا الثدي السرطانية، وخلايا السرطان البلعومي الأنفي، ويساهم في تعزيز النقائل الخلوية لهذه السرطانات و إنذارها.(٧، ٨)

أثبتت دراسات للسيرغليسين في نقي العظم وجود التفاعلية المناعية immunoreactivity في الخلايا السليفة promyelocyte و النقويات myelocyte ، وتنقص باتجاه تمايز الخلايا نحو العدلات المفصصة، وهذا مايشير لدوره في تشكيل حبيبات هذه الخلايا وتخزينها لحين تفعيل هذه الخلايا لاحقاً،(٤، ٩) ويفرز حاملاً معه الوسائط الالتهابية المرتبطة به كالبروتياز protease والسيتوكينات cytokines ، ينقلها إلى الخلايا الهدف (٦، ١٠) بينما أوضحت دراسة أخرى ازدياد مستويات هذا البروتيوغليكان كلما زاد نضج الخلايا.(١١)

وفي دراسة في جامعة Copenhagen، أثبتت التفاعلية المناعية للسيرغليسين باستخدام التلوين المناعي للسيرغليسين immunohistochemistry عند مرضى لديهم ابيضاض نقوي حاد ولمفاوي حاد، فقد وجدت تعبيرية السيرغليسين في الأورمات النقوية myeloblast ، بينما كانت الأورمات اللمفاوية خالية من تعبيريته(١٠، ١٢). وهذا مادفعنا لدراسة تركيز السيرغليسين في بلازما مرضى الابيضاض النقوي الحاد واللمفاوي الحاد، وبسبب وجود القليل من الدراسات التي أجريت لتحري علاقة السيرغليسين مع الابيضاض الحاد وعدم وجود دراسات عالمية أو محلية تربط علاقته مع الكريات البيضاء و التي تعتبر علامة هامة لدى مرضى الابيضاض الحاد، ومن هنا ظهرت ضرورة إنجاز هذا البحث على عينة من مرضى الابيضاض النقوي الحاد AML و الابيضاض اللمفاوي الحاد ALL المراجعين للمشافي الجامعية في دمشق.

أهداف البحث: Aims of the study

- حساب تركيز السيرغليسين عند مجموعة من الأشخاص الأصحاء ومجموعة من مرضى الابيضاض النقوي الحاد والابيضاض اللمفاوي الحاد.
- ربط نتائج تركيز السيرغليسسين مع نوع الابيضاض الحاد، وتحديد القيم الحدية cut off لتراكيزه في حال وجود دلالة إحصائية.
- ربط تركيز السيرغليسسين وعلاقته مع تعداد الكريات البيضاء عند نوعي مرضى الابيضاض الحاد لدى عينة البحث.

المراجعة النظرية

Literature Review

الابيضاض الحاد :Acute Leukemia

١- تعريف الابيضاض الحاد:

هو تكاثر خبيث وحيد النسيلة، ينشأ على حساب الأورمات في نقي العظم، حيث تتكاثر دون أن تتمايز وتتراكم في نقي العظم مؤدية إلى قصور في إنتاج السلاسل الخلوية الطبيعية (سلسلة الكريات الحمر، سلسلة الكريات البيض، سلسلة النواءات). وقد ترتشح هذه الأورمات إلى الدم المحيطي والجملة العصبية.

يصنف إلى ابيضاض نقوي حاد Acute myeloid leukemia عندما يحدث على حساب الأورمات النقوية Myeloblast، و ابيضاض لمفاوي حاد Acute lymphoblastic leukemia عندما يحدث على حساب الأورمات اللمفاوية lymphoblast.(١٣، ١٤)

٢- الوبائيات Epidemiology:

يشكل الابيضاض الحاد أقل من ٣% من مجمل السرطانات.

بلغت نسبة حدوث ALL ٦٥٩٠ حالة جديدة، و AML ١٩٩٥٠ لسنة ٢٠١٦ في الولايات المتحدة الأميركية(١٥)

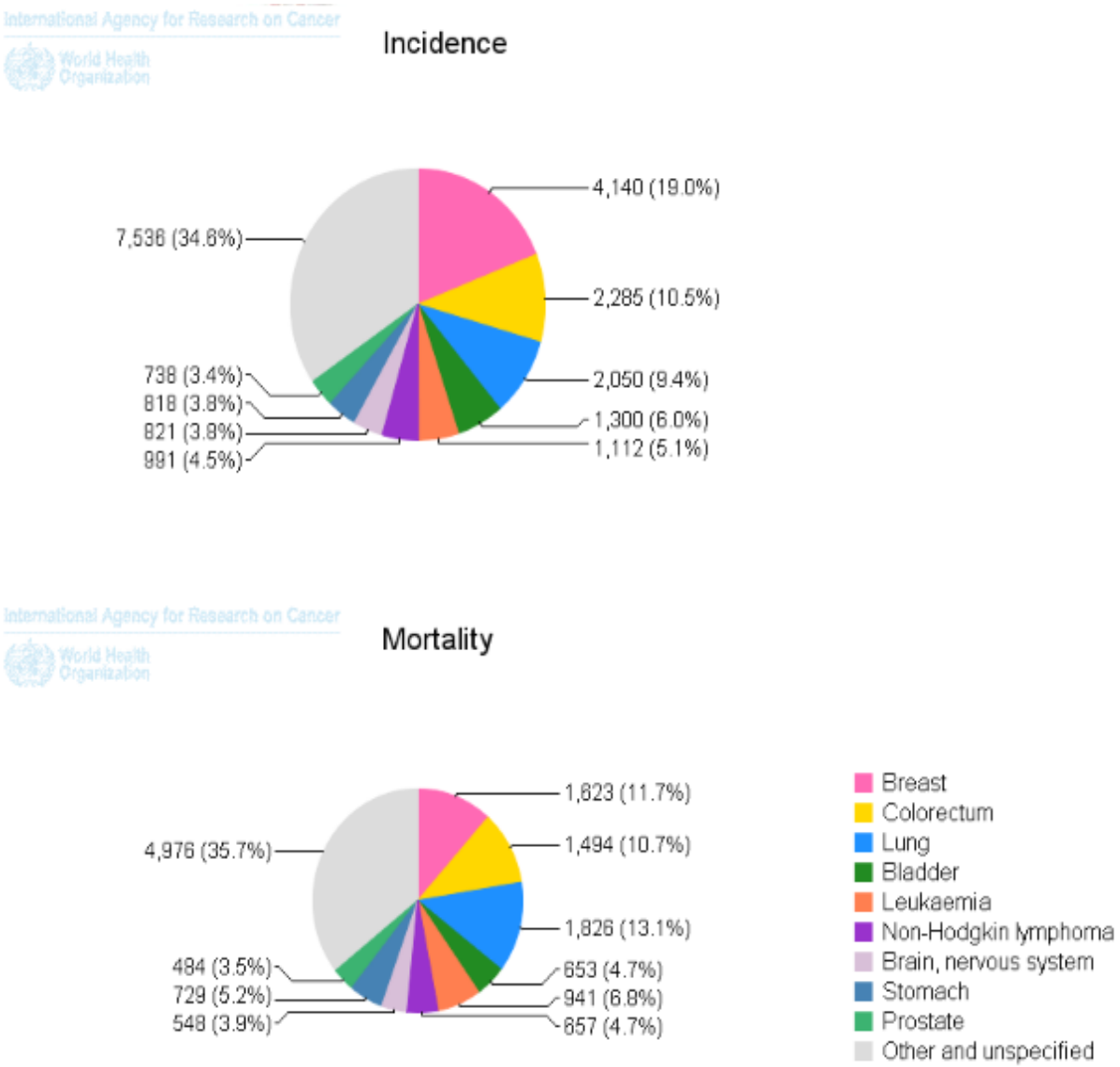
يشكل AML ٨٠% من الابيضاضات الحادة عندالبالغين و ١٥-٢٠% عند الأطفال (فهو أشيع عند البالغين)، كما ويزداد حدوثه مع التقدم بالعمر بمعدل ١,٣ للأعمار أقل من ٦٥سنة، و ١٢,٢ في الأعمار الأكبر من ٦٥سنة.(١٦)

بينما يشكل الابيضاض اللمفاوي الحاد ثلث سرطانات الأطفال، ويلاحظ ذروة الحدوث بعمر ٢-٥ سنوات. ويكون نادر الحدوث بعمر أقل من سنة. يصيب الذكور بمعدل أعلى من الإناث.(١٣)

تأتي الابيضاضات بشكل عام في المرتبة ١٣ من حيث معدلات الإصابة، ويبلغ معدل حدوثه ٢,٥%، ومعدل الوفيات الناتجة عنه ٣,٢ % مقارنة بباقي أنواع السرطان. وذلك اعتمادا على إحصائيات المنظمة الدولية لأبحاث السرطان International Agency for Research on Cancer التابعة لمنظمة الصحة العالمية World Health Organization (WHO) وذلك لعام ٢٠١٢ والتي نشرت على موقعها على الانترنت :

http://**globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx**

أما في سوريا فيأتي الابيضاض في المرتبة السادسة من حيث معدل الإصابة (٥,١%) والمرتبة الرابعة أيضاً من حيث نسبة الوفيات (٦,٨%) مقارنة بباقي أنواع السرطان.
بلغت نسبة الحدوث عند كلا الجنسين ٦,٤ % حالة ابيضاض وبلغت نسبة الوفيات ٥,٧% لكل ١٠٠٠٠٠ نسمة.(١٥)



رسم توضيحي١::نسبة حدوث ووفيات السرطانات في سوريا حسب WHO لعام ٢٠١٢

تظهر نسبة حدوث الابيضاض باللون البرتقالي.

٣- الأسباب Etiology :

تعد أسباب الابيضاض الحاد غير واضحة تماما، تقترح الدراسات دور الاضطرابات الجينية الوراثية و المكتسبة للخلاياالجذعية الدموية، وفي بعض الحالات يعود إلى التعرض للعوامل البيئية، التعرض للمواد الكيمائية المهنية والجرعات الكميائية و الأشعة والتعرض للأخماج الفيروسية كفيروس ايبشتاين بار (E.B.V)(١)

العوامل الوراثية: يعود سبب الابيضاض النقوي الحاد قي ٩٧% إلى االطفرات الجينية التي تصيب الخلايا الجذعية الدموية.(١٦)

تزداد خطورة الإصابة بالابيضاض اللمفاوي الحاد في اضطرابات الصيغة الصبغية مثل متلازمة داون (Down syndrome)، بينما تزداد نسبة الإصابة بالابيضاض النقوي الحاد عند مرضى فقر دم فانكوني (Fanconi's anemia) (١٣)

وقد تبين أن التعرض للمواد الكيميائية والأدوية و الإشعاعات التي تخرب DNA يزيد من خطر الإصابة بالابيضاض الحاد.

قد يتطور AML عند مرضى متلازمة عسر تنسج النقي MDS و المتلازمات التكاثرية النقوية وبعد التعرض للأدوية التي تعالج الابيضاض.(١)

٤- الأعراض والعلامات السريرية:

- ✓ تنشأ معظم الأعراض عند مرضى الابيضاض الحاد نتيجة لارتشاح نقي العظم بالخلايا الابيضاضية و فشل تكون الدم الطبيعي الناجم عن ذلك.
- ✓ أعراض عامة للخباثات: فقد شهية، نقص الوزن، ارتفاع الحرارة
- ✓ أعراض قصور نقي العظم:
  - فقر دم (شحوب، وهن، زلة.....)
  - النزوف: بسبب نقص الصفيحات (نزوف أغشية مخاطية، نزوف لثة و كدمات و فرفريات و ....)
  - الإنتانات : بسبب نقص الكريات البيض .(١٣، ١٤)
- ✓ أعراض وعلامات الارتشاح خارج النقي:
  - الضخامات العقدية والحشوية (ضخامة طحالية وكبدية): وتكون نادرة لدى مرضى AML و شائعة عند مرضى ALL.
  - الارتشاح إلى السحايا و اللثة.(١٣)

٥- تشخيص الابيضاض الحاد:

يعتبر تشخيص الابيضاض النقوي الحاد بأنماطه المختلفة والابيضاض اللمفاوي الحاد تحدي أساسي. ولايعتبر التشخيص مهم من أجل التصنيف وحسب، بل من أجل العلاج والإنذار. ولقد مر تشخيص الابيضاض الحاد بمراحل من 1970 عندما كان يعتمد على الصفات الشكلية والكيميائية للخلية. وبعد ذلك أصبح التشخيص يعتمد بشكل أساسي على الدراسة الصبغية (cytogenetic)، الدراسة الجزيئية (molecular cytogenetic)، وعلى التنميط المناعي (immunophenotyping)

يتم الاعتماد بالتشخيص على الدراسة الشكلية الخلوية cytomorphology للطاخة الدم المحيطي وبزل النقي، ليتم الانتقال بعدها إلى التنميط المناعي multiparameter flow cytometry(MFC) والدراسة الصبغية. ثم يأتي دور التهجين التألقي الموضعي FISH Fluorescence In Situ Hybridization و تفاعل البولميراز التسلسلي PCR.(١٧)

٥-١- الموجودات المخبرية:

تعداد الدم المحيطي:

- فقر دم سوي الحجم سوي الصباغ، نقص شبكيات
- نقص صفيحات: ٧٥% من مرضى الابيضاض الحاد لديهم نقص صفيحات <١٠٠٠٠٠صفيحة/مكرولتر. و٢٥% من المرضى يكون تعداد الصفيحات <٢٥٠٠٠صفيحة/ميكرولتر.
- الكريات البيض: يبلغ متوسط تعداد الكريات البيضاء عند مرضى الابيضاض الحاد ١٥٠٠٠كرية/مكرولتر، لكن ٢٥-٤٠% من المرضى
- يمكن أن يكون تعداد كرياتهم ناقصاً أقل من ٥٠٠٠كرية /ميكرولتر وذلك بسبب ارتشاح النقي بالأورمات وبالتالي نقص في الإنتاج.
- أو مرتفعاً: ٢٠% من المرضى يكون تعداد كرياتهم <١٠٠٠٠٠كرية/مكرولتر وذلك بسبب خروج الأورمات إلى الدم المحيطي فيزداد تعداد البيض، لكن الزيادة تكون على حساب الخلايا الورمية أي الأورمات.(١٣)

٥-٢- الدراسة الشكلية Cytomorphology:

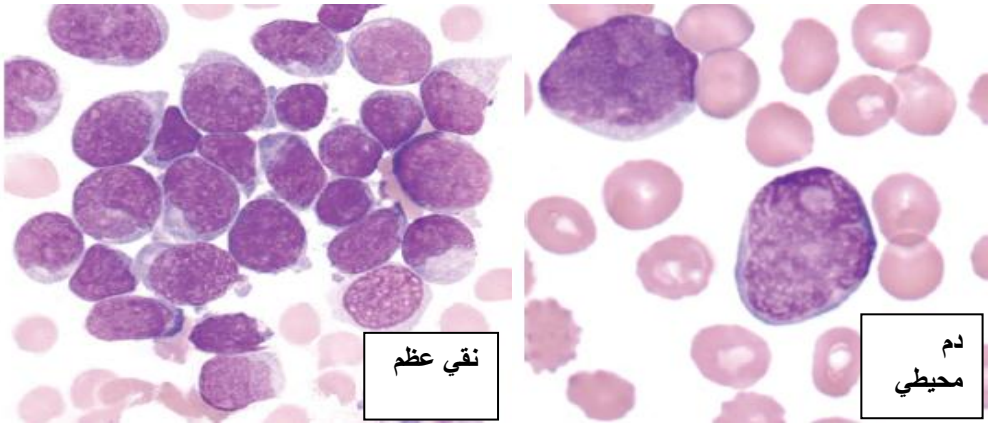
يتم فحص اللطاخة الدموية ولطاخة النقي باستخدام تلوين : May–Gru¨nwald–Giemsa Wright–Giemsa stain يوصى بعدّ ما لايقل عن ٢٠٠ كرية بيضاء في اللطاخة الدموية و ٥٠٠ خلية منواة في لطاخة النقي.(١٨)

ولابد لتأكيد تشخيص الابيضاض النقوي الحاد أن تشكل الأرومات ٣٠% من تعداد الخلايا المنواة في لطاخة النقي أو اللطاخة الدموية تبعا للدستور الفرنسي البريطاني FAB French–American–British وذلك بناء على الصفات الشكلية والتلوينات الكيميائية الخلوية. أو ٢٠ % وذلك تبعا لمنظمة الصحة العالمية WHO بوجود التنميط المناعي ، ويستثنى من ذلك عدة حالات مثل الحالات المترافقة مع شذوذات وراثية خلوية مثل: الإزفاءات t(15;17)و inv(16)/t(16;16) و t(8;21).(١٨)

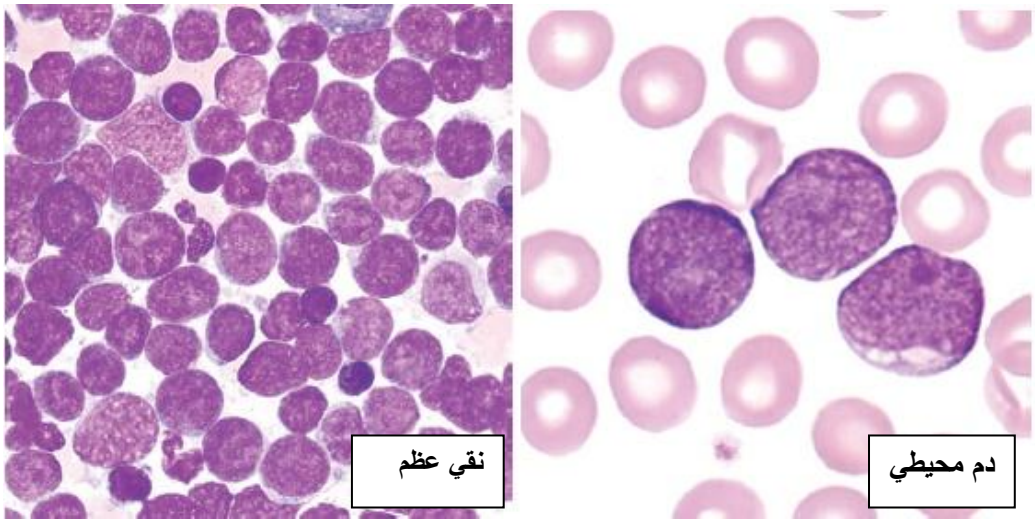
تعتبر رشافة نقي العظم المعيار الذهبي لتشخيص الابيضاض الحاد.(١٨)

	AML	ALL
Blast size	Large and uniform	Small to medium; variable
Chromatin	Finely dispersed	Rather coarse
Nucleoli	1 to 4, often prominent	Absent or 1 or 2; indistinct
Cytoplasm	Moderately abundant	Scant to moderate
	Granules often present	Granules lacking in nearly all cases
Auer rods	60–70% of cases	Absent
Myelodysplasia	Often present	Absent

رسم توضيحي2: الفروق الشكلية لخلايا الابيضاض النقوي واللمفاوي الحاد.(١٩)



رسم توضيحي 3: الأرومات النقوية في لطاخة دم محيطية ولطاخة نقي عظم.(٢٠)



رسم توضيحي4: الأرومات اللمفاوية في لطاخة دم محيطية ولطاخة نقي عظم(٢٠)

٥-٣-التلوينات الكيميائية الخلوية Cytochemistry:

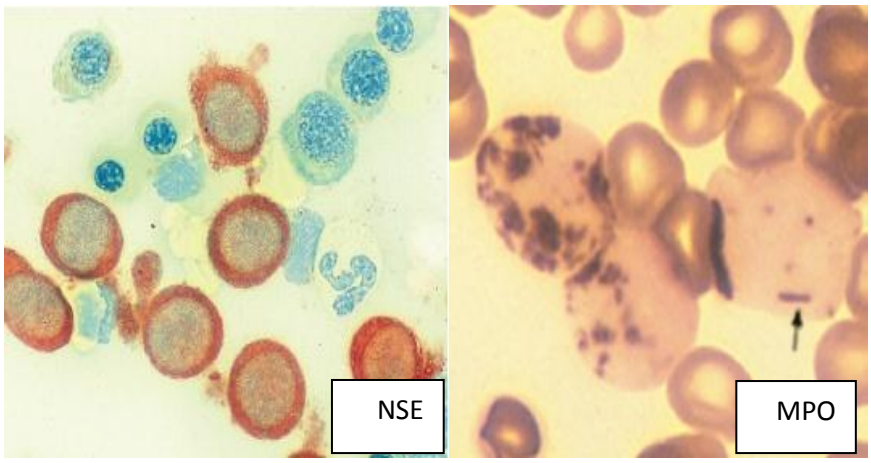
تسمح بتأكيد فعالية أنزيمية نوعية في الأرومات، وينبغي أن تلون جميع اللطاخات بالاستيراز اللانوعية NSE و ميلوبيروكسيداز MPO، وتستخدم الملونات الأخرى في حال عدم الوصول إلى نتيجة.

تتلون الأرومات النقوية بشكل عام بميلوبيروكسيداز MPO وأسود السودان SBB، بينما تتلون الأرومات اللمفاوية بحمض البريوديك Periodic Acid Schiff(PAS) وترانسفيراز ديوكسي نكليوتيد الانتهائي Terminal deoxynucleotidyTransferase (TDT).(٢١)

	Myeloperoxidase and Sudan Black B	Nonspecific esterase	Periodic acid Shiff (PAS)
AML	+[a]	+ (Monocytic, diffuse)	±
ALL	−	± (Focal)	+ (75%)

[a] +, positive; −, negative; ±, not definitive.

رسم توضيحي :5 التلوينات الكيميائية التي تأخذها الأورمات النقوية واللمفاوية في الابيضاض الحاد.(١٩)



رسم توضيحي6 : إيجابية MPO في الأورمات النقوية و الاستيراز الانوعية للأورمات الوحيدة(٢٠)

٥-٤-التنميط المناعي Immunophenotyping:

يساهم التنميط المناعي في تمييز أنواع الخلايا وذلك بدراسة واسمات الخلية وهي المستضدات والغلوبينات المناعية الموجودة على سطح الخلية أو في الهيولى، وذلك عن طريق استخدام أضداد وحيدة النسيلة موجهة نحو واسمات معينة على سطح الخلية، وبالتالي تحديد السلالة ومرحلة النضج و هي معلومات قد تساهم في التوجه نحو العلاج الأنسب وتحديد الإنذار، يساعد على تمييز بين أنواع الابيضاض وبشكل أساسي AML, ALL ، أورمات الخلايا الوحيدة و الخلايا البلاسمية، و يميز بين B-ALL و T-ALL.(٢٢)

يتم إجراء التنميط المناعي من خلال طرق الكيمياء النسيجية المناعية immunohistochemistry أو بواسطة تقنية التدفق الخلوي flow cytometry . بالنسبة لمعظم الواسمات يجب أن تعبر ٢٠% أو أكثر من الخلايا الابيضاضية عن الواسم باستثناء بعض الواسمات مثل MPO، CD117.(٢٢)

Precursors[b]	CD34, CD117, CD33, CD13, HLA-DR
Granulocytic markers[c]	CD65, cytoplasmic myeloperoxidase (MPO)
Monocytic markers[d]	CD14, CD36, CD64
Megakaryocytic markers[e]	CD41 (glycoprotein IIb/IIIa), CD61 (glycoprotein IIIa),
Erythroid markers	CD235a (glycophorin A), CD36

رسم توضيحي 7: يوضح أهم واسمات الخلايا النقوية.(23)

B-lymphoid	T-lymphoid	Myeloid
CD79a	cy/sCD3	Anti-MPO
cyIgM	Anti-TZRαβ	
cyCD22	Anti-TZRγδ	
CD19	CD2	CD13
CD10	CD5	CD33
CD20	CD8	CD65
	CD10	CD117
TdT	TdT	CD14
CD24	CD7	CD15
	CD1a	CD64

رسم توضيحي 8: أهم واسمات الخلايا الدموية النقوية واللمفاوية.(22)

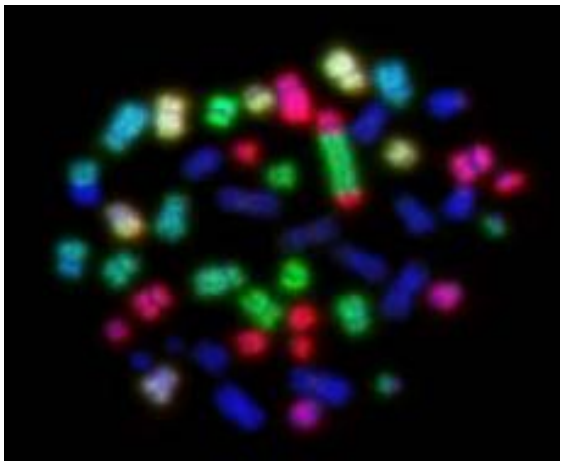
٥-٥-الوراثة الخلوية Cytogenetic:

تلعب الدراسة الصبغية دورا هاما في تصنيف وإنذار الابيضاض الحاد، حيث وجدت شذوذات صبغية لدى ٥٥% من مرضى الابيضاض النقوي الحاد AML، و٦٠-٨٠% من مرضى B-ALL، و ٣٥-٦٠% من مرضى T-ALL.(٢٢)

٥-٥-١- طريقة التهجين التألقي الموضعي (FISH) :

ينصح باستخدام FISH في حال وجود زوغانات صبغية أو اضطرابات أخرى من أجل التحديد الدقيق للتشخيص(٢٢)

تستخدم لتحديد وجود أو غياب جزء صغير محدد من الصبغي مثل فقد جزء من الصبغي 5q و7q(٢٣)



رسم توضيحي ٩: تألق الصبغيات باستخدام FISH

٥-٦- الطرق الجزيئية Molecular Methods:

تسهم الطرق الجزيئية مثل تفاعل البوليمراز التسلسلي PCR وتفاعل البوليمراز التسلسلي بالزمن الحقيقي RT-PCR وسلسلة الدنا sequencing و Southern blotting وغيرها في تحديد الطفرات الجزيئية بنوعية عالية.(٢١)

يجب أن يتم التشخيص بالاعتماد على الدراسة الشكلية، التلوينات الكيمائية، التنميط المناعي والدراسة االصبغية.(١٨)

٦- تصنيف ابيضاض الدم الحاد:

تصنف ابيضاضات الدم الحادة إلى تحت أنماط مختلفة بناء على دراسة شكل الخلية Morphology و كيمياء الخلية Cytochemistry والنمط المناعي Immunophenotyping إضافة إلى الدراسة الجينية الجزيئية muleculargenetic و المعلومات السريرية.(١٦)

٦-١- التصنيف الفرنسي البريطاني الأمريكي(FAB) للابيضاض النقوي الحاد:

يستند على شكل الخلية morphology وتفاعلات التلوين الكيميائية الخلوية. ويقسم ابيضاض الدم النقوي الحاد إلى ثماني مجموعات رئيسية M0 إلى M7 استناداً على نوع الخلايا التي تطور الابيضاض و درجة النضج.(٢٤)

تصنيف FAB (Uptodate2016)

FAB type	Morphology	Cytochemistry
M0	Blasts resemble L2 variant of ALL; cytoplasmic granules and Auer rods are not seen	**<3 percent PXase+ or SBB+**
M1	>30 percent type 1 and type 2 blasts; <10 percent differentiated myeloid cells; Auer rods seen in about 50 percent of cases	>3 percent PXase+ or SBB+
M2	>30 percent type 1 and type 2 blasts; >10 percent differentiated myeloid cells; Auer rods seen in about 70 percent of cases	PXase+ SBB+ NSE+<20 percent PAS−
M3	>20 percent abnormal hypergranularprogranulocytes; blast count may be <30 percent; Auer rods and faggot cells seen in virtually all cases	PXase+ SBB+ PAS− NSE±
M3V	>20 percent abnormal hypogranularprogranulocytes; blast count may be <30 percent; Auer rods and faggot cells seen in virtually all cases	PXase+ SBB+ PAS− NSE±
M4	>20 percent promonocytes and monocytes; >20 percent granulocytic cells; peripheral monocytosis (>5 x 10^9) ± elevated serum or urine lysozyme; Auer rods seen in about 65 percent of cases	PXase+ >20 percent NSE+
M4eo	>5 percent eosinophils and cells with mixed basophilic and eosinophilic granules, plus M4 features	PXase+ >20 percent NSE+
M5a	>80 percent of nonerythroid cells are monoblasts; Auer rods usually not seen	NSE+
M5b	>80 percent of nonerythroid cells are monocytes, promonocytes, and monoblasts; Auer rods can be seen in a minor population of myeloblasts (30 percent of cases	NSE+
M6	Erythroid predominance and dysplasia; >30 percent blasts among non−erythroid cells; Auer rods present in blasts in 60 percent of cases	PAS+ (erythroid cells); blasts are PXase+
M7	Blasts with cytoplasmic blebbing ± platelet shedding; marrow fibrosis; Auer rods are not seen	Platelet PXase+ on EM

٦-٢- تصنيف منظمة الصحة العالمية WHO للابيضاض النقوي الحاد:

يتضمن تصنيف WHO مجموعات مختلفة بناء على النمط المناعي، الأعراض السريرية، الشذوذات الوراثية الخلوية و الجزيئية بالإضافة لشكل الخلية.(٢٥)

- الابيضاض النقوي الحاد المترافق مع شذوذات صبغية متكررة.
- الابيضاض النقوي الحاد المترافق مع خلل تنسج النقي myelodysplasia.
- الأورمات النقوية المرتبطة بالعلاج.
- الابيضاض النقوي الحاد غير المتضمن في التصنيفات السابقة .
- الساركوما النقوية.
- اضطرابات التكاثر النقوية المترافقة مع متلازمة داون.

Acute myeloid leukemia (AML) with recurrent genetic abnormalities
- AML with t(8;21)(q22;q22.1); *RUNX1-RUNX1T1*
- AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); *CBFB-MYH11*
- Acute promyelocytic leukemia with *PML-RARA*[a]
- AML with t(9;11)(p21.3;q23.3); *MLLT3-KMT2A*[b]
- AML with t(6;9)(p23;q34.1); *DEK-NUP214*
- AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); *GATA2,MECOM(EVI1)*
- AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13.3;q13.3); *RBM15-MKL1*[c]
- *Provisional entity: AML with BCR-ABL1*
- AML with mutated *NPM1*[d]
- AML with biallelic mutations of *CEBPA*[d]
- *Provisional entity: AML with mutated RUNX1*

Acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes[e]

Therapy-related myeloid neoplasms[f]

Acute myeloid leukemia, not otherwise specified (NOS)
- AML with minimal differentiation
- AML without maturation
- AML with maturation
- Acute myelomonocytic leukemia
- Acute monoblastic/monocytic leukemia
- Pure erythroid leukemia[g]
- Acute megakaryoblastic leukemia
- Acute basophilic leukemia
- Acute panmyelosis with myelofibrosis

Myeloid sarcoma

Myeloid proliferations related to Down syndrome
- Transient abnormal myelopoiesis
- Myeloid leukemia associated with Down syndrome

Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm

رسم توضيحي ١٠: تصنيف الابيضاض النقوي الحاد حسب WHO.(23)

٦-٣- التصنيف الفرنسي البريطاني الأمريكي FAB للابيضاض اللمفاوي الحاد:

يقسم بناءً عليه ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد إلى ثلاث مجموعات رئيسية اعتماداً على مظهر الخلية وهي: L1 و L2 و L3 .(١٣)

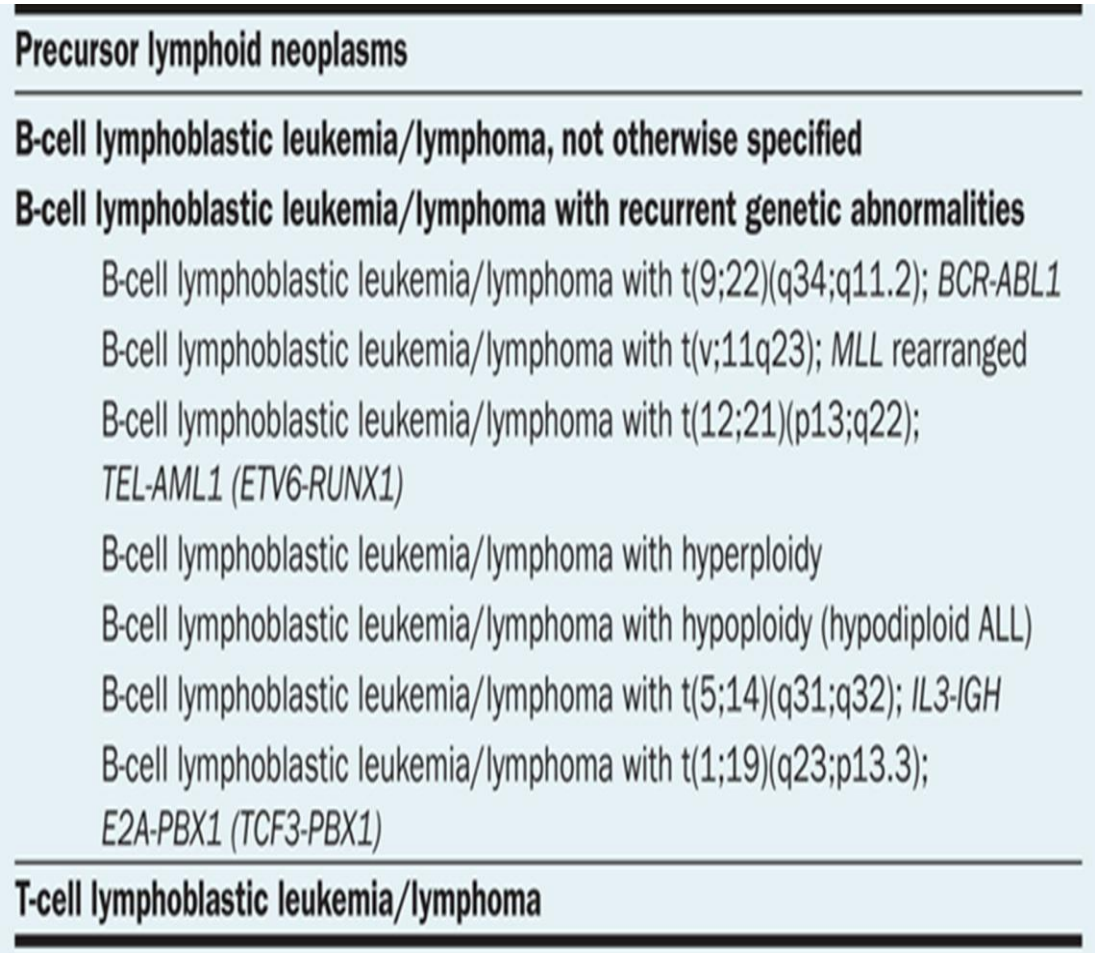
Feature	L1	L2	L3
Cell size	Small, regular	Large, mixed sizes	Large
Nuclear chromatin	Fine or condensed	Fine or condensed	Fine
Nuclear shape	Regular, cleft or indentation possible	Irregular, cleft or indentation more common	Regular, round or oval
Nucleoli	Indistinct	1 to 2, prominent	1 to 2, prominent
Cytoplasm	Scant	Variable, often moderately abundant	Deeply basophilic, vacuolated

رسم توضيحي ١١: تصنيف الابيضاض اللمفاوي الحاد حسب FAB.(٢٦)

٦-٤- تصنيف منظمة الصّحة العالميّة WHO للابيضاض اللمفاوي الحاد:

يتضمن هذا التصنيف مجموعتين:

- ✓ ابيضاض لمفاوي حاد نوع B-cell lymphoblastic leukemia(B-ALL) : يشكل ٧٥% من حالات ALL لدى الأطفال.
- ✓ ابيضاض لمفاوي حاد نوع T-cell lymphoblastic leukemia(T-ALL) يشكل ٢٥% من الحالات.(١٣)



رسم توضيحي ١٢ :تصنيف الابيضاض اللمفاوي حسب WHO لعام ٢٠١٦(٢٣)

٧- الإنذار: Prognostic:

تقارب نسبة بقاء مرضى ALL ٩٠% لمدة خمس سنوات.لكن إنذار مرضى AML غير جيد. حيث تبلغ نسبة الوفيات عند مرضى AML ٥٠% عند البالغين و ٩٠% عند الأكبر سناً وهذا يتوجب علينا تشخيص سريع لمعالجة باكرة.(١٤)

يعتمد الإنذار على عمر المريض، الصحة العامة، فترة التشخيص، تعداد الكريات االبيض و وجود الاضطرابات الصبغية وقصة التعرض للإشعاعات والعوامل الكيميائية ووجود الاضطرابات الدموية الأخرى.(٢١، ٢٤)

٨- المعالجة Treatment:

تهدف المعالجة لإزالة الخلايا الابيضاضية و تحقيق هوادة تامة للمريض، واستبدال كل الخلايا الجذعية الابيضاضية في نقي العظم بخلايا طبيعية.

تؤخذ عدة عوامل بعين الاعتبار قبل العلاج مثل عمر المريض، الصحة العامة، نمط الابيضاض، وجود اضطراب صبغي، استجابته للعلاج سابقا، النكس.(١٣)

تتم المعالجة على مرحلتين:

٨-١- العلاج الهجومي Induction Therapy:

وتهدف لإدخال المريض في الهوادة التامة، وذلك باستخدام أدوية كيميائية حسب بروتوكولات معينة وذلك حسب نوع الابيضاض. حيث يستخدم antrathycline لمدة ثلاثة أيام مع cytarbine لمدة سبعة أيام وتتحقق الهوادة التامة عند ٦٠-٨٠ %من المرضى الذين أعمارهم أقل من <٦٠سنة و٤٠-٦٠% ممن هم >٦٠ سنة. ويستخدم dexamethasone vincristine, methotrexate, لعلاج مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد.(١٣)

٨-٢- معايير الهوادة التامة:

- نسبة الأرومات في نقي العظم أقل من ٥%
- العدلات في الدم المحيطي أكثر من ١٠٠٠/مل
- الصفيحات في الدم المحيطي أكثر من ١٠٠٠٠٠/مل
- غياب التوضعات خارج النقوية للابيضاض(١٤)

٨-٣- العلاج الداعم Consolidation therapy : وذلك لمنع النكس و إزالة أي بقيا من الخلايا الابيضاضية بعد العلاج الهجومي.(٢٤)

٨-٤- زرع الخلايا الجذعية الدموية الغيري Transplantation Hematopoietic Stem Cell Allogenic:

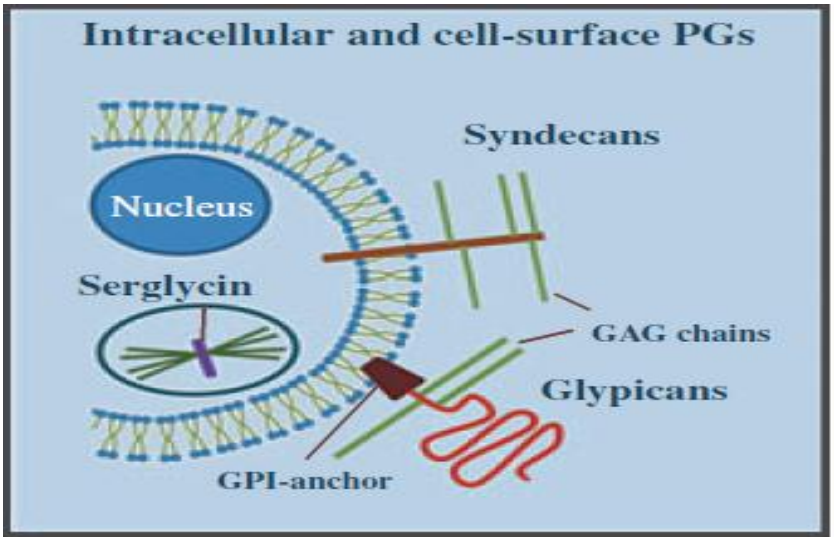
ويعتمد على أخذ خلايا جذعية دموية من شخص آخر موافق و زرعها لدى المتلقي ليتم تعويضه بخلايا دموية جديدة، وذلك بعد تحضير المريض بإعطائه جرعة كيماوية من أجل عدم رفض الخلايا المناعية للطعم، تأمين تحقيق تحطيم كامل للخلايا الورمية من أجل تحقيق الهوادة التامة ومنع النكس وتقوم هذه الخلايا بمهاجمة الخلايا الابيضاضية.(١٣)

ويعطي نسبة نكس أقل من المعالجة الكيماوية وينقص نسبة الوفيات بنسبة ١٠-٢٥%.(١٤)

السيرغليسين Serglycin

يعتبر السيرغليسين البروتيوغليكان الوحيد المصنف ضمن عائلة البروتيوغليكانات داخل الخلوية حتى الآن.(٣، ٢٧)

تناولت عدة دراسات بروتينات المطرق خارج الخلوي Extracellular matrix وكذلك البروتينات على سطح الخلايا، فيما ركز القليل منها على دراستها داخل الخلايا. واعتبر السيرغليسين بروتيناً حويصلياً لكن من الممكن أن يفرز إلى المطرق خارج الخلوي.(٤)



رسم توضيحي ١٣: موقع وجود السيرغليسين.

حيث نلاحظ وجود السيرغليسين داخل الخلية، بينما البروتيوغليكانات الأخرى على سطحها أو في المطرق خارج الخلوي extracellular matrix.(٢٨)

١ – اكتشاف السيرغليسين:

عرف جزيء السيرغليسين عند دراسة سلسة الهيبارين في جلد الجرذ، فقد وجد مركب جزيئي يحمل هذه السلاسل، ووجدت الدراسات هذا البروتيوغليكان ذاته في الخلايا البدينة في البريتوان، وتم وصفه كبروتيوغليكان مكون من ثنائي ببتيد مكرر (Ser–Gly).(٣)

تم ترميز مورثة السيرغليسين لأول مرة من الخلايا الورمية للكيس المحي عند االجرذ سنة 1985، عندما اكتشف كبروتين مفرز من هذه الخلايا(٥)، ثم عزل من الصفيحات سنة

1986، ليتم إيجاد نسخ المورثة في عدد من الخلايا دموية الأصل والحاوية على حويصلات إفرازية. ثم تمت دراسة DNA السيرغليسين في الخلايا الابيضاضية للسليفات النقوية.(٤، ٢٩)

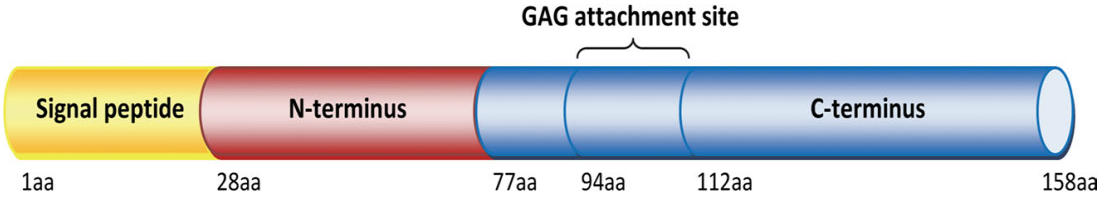
يعد السيرغليسن أول بروتيوغليكان داخل خلوي intracellular proteoglycan تم ترميزه حتى الآن بمورثة SRGN عند الإنسان، ويعد السيرغليسين أصغر بروتين مركزي تم اكتشافه(٣٠،٣١). حيث تقع مورثته على الصبغي 10q22,1. (٣٢)

تتألف مورثة السيرغليسين من 158حمض أميني التي تشكل ثلاث مناطق وظيفية:

Exon 1: منطقة الببتيد المفرد: يشمل الأحماض الأمينية من ١-٢٧.

Exon 2: منطقة N-terminal يشمل الأحماض الأمينية من٢٨-٧٦.

Exon 3: منطقة ارتباط سلاسل الغليكوز أمينو غليكان GAG وتشمل الأحماض الامينية من ٧٧-١٥٨.(٤، ٧)

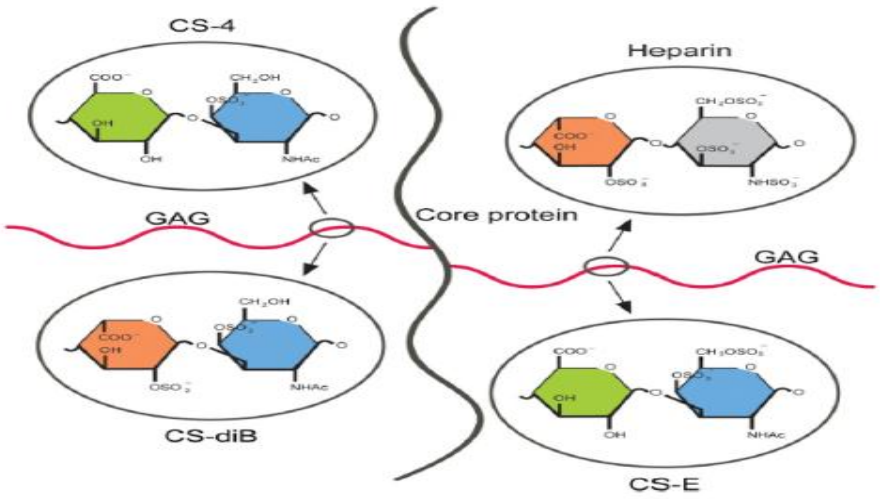


رسم توضيحي 14: بنية مورثة السيرغليسين.(٧)

وجد أن ترميز المورثة لهذا البروتيوغليكان هو ذاته في معظم الخلايا المعزول منها، لكن تختلف بحجم mRNA. لقد تم إثبات أن mRNA المنتسخ عن المورثة الموجودة في الخلايا المعتدلة تختلف عن mRNA المنتسخ من الخلايا السليفة promyelocyte ، وبالتالي تختلف تعبيرية السيرغليسين عبر تمايز الخلايا السليفة نحو المعتدلات المفصصة segmented.(٤)

٢- بنية السيرغليسين:

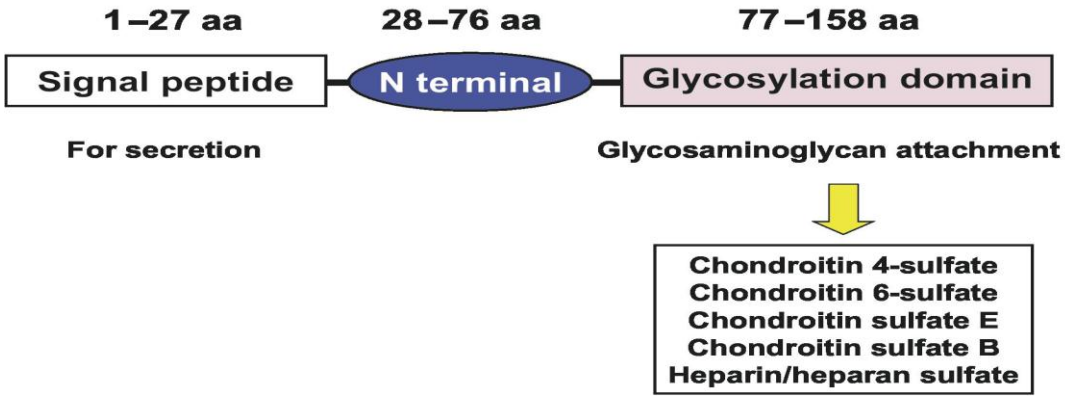
يتألف السيرغليسين SG من بروتين مركزي core protein صغير من ثنائي ببتيد مكرر (Ser-Gly) مرتبط مع سلاسل glycosaminoglycan مثل هيبارين heparin و سلفات الكوندروتينchondroitin sulfat CS-4,CS-6, CS-E ,CS-B(٧، ٣٢)



رسم توضيحي ١٥:شكل ترسيمي لبنية السيرغليسين

(يمثل الخط الأسود البروتين المركزي ، والسلاسل الحمراء هي سلاسل GAG المرتبطة به.)(٣)

يحوي البروتين المركزي ثمان مناطق مكررة من ثنائي الببتيد (serine-glycin)، وكل منطقة serine هي موقع لارتباط سلاسل الغليكوز أمينو غليكان GAG، وهكذا تبدو السلاسل كالعناقيد التي تعطيها صفة المقاومة للبروتياز(٣، ١٠)



رسم توضيحي ١٦:يوضح بنية بروتين السيرغليسين وأنواع سلاسل GAG التي ترتبط به.(٧)

أظهر الفحص الجزيئي للسيرغليسين اختلاف حجم هذا البروتيوغليكان حسب طول سلاسل GAG وعددها ونمطها. (٣، ٢٩، ٣٢) حيث يرتبط البروتين المركزي مع أنواع مختلفة من سلاسل GAG، حيث يرتبط مع سلاسل الهيبارين في الخلايا البدينة Mast cell، بينما يرتبط مع سلاسل الكوندروتين سلفات chondroitin sulfat-E في الخلايا الحمضة، ويرتبط مع الكوندروتين سلفات CS-4 في الصفيحات. حيث يختلف نوعها باختلاف أنواع الخلايا. (٣٣)

٣- أماكن وجود السيرغليسين:

يوجد للسيرغليسين شكلان داخل خلوي وخارج خلوي. حيث يعتمد تركيبه على نوع الخلية والمفعلات الخارجية لها(٥).

تم تحديد mRNA وبروتين السيرغليسين بشكل أساسي في الخلايا الدموية الطبيعية والورمية. وتمت تسميته ببروتيوغليكان الخلايا الدموية proteoglycan hematopoietic.(٧)

يوجد السيرغليسين بشكل اساسي في الحويصلات الإفرازية للخلايا البدينة Mast cell و الحمضات Eosinphil والخلايا المعتدلة Neutrophil الخلايا الأسسة Basophil و الخلايا القاتلة الطبيعية Natural Killer والصفيحات Platelets و الخلايا اللمفاوية السامة Cytotoxic lymphocyte cell(CTL)، الوحيدات Monocyte و البالعات Macrophage، ويكون مخزن مع المكونات الأخرى في حبيبات هذه الخلايا ويفرز منها أثناء التفعيل(٣-٦، ٣٣)

يعتبر الشكل داخل الخلوي المفتاح الأساسي لتشكل حبيبات الخلايا المحببة. و الشكل خارج الخلوي هو المتحرر من حبيبات التخزين في الخلايا البدينة او اللمفاوية السامة أو الوحيدات أو الخلايا البطانية والذي يرتبط مع CD44 في الخلايا الدموية.(٧)

فهو إما يخزن داخل الحويصلات الخلوية ويفرز بعد تفعيل الخلية بعوامل مثل TNFو LPS أو يفرز مباشرة من بعض الخلايا بشكل أساسي من الوحيدات والبالعات و اللمفاويات.(٣٠،٣٢)

أوضحت دراسة وجود SG في الطحال، العقد اللمفية و نقي العظم (٣)

تم التعبير عن هذا البروتيوغليكان في خلايا أخرى غير دموية مثل الخلايا العنبية للبنكرياس والخلايا الغضروفية و الخلايا العضلية الملساء و الخلايا البطانية و الخلايا الأرومية الليفية، teratocarcinoma، الخلايا الجذعية للمضغة والساقط الرحمي.(٣، ٥) وفي خلايا ورمية مثل اللمفوما و mastocytoma(١٠)

٤- وظيفة السيرغليسين البيولوجية:

أوضحت الدراسات الحديثة تعبيرية السيرغليسين في عدة أنواع من الخلايا، وله دور هام في الوظائف الفيزيولوجية الطبيعية والبيولوجية المرضية. لكن تعتبر وظيفته غير واضحة تماما(٣٢)

تعود الخصائص المميزة للسيرغليسين لاختلاف بنيته بسبب وجود أنماط مختلفة من سلاسل glycosaminoglycan، ووظيفته تختلف على مدى واسع معتمدة على محتويات الخلية المعبرة عن السيرغليسين. لكن كلا البروتين المركزي والسلاسل هام للفعالية البيولوجية للسيرغليسين.(٣، ٥)

تعتبر سلاسل GAG هي المفتاح لأساسي لتوضع السيرغليسين ودوره البيولوجي في الخلايا، وكذلك وظيفة السيرغليسين في تعزيز النقائل يعتمد على هذه السلاسل، لكن هذا التغير في السلاسل في الخلايا السرطانية غير واضح (٧، ٢٩)

يلاحظ من تنوع سلاسل GAG المرتبطة مع البروتين المركزي للسيرغليسين مساهمته في عدة وظائف بيولوجية مثل تنظيم تخثر الدم، ومهاجمة الخلايا الورمية والاستجابة الالتهابية في الخلايا المناعية.(٣)

Cell type	Type of GAG	Other granule constituents
Platelets	Chondroitin sulphate	Platelet factor 4, von Willebrand factor
Natural killer cells	Chondroitin sulphate	Granzymes
Cytolytic T cells	Chondroitin sulphate	Granzymes
Polymorphonuclear leucocytes	Chondroitin sulphate	Gelatinase, lactoferrin, myeloperoxidase
Connective tissue mast cells	Heparin	Histamine, chymases, (mMCP-4,5), tryptases
Mucosal mast cells	Chondroitin sulphate	Histamine, chymases, (mMCP-1,2)
Endothelial cells	Chondroitin sulphate	Plasminogen activator (tissue type)
Pancreatic acinar cells	Chondroitin sulphate	Procarboxypeptidase, amylase

رسم توضيحي١٧ : توزع سلاسل GAG والوسائط التي ساهم السيرغليسين بتخزينها في حبيبات الخلايا.(٦)

Cell Type	GAG Component	Extent of GAG Sulfation	Predominant Fate	Function
MCs (connective tissue type)	Heparin	+++	Storage/regulated secretion	Promotes storage of proteases, histamine, serotonin; regulation of apoptosis[a]
	CS-E	++		
MCs (mucosal type)	CS-4	+	Storage/regulated secretion	Promotes storage of proteases[a]
	CS-E	++		
	CS-diB	++		
CTLs	CS-4	+	Storage/regulated secretion	Promotes storage of granzyme B; regulation of $CD8^+$ T cell contraction[a]
Endothelial cells	CS-4	+	Constitutive secretion (apical)	Secretion of CXCL1
Platelets	CS-4	+	Storage/regulated secretion	Promotes storage of CXCL4, CXCL7, PDGF; promotes platelet aggregation[a]
Neutrophils	CS-4	+	Storage/regulated secretion	Promotes storage of elastase[a]
Eosinophils	CS-4	+	Storage/regulated secretion	ND
	CS-E (minor)	++		
Macrophages	CS-4	+	Constitutive secretion	Regulation of cytokine secretion[a]
	CS-E	++		
	Heparan sulfate	+		
Multiple myeloma cells	CS-4	+	Constitutive secretion	Inhibition of bone mineralization
Nasopharyngeal carcinoma	ND	ND	Constitutive secretion	Promotion of cell migration, metastasis

[a]As indicated by studies of serglycin$^{-/-}$ animals.
PDGF, platelet-derived growth factor.

رسم توضيحي ١٨ : وظيفة السيرغليسين في أنواع الخلايا المختلفة.(٣)

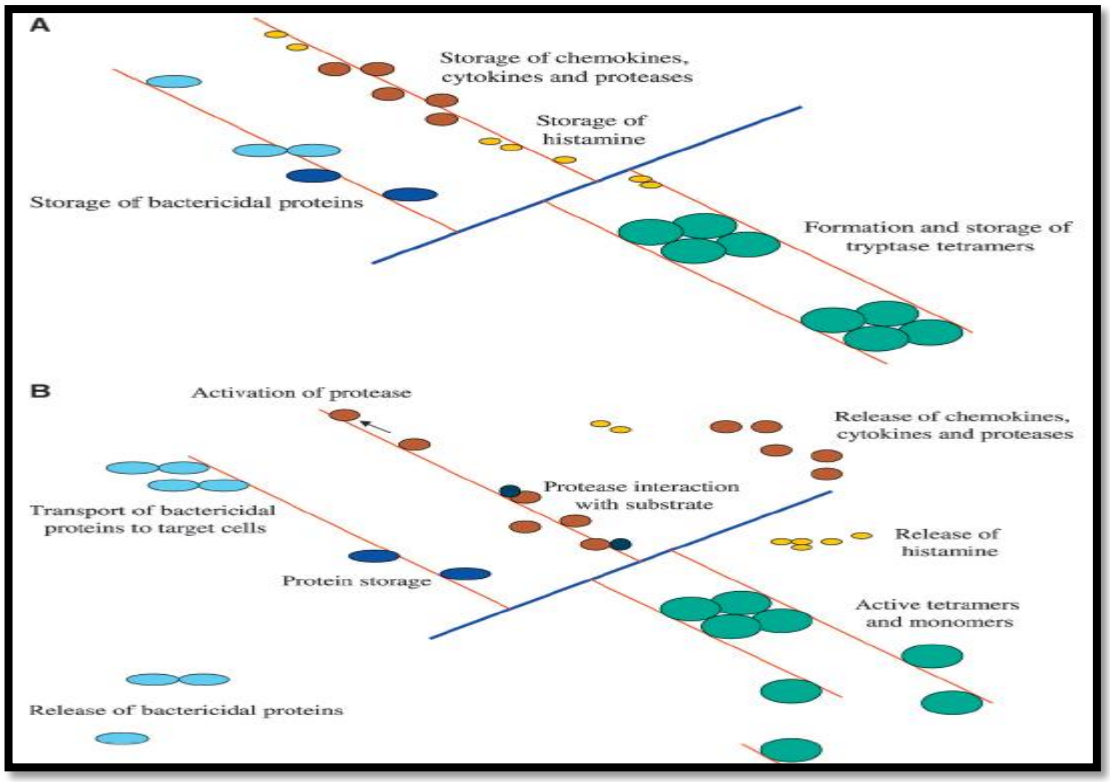
أوضحت عدة دراسات دوره في تخزين مكونات الحبيبات في الحويصلات الإفرازية للخلايا الدموية و تخزين الأنزيمات في الخلايا البنكرياسية وتخزين بعض مكونات حبيبات الصفيحات.(٦)

كما أوضحت الدراسات دور السيرغليسين في تشكيل حبيبات الحويصلات الإفرازية في الخلايا البدينة mast cell و حبيبات الخلايا اللمفاوية السامة Cytotoxic T Lymphocyte وelastase الخلايا المعتدلة. يتأثر تشكل هذه الحبيبات عند نقص السيرغليسين، وهذا مايشير لدوره الهام في الخلايا المناعية.(٤) يخزن السيرغليسين السيتوكينات cytokines و البروتياز protease و الكيموكيناز chemokinase في الحبيبات الإفرازية للخلايا البدينة ، ويفرز منها بعد تفعيل هذه الخلايا و يتحرر منها مشكلا معقدا. يؤثر السيرغليسن داخل الخلوي على احتباس وإفراز مكونات حبيبات الإفراز للخلايا البدينة و اللمفاوية السامة والمعتدلات، ويبقى معها كمعقد بعد تحررها من الخلايا.(٧)

يتوقف نوع معين من الوسائط على وجود السيرغليسين، حيث يتأثر الالاستاز elastase فقط في الخلايا المعتدلة، بينما يتأثر فقط الـgranzem B في الخلايا اللمفاوية، بينما لاتتأثر باقي المكونات (١٠)

بما أنه تنقص مستويات السيرغليسين أثناء نضج الخلايا في الخلايا المحببة granulocyte، فهذا يشير لدوره كبادئ أو مشعر لعملية تشكل مكونات الحبيبات.(٣٤)

يرتبط السيرغليسين مع granzyme B وperforin وليس granzyme A في اللمفاويات السامة CTL، ويعمل كأداة لنقله إلى الخلايا الهدف، وهذا يؤكد أنه نوعي لتخزين حبيبات محددة، والتخزين المعيب ل GZMB في CTL و NK يؤثر على دوره في قتل الخلايا المجاورة (٣٢). اعتقد أن هذا PG المقاوم للبروتياز والمفرز من الخلايا القاتلة الطبيعية NK وداخلها هو السيرغليسين وهذا يقترح دوره في المشاركة بفعالية الخلايا القاتلة الطبيعية.(٢٩)



رسم توضيحي ١٩: الدور البيولوجي للسيرغليسين

(الخط الأزرق يمثل البروتين المركزي، بينما الخطوط الحمراء تمثل سلاسل الغليكوز أمينو غليكان) A: تبين أن السيرغليسين داخل الخلايا هام لتشكيل الحبيبات وتخزينها ريثما تأتي أوامر التفعيل للخلية ليتم إفرازه.B: بعد الإفراز يساهم السيرغليسين في جذب عوامل التفعيل الأخرى في الحيز خارج الخلوي ECM أو للخلايا للهدف.(٤)

يلعب دورا هاما في الخصوبة والحمل والتطور الجنيني باعتبار وجوده في الخلايا الجذعية المضغية.(٥)

يلعب السيرغليسين دور في الموت الخلوي وفي نمو الخلايا وفي عمل جهاز الإرقاء و الجهاز التناسلي و عدد من الأمراض منها السرطانات والالتهاب.(٢٩)

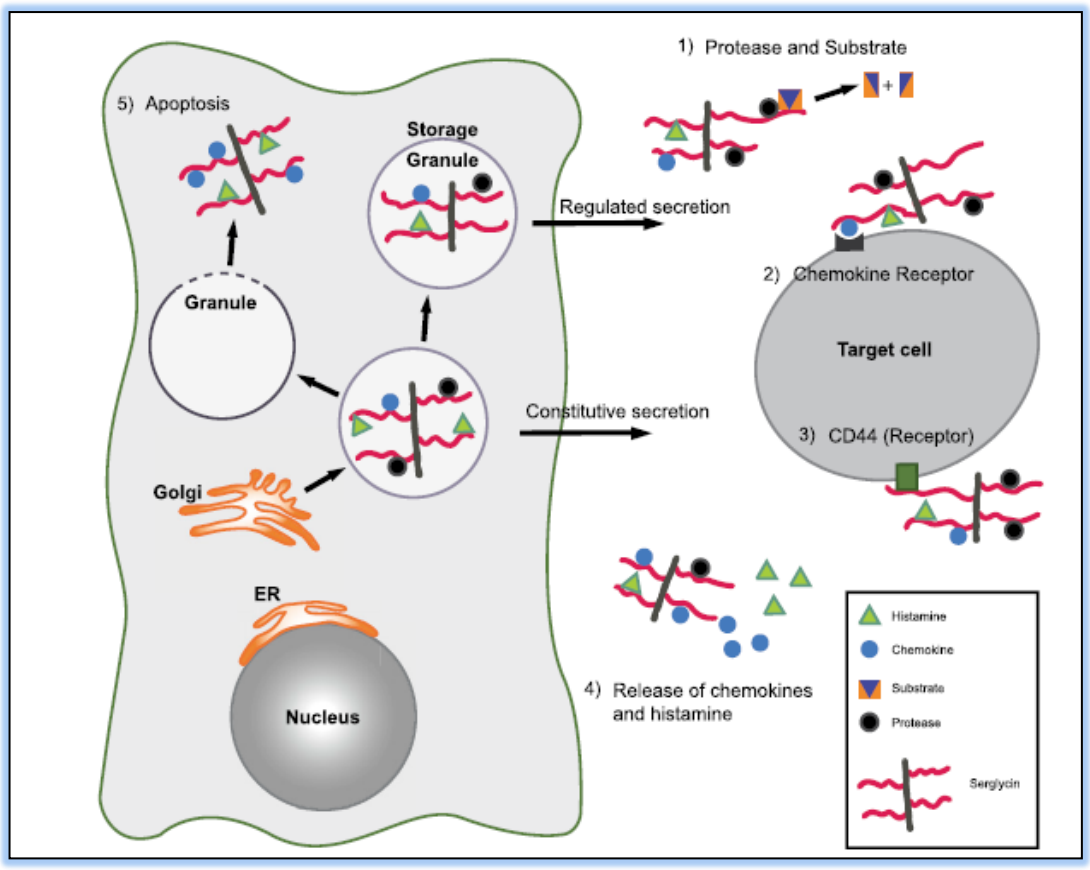
٥- وظيفة السيرغليسين المفرز:

يمثل السيرغليسين المفرز النمط خارج الخلوي المفرز من حبيبات التخزين للخلايا البدينة، اللمفاوية و المعتدلات التي تفرزه بعد تفعيلها أو المفرز من الوحيدات و البالعات والخلايا البطانية، أو المتحرر من الخلايا السرطانية ليعزز نقائلها(٧)

يتم إفراز السيرغليسين المركب بالخلايا الالتهابية والسدوية stromal وذلك عند تنشيط الالتهاب. ويتحكم بإفرازه Lipopolysacchari, tumor necrosis factor –α من البالعات، و العامل المفعل للبلاسمينوجينTNF من الخلايا البطانية، وInterleukin(IL-1B) من الخلايا العضلية الملساء(٧، ٣٢)

تعد وظيفة السيرغليسين المفرز مثيرة للاهتمام، فالوظيفة الأساسية للسيرغليسين المفرز يعمل كناقل لتوصيل المواد المختزنة ضمن الحيز خارج الخلوي إلى الخلايا الهدف، تتحرر بعض الجزيئات المرتبطة مع SG، بينما يبقى بعضها الآخر مرتبطاً بعد الإفراز حسب PH الوسط خارج الخلوي. (٣)

إن الارتباط مع السيرغليسين بعد الإفراز ربما يكون له نتائج وظيفية هامة. فهو يمنح الحماية للمكونات المنقولة بواسطته من الانحلال البروتيني، ويساهم في تقديم المواد المحمولة، وربما يعمل كقانص (scavenger) حيث يربط إليه العوامل الالتهابية الجوالة في الحيز خارج الخلوي(٣) مثال على ذلك نقله لمحتويات الخلايا اللمفاوية السامة granzeme/perforin ومحتويات الخلايا المعتدلة myeloperoxidase بعد تحررها من هذه الخلايا و يبقى مرتبطا معها برابطة قوية ليحميها من تأثير مكونات ECM ليوصلها إلى الخلايا الهدف.(٦)



رسم توضيحي 20: دور السيرغليسين داخل وخارج الخلية.

١: حمل الركائز الأنزيمية.٢: نقل هذه العوامل إلى مستقبلاتها. ٣: ارتباطه مع CD44 على سطح الخلية ٤: توصيل هذه العوامل ليتم تحررها منه. ٥: تخزينه ضمن الحبيبات ليشارك بالموت الخلوي للخلايا.(٣)

٦- استقلاب السيرغليسين المفرز:

يعتبر مصير السيرغليسين بعد إفرازه غير واضح تماما، فالقليل من المعلومات حول مصير SG بعد إفرازه من حبيبات الخلايا إلى الحيز خارج الخلوي. لقد تبين أنه بعد حقن SG بمجرى الدم تم قبطه بواسطة الخلايا الكبدية، وتم تدركه داخلها مترافقا ذلك مع نقص مستوياته بالبلازما. حيث90% من SG المحقون كان في الكبد و ٥% في الدم، و ٥% في الكلية ، الطحال و البول. أو أنه يرتبط مع CD44 أكدت الدراسات وجود مستقبل hyaloronan ساهم في إزاحته من مجرى الدم، حيث أوضحت أن ٥٠% من السيرغليسين المحقون تم إزالته من الدوران بعد ١-٢,٤ دقيقة.(٣٥)

لا يتم تخرب السيرغليسين المتحرر بسبب الأنزيمات هذا التخرب CS- degrading enzyme فقط يتم داخل الخلايا.(٣٥)

إن تركيز هذا البروتيوغليكان في البلازما قليل جدا، وهذا يشير أن الكريات البيض والصفيحات تفرزه بكميات قليلة جداً.(٣٥)

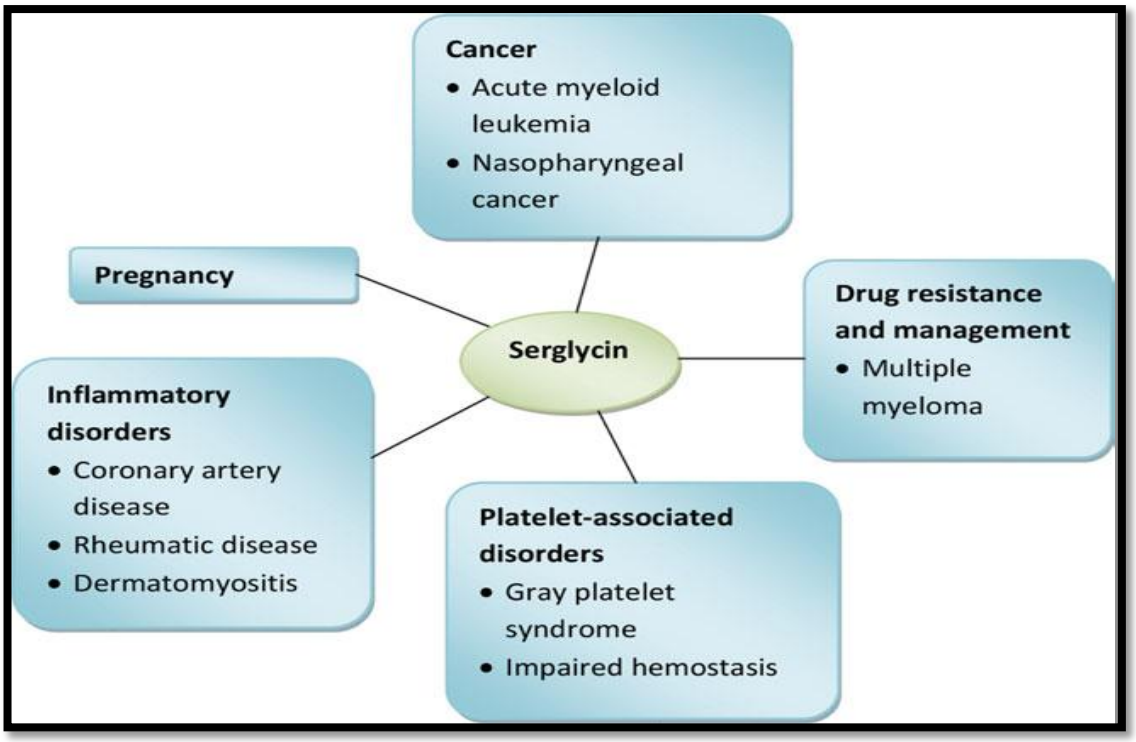
٧- دور السيرغليسين في الأمراض:

يعتبر السيرغليسين البروتيوغليكان الوحيد في الصفيحات، ويلعب دورا أساسياً في الإرقاء و كبروتين مضاد للتخثر (٥)

يؤدي حذف السيرغليسين إلى تغيرات واضحة في وظيفة الصفيحات، فمن المتوقع أن نجد دوره في اضطرابات الصفيحات. حيث يلعب دورا في الإرقاء و تخثر الدم و التصلب العصيدي وتقدم أمراض الشريان التاجي. (٢٩، ٣١)

وجدت تعبيرية السيرغليسين في الأوعية الجلدية عند مرضى التهاب الجلد والعضل، الأمراض المزمنة للجلد. حيث وجدت تعبيرية mRNA بعد التعرض للأشعة (٥)

لوحظ وجود للسيرغليسين في الخلايا وحيدة النواة في السائل المفصلي والدم المحيطي لمرضى التهابات المفاصل. وهذا يعطي أهمية لدوره في الاضطرابات الالتهابية، الاضطرابات المفصلية(٥)



رسم توضيحي ٢١ :صورة توضح وظائف السيرغليسين البيولوجية والمرضية.(٥)

٧-١- دور السيرغليسين في إمراضية الأورام:

تم التعبير عن مستويات السيرغليسين في الخلايا الورمية، وتزداد هذه المستويات مع وجود النقائل.(٣٦)

اقترح أيضاً دور السيرغليسين كمعدل لاستجابة الجهاز المناعي في البيئة المكروية للأورام، وهو العائق الآخر في المعالجة نتيجة مقاومته للعلاج حيث وجدت مورثته في ستة أورام دموية الأصل التي تقاوم doxorubicin,methotrexate,cisplatin,vincristine. لكن آليته في المقاومة غير معروفة.(٥، ٣٢)

ذكرت بعض التقارير دور السيرغليسين في الأورام، حيث أوضحت دوره في الخباثات الدموية بالتمييز بين الابيضاض الحاد وعن الابيضاضات التكاثرية المزمنة سلبية صبغي فيلادلفيا. وجدت تعبيريته أيضا في خلايا الورم النقوي العديد. لكن تبقى الألية غير واضحة وبحاجة لمزيد من الدراسات.(28)

يتركب السيرغليسين داخل خلايا للمفوما و mastosystomathymoma, myeloma(٣١)

ازدادت تعبيرية السيرغليسين بشدة بالأورمات الابيضاضية لمرضى AML وكان سيرغليسين البلازما في مرضى AML مرتفعا مقارنة بمستويات البلازما في مرضى ALL ، توضع هذا البروتين في الأورمات غير الناضجة في نقي مرضى AML لكن ليس في أورمات ALL. وهذا جعل من السيرغليسين واسم نوعي لمرضى AML مقارنة باضطرابات التكاثر النقوية سلبية صبغي فيلادلفيا(٣١)

٧-٢- السيرغليسين في الورم النقوي العديد Multiple Myeloma:

لوحظت تعبيرية السيرغليسين في خلايا الورم النقوي العديد (MM)، وهو البروتيوغليكان الأساسي في خلايا MM. حيث تم تشخيص مستوياته المرتفعة في رشافة نقي العظم لمرضى MM مشخصين حديثا، حيث تفرزه خلايا الورم ليثبط تمعدن العظم، كما ويلعب دورا في حماية الخلايا النقوية من تأثير المتممة، لذلك يعزز بقاء الخلايا الورمية للسرطان. فالسيرغليسين كبروتيوغليكان مفرز يمكن ان يكون واسم لتقدم الورم وإنذاره (٣١، ٣٢)

٧-٣- دور السيرغليسين في الأورام غير الدموية:

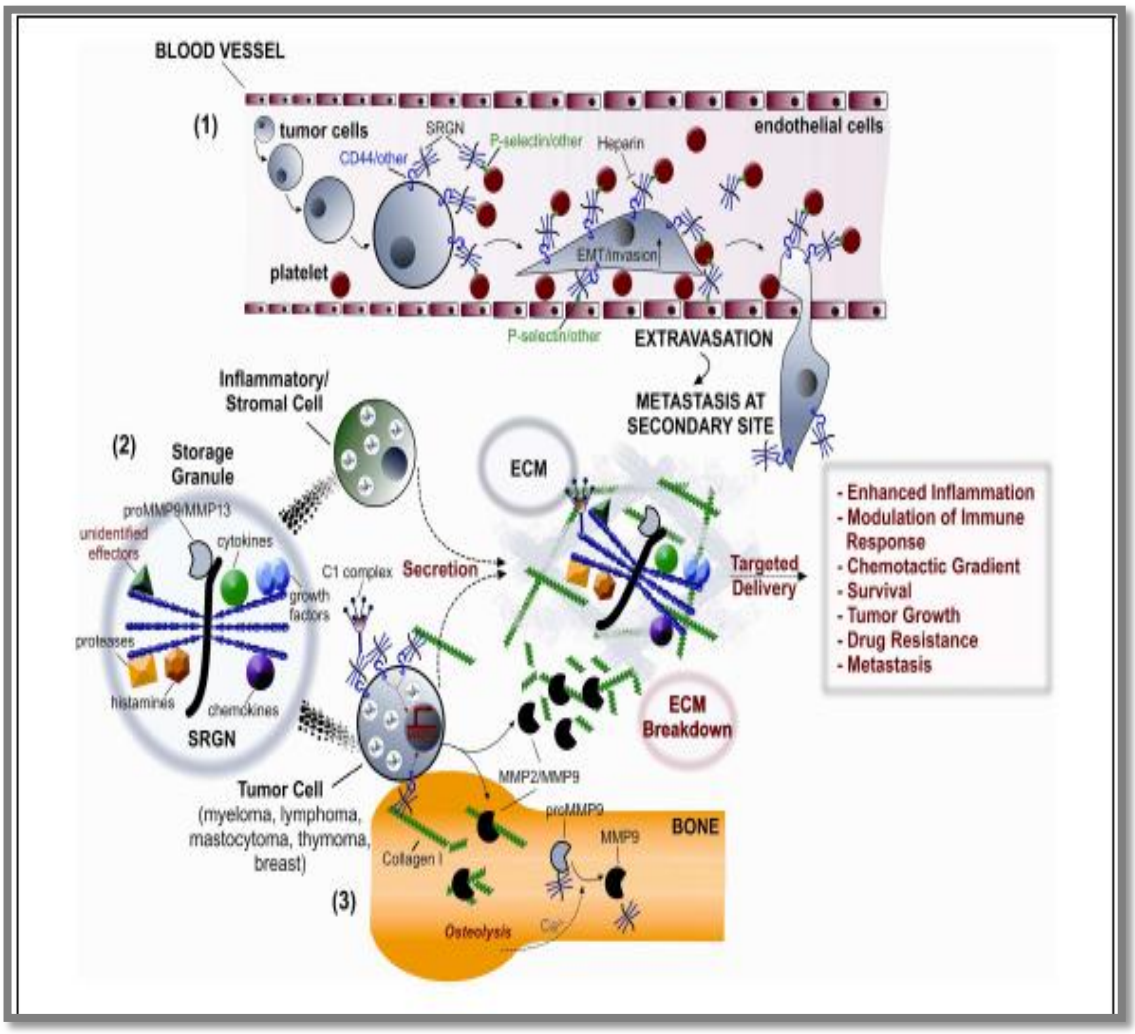
أوضحت القليل من الدراسات تعبيرية السيرغليسين في أورام غير دموية.

تم ربط زيادة تعبيرية السيرغليسين في كارسينوما الخلية الكبدية والسرطان البلعومي الأنفي Nasopharyngeal carcinoma (NPC). حيث تفرز خلايا الورم البلعومي الأنفي مستويات عالية من السيرغليسين، ترتبط هذه المستويات مع نقائل السرطان، وأوضح Morus أن نقص تعبيرية السيرغليسين يقود إلى نقص نقائل الورم، وزيادة تعبيريته في النقائل تسبب حركة وهجرة أكثر للخلايا الورمية. تشير هذه الموجودات أنه مشعر إنذاري وخيم لنكس الورم وحدوث النقائل(٣، ٣٢)

٧-٤- سرطان الثدي Breast cancer

تم تأكيد تعبيرية السيرغليسين باستخدام التلوين الكيميائي النسيجي المناعي immunohistochemistry في الخلايا السرطانية للثدي.(31, 37)

تفرز خلايا الثدي الورمية MDA-MB231 السيرغليسين وهو PG الأكثر توافرا .(٣٢)



رسم توضيحي ٢٢: دور السيرغليسين في الالتهاب والأورام.

١: تفرز الصفيحات والخلايا الورمية السيرغليسين ليرتبط مع السطح الخلوي عبر CD44 ويرتبط مع p-selectin ليعزز الغزو والنقائل.٢: يفرز السيرغليسين مباشرة من الخلية الورمية أو يخزن داخل الحويصل مع العوامل الالتهابية ٣: يعزز السيرغليسين المفرز تخرب لعظم.(٣٢)

الدراسة العملية

١- المواد والطرائق Material and Design :

١-١- تصميم الدراسة Study Design:

نعتمد في هذه الدراسة على تصميم دراسة (مقطعية -عرضية)..

١-٢- عيّنة الدراسة Study Group:

تضمنت دراستنا جميع حالات المرضى الذين تم تشخيصهم حديثا بابيضاض نقوي AML أو لمفاوي حاد ALL بالاعتماد على نتيجة بزل نقي العظم و التنميط المناعي الخلوي (Flowcytometry) وذلك خلال الفترة الواقعة بين ٢٠١٦/٤/١ و ٢٠١٧/٤/١. تضمنت العينات مجموعة شاهدة من الأشخاص الأصحاء ظاهريا الذين هم ضمن مشعر كتلة الجسم الطبيعي، وغير المصابين بأي مرض أو حالة التهابية.

تألفت عينة البحث من ٣٧ فرداً من الجنسين تراوحت أعمارهم بين ٢ و٧٦ عاماً، حيث تم اعتماد مجموعة الأطفال < ١٨ سنة وبلغ متوسط أعمارهم ٨ سنوات. واعتماد مجموعة البالغين ١٨< سنة وبلغ متوسط أعمارهم ٥٥ سنة، وذلك حسب منظمة الصحة العالمية. تم تقسيمهم إلى ثلاث مجموعات رئيسة وفقاً لحالة الإصابة بالابيضاض (مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML، مجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL، مجموعة الأشخاص الأصحاء (المجموعة الشاهدة)

١-٣-معايير التضمين في الدراسة Inclusion Criteria :

- المرضى المشخصين بابيضاض نقوي أو لمفاوي حاد بالاعتماد على نتيجة بزل نقي العظم المناعي الخلوي (Flowcytometry) .
- المرضى الذين لم يتلقو أي علاج كيماوي قبل سحب العينة.
- بالنسبة للإناث عدم وجود حمل أو أي اضطرابات هرمونية.
- لا يوجد أي مرض التهابي مزمن في السوابق المرضية للمريض.

١-٤- معايير الإقصاء من الدراسة Exclusion Criteria :

- المرضى الذين كانت نتيجة التنميط المناعي لديهم غير محددة لنمط الابيضاض (Biphentype)، أو ممن كانت خلوية النقي ناقصة في تقرير flowcytometry.
- المرضى الذين يعانون من متلازمات وتناذرات مرضية.

١-٥- مرافق الدراسة The Research Setting:

- تم جمع عينات المرضى من شعبة أمراض الدم في مشافي الأطفال والمواساة والأسد الجامعية.
- تم إجراء تعداد دم كامل في مخبر مشفى المواساة الجامعي .
- تم تثفيل عينة الأنبوب الجاف، ثم فصل المصل و حفظ العينات في المجمدة بدرجة حرارة – ٢٠درجة. وذلك في مخبر زرع النقي بمشفى الأطفال الجامعي.
- تم إجراء المقايسة المناعية الأنزيمية للعينات في مشفى التوليد الجامعي.

١-٦- مراحل الدراسة:

١. سحب عينات دم على أنبوب EDTA و أنبوب جاف للمرضى للمشخصين .
٢. إجراء تعداد دم كامل للعينات المسحوبة على أنبوب EDTA، مع مد لطاخة دم محيطية.
٣. تثفيل عينة الأنبوب الجاف لمدة ٥ دقايق بسرعة ٣٠٠٠ دورة/ ثا.
٤. مصل العينة ووضعها في أبندروف، ثم حفظها في المجمدة بدرجة -٢٠° لحين وقت المقايسة.
٥. قياس امتصاصية السيرغليسين في العينات المحفوظة بعد فك تجميدها بحرارة الغرفة(٢٥)° باستخدام كيت السيرغليسين Human Serglycin Elisa وذلك باستخدام المقايسة المناعية المرتبطة بالأنزيم sandwich enzyme linked sorbent immunoassay عند طولي موجة ٤٥٠-٦٣٠ وحساب القيمة الوسطية.
٦. رسم المنحني المعياري.

٧. حساب قيم تراكيز السيرغليسين للعينات بعد إسقاط قيم الامتصاصية على المنحني المعياري.
٨. الدراسة الإحصائية.

١-٧- المواد المستخدمة في البحث:

١. أنابيب سحب الدم (أنبوب لإجراء تعداد الدم الكامل ويحوي EDTA كمانع تخثر، أنبوب جاف)
٢. كيت Elisa لمعايرة السيرغليسين الإنساني من شركة Biovendor الألمانية الذي يحتوي على صفيحة الآبار 96 بئر،standard ، Biotin labeled Antibody، Substrate solution, BufferDilutioCongicat، stop solution، Wash solution con (10x)

١-٨- الأجهزة المستخدمة:

١. الممص: pipette من شركة Biohit
٢. جهاز تعداد الدم من شركة Medonic
٣. مثفلة من شركة Hetich
٤. غاسل الإليزا من شركة Apdia.
٥. رجاجة: ٣٠٠ rpm
٦. قارىء الإليزا من شركة Human areader

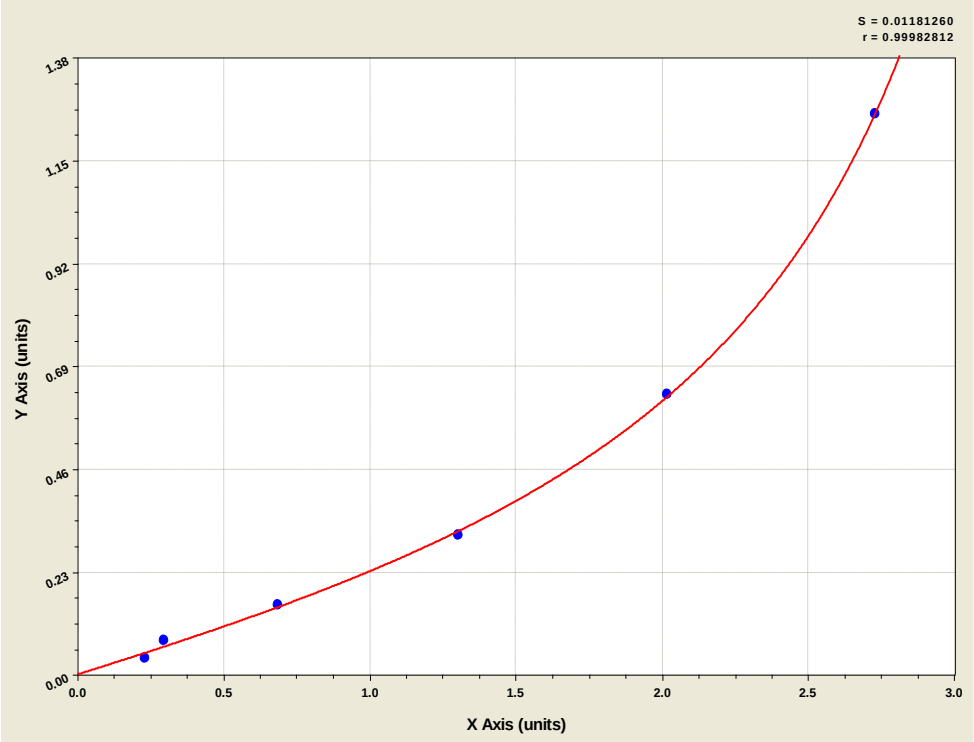
١-٩- طريقة العمل:

تم العمل حسب النشرة المرفقة مع الكيت.

١-١٠- طريقة حساب تركيز السيرغليسن:

بعد حساب قيم الامتصاصية للعينات العيارية التي تتألف من ٦ عينات عيارية بتراكيز مختلفة (١٢٥٠- ٦٢٥-٣١٣- ١٥٦ - ٧٨ - ٣٩) (بيكوغرام/مل) تم رسم المنحني بعد إسقاط القيم

على المحور العمودي الذي يمثل قيم الامتصاصية والمحور الأفقي الذي يمثل قيم التراكيز. فكان على الشكل التالي:



رسم توضيحي ٢٣ :المنحني المعياري الممثل لتراكيز السيرغليسين العيارية مقابل الامتصاصية المقاسة.

وبإسقاط قيم الامتصاصية للعينات على المنحني تم حساب قيم تركيز السيرغليسين (نانوغرام/مل).

١-١١-عملية تحليل البيانات Data processing and analysis:

استخدمنا برنامج SPSS الإحصائي الإصدار ١٣,٠ لتحليل البيانات، حيث تم استخدام اختبار T student للعينات المستقلة لدراسة الفروق في متوسط تركيز للسيرغليسين (نانوغرام/مل) في المجموعات المدروسة. وتم حساب المساحة تحت منحني ROC وتحديد القيمة الحدية Cut off والحساسية والنوعية والقيمة التنبؤية الإيجابية والتنبؤية السلبية لكل قيمة حدية لتركيز السيرغليسين.

كما استعنا ببرنامج (Excel) لانجاز الرسوم البيانية

٢- النتائج والدراسة الإحصائية Results ans statically analysis:

الدراسة الوصفية:

توزع عينة البحث:

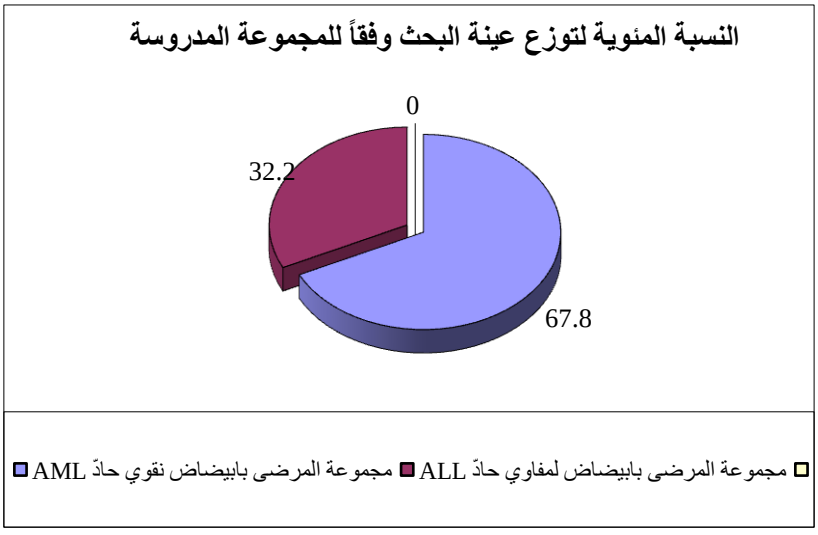
شملت عينة البحث ٢٨ مريض ابيضاض حاد و ٩ أشخاص أصحاء كمجموعة شاهدة.

١) توزع عينة البحث وفقاً لنمط الابيضاض الحاد:

شملت عينة البحث ١٩مريض ابيضاض نقوي حاد و ٩ مرضى ابيضاض لمفاوي حاد

جدول1:توزع عينة البحث وفقا لنمط الابيضاض.

المجموعة المدروسة	عدد الأفراد	النسبة المئوية
مجموعة مرضى الابيضاض النقوي الحادّ AML	19	67.8
مجموعة مرضى الابيضاض اللمفاوي الحادّ ALL	9	32.2
المجموع	28	100



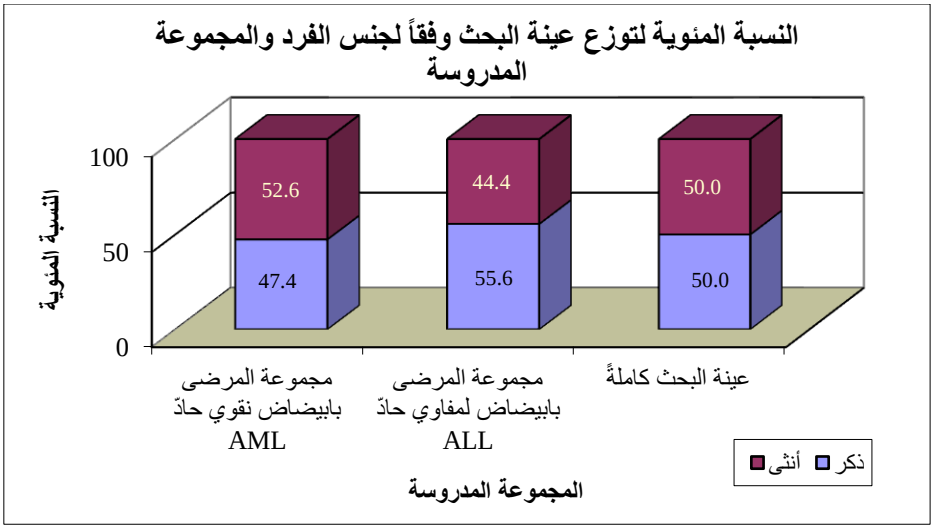
مخطط١:النسبة المئوية لتوزع نمطي الابيضاض الحاد.

٢) توزع عينة البحث وفقاً لجنس الفرد والمجموعة المدروسة:

شملت عينة البحث ٩ ذكور من مرضى الابيضاض النقوي الحاد و٥ ذكور من مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد، وشملت١٠ إناث من مرضى الابيضاض النقوي الحاد و ٤ إناث من مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد.

جدول 2: توزع عينة البحث وفقاً لجنس الفرد والمجموعة المدروسة.

المجموعة المدروسة	عدد الأفراد			النسبة المئوية		
	ذكر	أنثى	المجموع	ذكر	أنثى	المجموع
مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML	9	10	19	47.4	52.6	100
مجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL	5	4	9	55.6	44.4	100
عينة البحث كاملةً	14	14	28	50	50	100



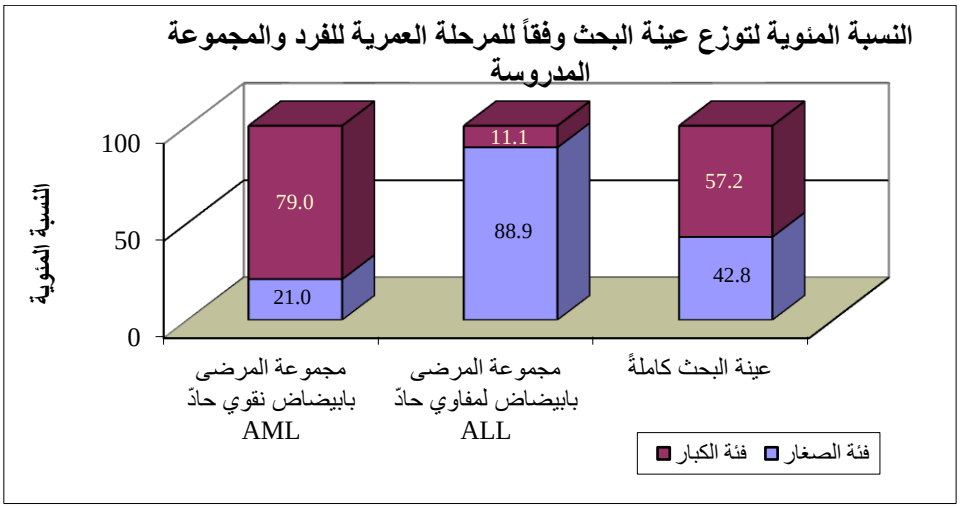
مخطط ٢: النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً لجنس الفرد .

٣) توزع عينة البحث وفقاً للمرحلة العمرية للفرد و المجموعة المدروسة:

شملت عينة البحث ٤ أطفال و ١٥ شخص بالغ من مرضى الابيضاض النقوي الحاد AML و ٨ أطفال و شخص بالغ واحد من مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد ALL.

جدول3: توزع عينة البحث وفقاً للمرحلة العمرية للفرد.

المجموعة المدروسة	عدد الأفراد			النسبة المئوية		
	فئة الصغار	فئة الكبار	المجموع	فئة الصغار	فئة الكبار	المجموع
مرضى ابيضاض نقوي حادّ AML	4	15	19	21	79	100
مرضى ابيضاض لمفاوي حادّ ALL	8	1	9	88.9	11.1	100
عينة البحث كاملةً	12	16	28	42.8	57.2	100



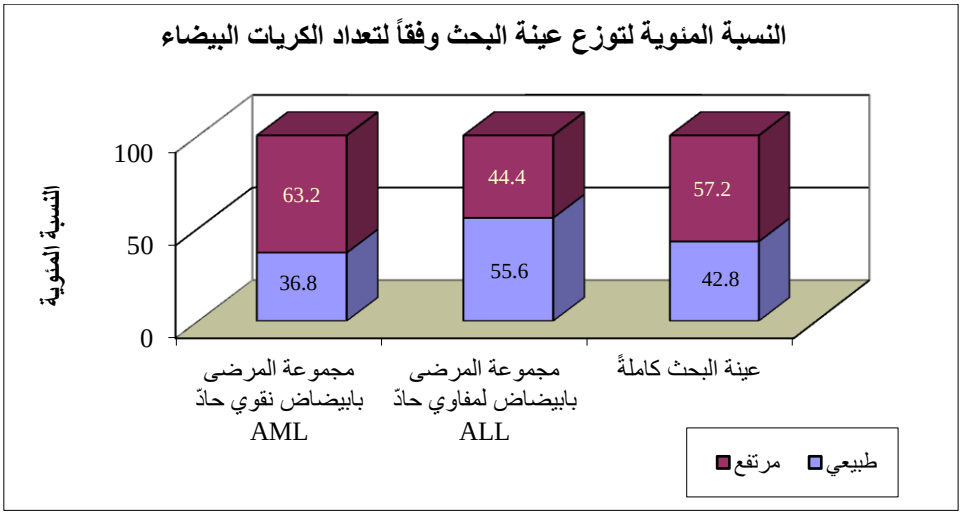
مخطط3: النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً للمرحلة العمرية للفرد .

٤) توزع عينة البحث وفق تعداد الكريات البيضاء:

تم تصنيف عينات البحث وفق تعداد الكريات البيض للمرضى إلى من لديهم تعداد كريات بيض طبيعي واقل من الطبيعي ومن لديهم تعداد كريات بيض مرتفع كما في الجدول التالي:

جدول 4: النسبة المئوية لعينة البحث حسب تعداد الكريات البيضاء.

المجموعة المدروسة	عدد الكريات البيضاء			النسبة المئوية		
	طبيعي أو أقل	مرتفع	المجموع	طبيعي أو أقل	مرتفع	المجموع
مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML	7	12	19	36.8	63.2	100
مجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL	5	4	9	55.6	44.4	100
عينة البحث كاملةً	12	16	28	42.8	57.2	100



مخطط ٤: النسبة المئوية لتوزع نوعي الابيضاض وفق تعداد الكريات البيضاء.

الدراسة التحليلية:

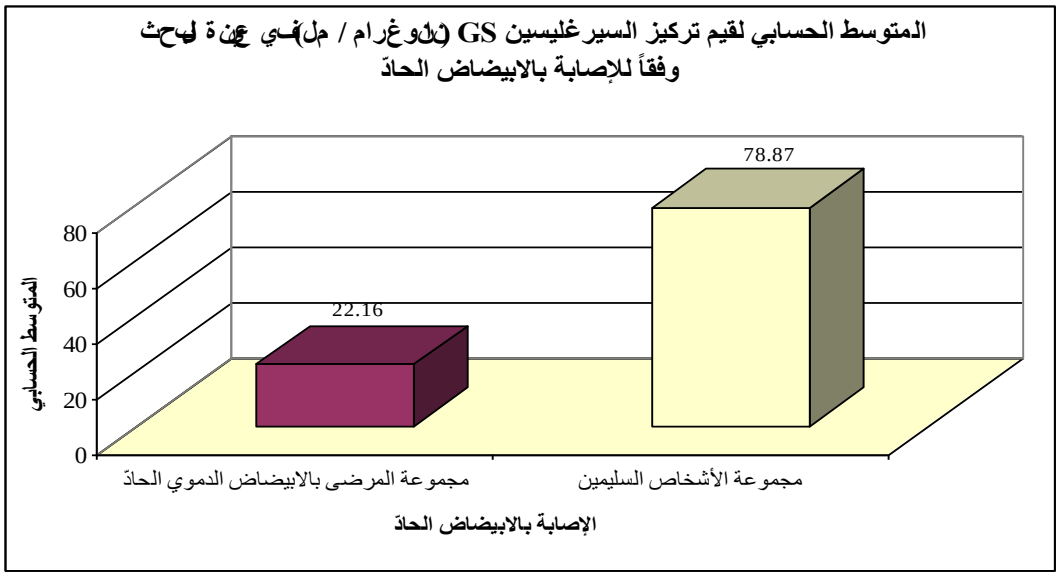
١. دراسة تأثير الإصابة بالابيضاض الحادّ في قيم تركيز السيرغليسين SG في عينة البحث:

تم حساب دلالة الفروق في متوسط تركيز السيرغليسين (نانوغرام/مل) بين مجموعة المرضى بابيضاض حادّ و مجموعة الأشخاص الأصحاء في عينة البحث كما في الجدول التالي:

جدول ٥: الفروق في متوسط قيم تركيز السيرغليسين بين مجموعة مرضى الابيضاض الحاد ومجموعة الأصحاء.

المجموعة المدروسة	Number	Mean	SD	MIN	MAX	P
المرضى بابيضاض حادّ	28	22.16	12.69	6.16	56.65	0.000
الأشخاص الأصحاء	9	78.87	20.72	51.12	114.34	

كانت قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة ٠,٠٥، أي أنه عند مستوى الثقة ٩٥% توجد فروق ذات دلالة إحصائية هامة في متوسط تركيز السيرغليسين SG بين مجموعة المرضى بابيضاض حادّ ومجموعة الأشخاص الأصحاء في عينة البحث،



مخطط5: المتوسط الحسابي لقيم تركيز السيرغليسين عند الأصحاء ومرضى الابيضاض الحاد.

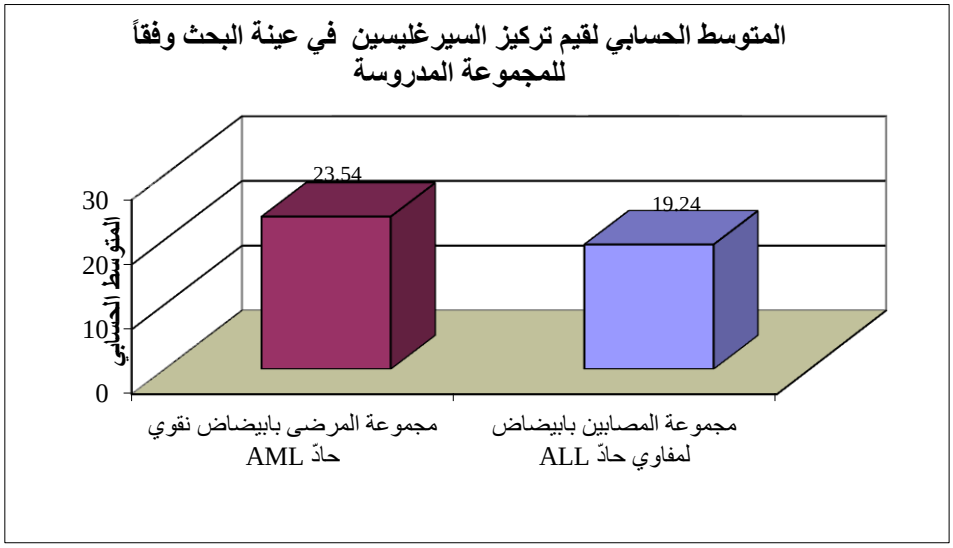
٢. دراسة تأثير نمط الابيضاض في قيم تراكيز السيرغليسين:

تم دراسة دلالة الفروق في متوسط تركيز السيرغليسينSG (نانوغرام / مل) بين مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML ومجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL كما يلي:

جدول٦: نتائج دلالة الفروق في متوسط قيم تركيز SG بين مجموعة AML ومجموعة ALL.

المجموعة المدروسة	Number	Mean	SD	MIN	MAX	P
مرضى الابيضاض النقوي الحاد AML	19	23.54	11.49	7.01	46.26	1.00
مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد ALL	9	19.24	15.25	6.16	56.65	

عند المقارنة بين مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML ومجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL فيُلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة p= 1>0.05 ، أي أنه عند مستوى الثقة ٩٥% لا توجد فروق ثنائية ذات دلالة إحصائية في متوسط تركيز السيرغليسينSG. نستنتج أن قيم تركيز السيرغليسينSG لا يمكن أن تميز تمييزاً دالاً إحصائياً بين الإصابة بابيضاض نقوي حادّ AML والإصابة بابيضاض لمفاوي حادّ ALL في مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML ومجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL في عينة البحث.



مخطط٦: المتوسط الحسابي لقيم السيرغليسين عند كل من نمطي الابيضاض الحاد.

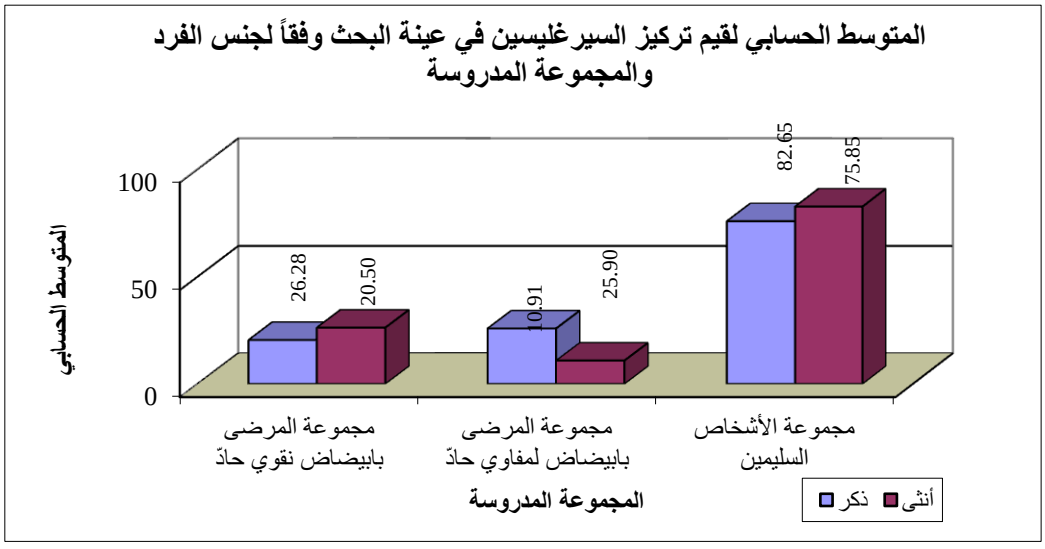
٣. دراسة تأثير جنس الفرد في قيم السيرغليسين SG وفقا للمجموعة المدروسة:

تم حساب دلالة الفروق في متوسط تركيز السيرغليسين (نانوغرام/مل) بين مجموعة الذكور والإناث في عينة البحث فكانت وفق الجدول التالي:

جدول7: نتائج دلالة الفروق في متوسط قيم تركيز السيرغليسين بين مجموعة الذكور ومجموعة الإناث.

المجموعة المدروسة	جنس الفرد	Number	Mean	SD	MIN	MAX	P
الأشخاص الأصحاء	ذكر	5	75.85	26.72	51.12	114.34	0.656
	أنثى	4	82.65	12.57	70.58	96.29	
مرضى الابيضاض النقوي الحادّ AML	ذكر	9	20.50	11.06	7.01	38.47	0.286
	أنثى	10	26.28	11.73	13.09	46.26	
مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد ALL	ذكر	5	25.90	17.96	10.79	56.65	0.153
	أنثى	4	10.91	4.88	6.16	17.73	

يبين الجدول أن قيمة مستوى الدلالة p أكبر بكثير من القيمة ٠,٠٥ ، أي أنه عند مستوى الثقة ٩٥% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط تركيز السيرغليسين SG بين مجموعة الذكور ومجموعة الإناث مهما كانت المجموعة المدروسة في عينة البحث.



مخطط٧:المتوسط الحسابي لتركيز السيرغليسين وفق جنس الفرد والمجموعة المدروسة.

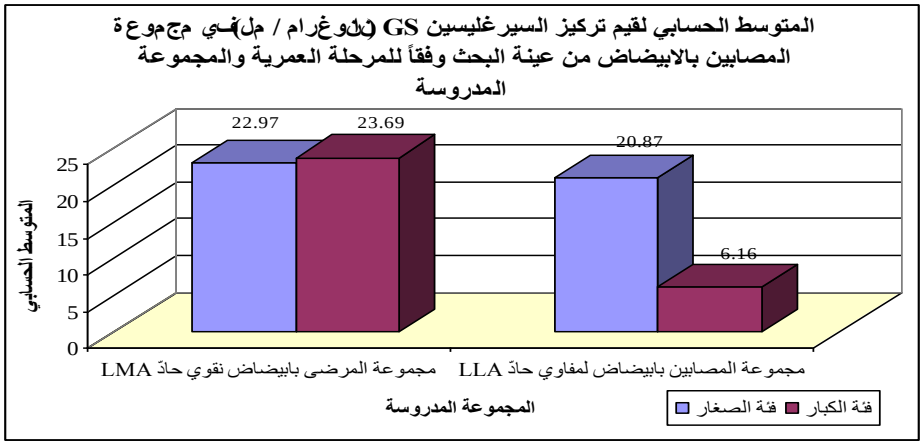
٤. دراسة تأثير المرحلة العمرية للفرد في قيم تركيز السيرغليسين SG في مجموعة مرضى الابيضاض الحاد في عينة البحث وفقاً للمجموعة المدروسة.

تم حساب دلالة الفروق في متوسط تركيز السيرغليسينSG (نانوغرام / مل) بين مجموعة الاطفال ومجموعة البالغين في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ من عينة البحث، وذلك وفقاً للمجموعة المدروسة كما يلي:

جدول8: نتائج دلالة الفروق في متوسط تركيز SGبين مجموعة الأطفال ومجموعة البالغين في مجموعة مرضى الابيضاض الحادّ .

المجموعة المدروسة	المرحلة العمرية	Number	Mean	SD	MIN	MAX	P
المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML	فئةالأطفال	4	22.97	11.30	13.09	38.47	0.914
	فئةالبالغين	15	23.69	11.92	7.01	46.26	
المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL	فئةالأطفال	8	20.87	15.44	9.68	56.65	0.399
	فئةالبالغين	1	6.16	0	6.16	6.16	

يبين الجدول أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة ٠.٠٥ مهما كانت المجموعة المدروسة، أي أنه عند مستوى الثقة ٩٥% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط قيم تركيز السيرغليسينSG بين مجموعة الأطفال ومجموعة البالغين عند مرضى الابيضاض الحاد.



مخطط8: المتوسط الحسابي لتركيز السيرغليسين وفقا للمرحلة العمرية والمجموعة المدروسة.

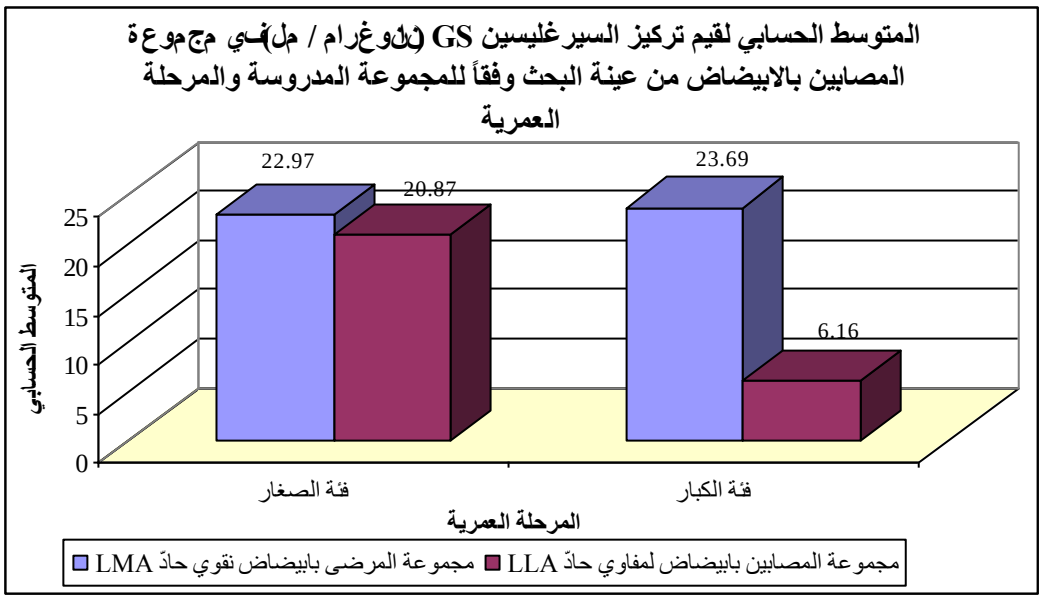
٥. دراسة تأثير نوع الابيضاض الحادّ في قيم تركيز السيرغليسينSG في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ من عينة البحث وفقاً للمرحلة العمرية للفرد:

بحساب دلالة الفروق في متوسط تركيز السيرغليسين(نانوغرام / مل) بين مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML ومجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ وفقاً للمرحلة العمرية للفرد كما يلي:

جدول9: علاقة تركيز السيرغليسين مع المرحلة العمرية عند مرضى الابيضاض الحاد النقوي واللمفاوي.

المرحلة العمرية	المجموعة المدروسة	Number	Mean	SD	MIN	MAX	P
فئة الأطفال	المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML	4	22.97	11.30	13.09	38.47	0.816
	المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL	8	20.87	15.44	9.68	56.65	
فئة البالغين	المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML	15	23.69	11.92	7.01	46.26	0.176
	المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL	1	6.16	-	6.16	6.16	

يبين الجدول أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة ٠.٠٥ مهما كانت المرحلة العمرية للفرد، أي أنه عند مستوى الثقة ٩٥% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط قيم تركيز السيرغليسين بين مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML ومجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL مهما كانت المرحلة العمرية للفرد في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ من عينة البحث.



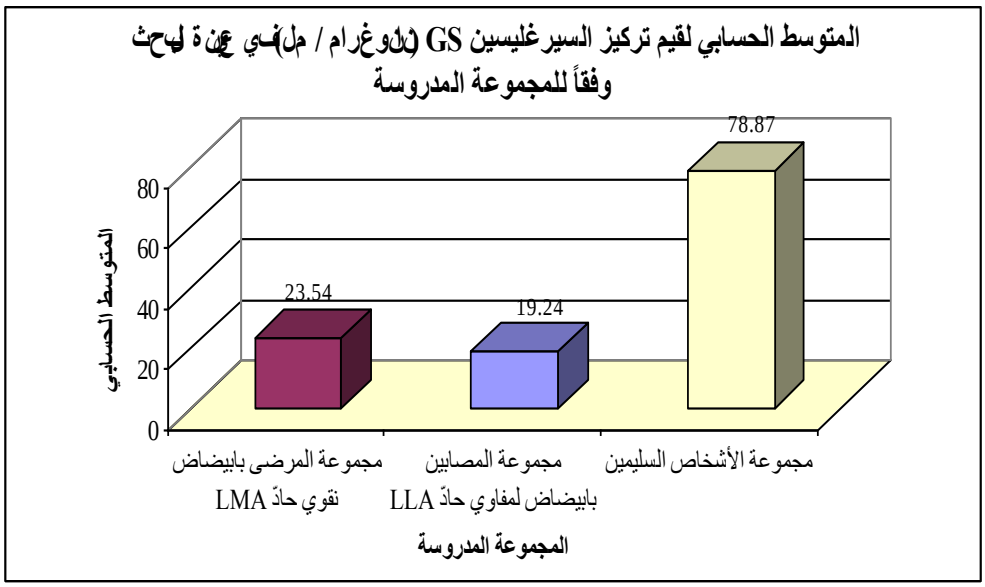
مخطط9: المتوسط الحسابي لتركيز السيرغليسين في مجموعة المرضى بالابيضاض الحاد وفقا المجموعة المدروسة و المرحلة العمرية.

٦. دراسة مستوى الدلالة بين متوسط تركيز السيرغليسين لدى الأشخاص الأصحاء وكل من نوعي الابيضاض على حدا :

جدول10: نتائج مستوى الدلالة بين الأشخاص الأصحاء وكل من الابيضاض النقوي الحاد ومرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد.

المجموعة المدروسة	Number	Mean	SD	MIN	MAX	P
مرضى الابيضاض النقوي الحاد AML	19	23.54	11.49	7.01	46.26	0.00
الأشخاص السليمين	9	78.87	20.72	51.12	114.34	
مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد ALL	9	19.24	15.25	6.16	56.65	0.00

نلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة 0.05>0.00 عند المقارنة في قيم تركيز السيرغليسين SG بين مجموعة الأشخاص الأصحاء وكل من مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML ومجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL على حدة، أي أنه عند مستوى الثقة ٩٥% توجد فروق ثنائية ذات دلالة إحصائية في متوسط تركيز السيرغليسين SG (نانوغرام / مل) بين مجموعة الأشخاص الأصحاء وكل من مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML ومجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL على حدة في عينة البحث

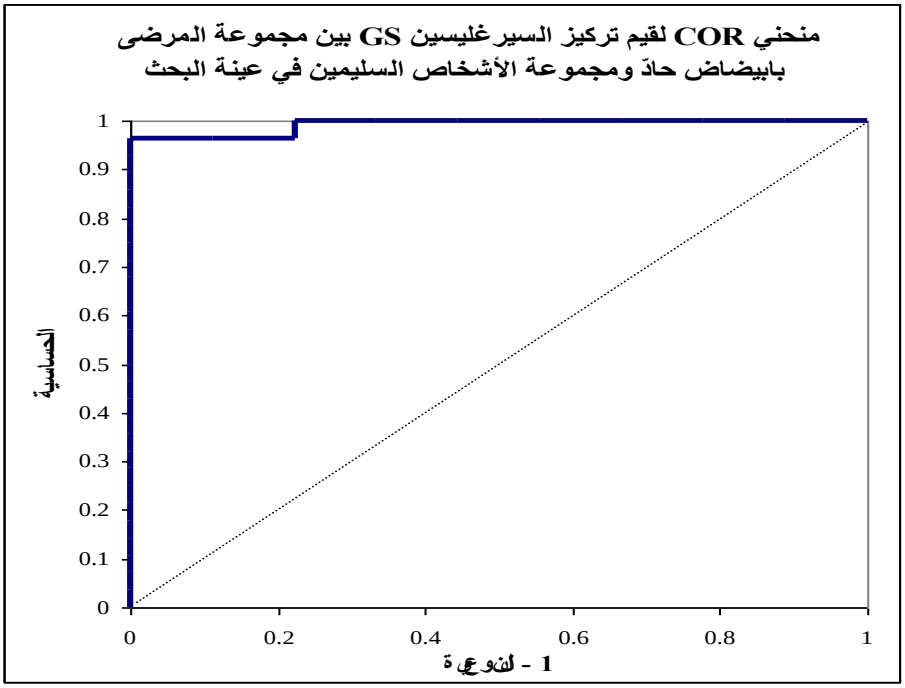


مخطط10: المتوسط الحسابي لقيم السيرغليسين عند الأصحاء وكل نوع من نوعي الابيضاض .

٧. دراسة القيمة الحدية لتركيز السيرغليسين عند وجود فروق إحصائية هامة بين المجموعات المدروسة :

أ- دراسة القيمة الحدية التي تميز مرضى الابيضاض الحاد عن الأشخاص الأصحاء:

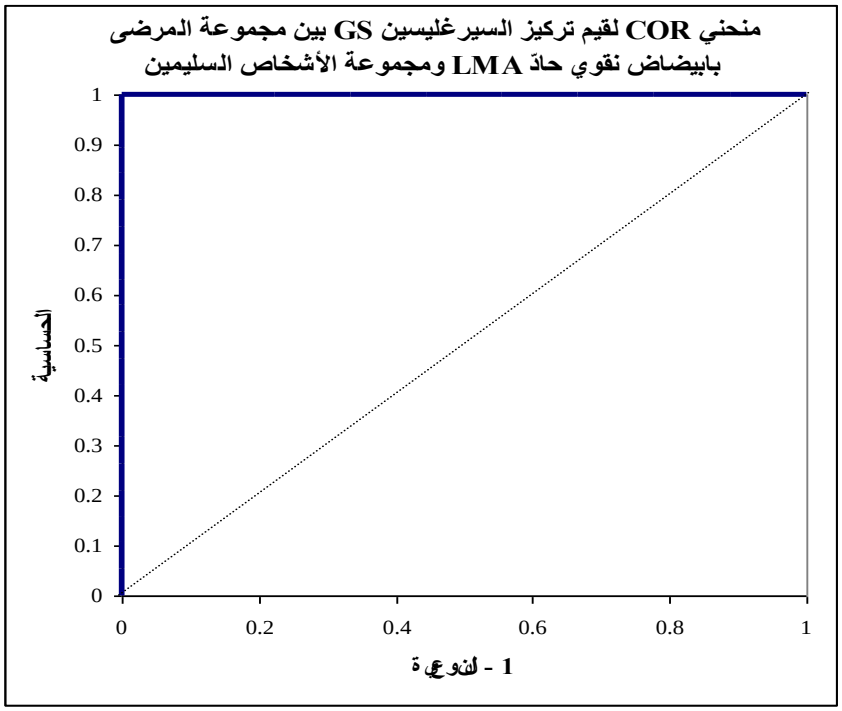
بما أن p ذات دلالة إحصائية هامة في مجموعة الأشخاص الأصحاء ومرضى الابيضاض الحاد. تم رسم منحني ROC ليعبر عن تمييز شديد بين قيم تركيز السيرغليسين لدى المجموعتين، فكانت القيمة الحدية **cut off= 48.7** وذلك بقيمة تنبؤية إيجابية 100% وقيمة تنبؤية سلبية90%، و حساسية 96 % و نوعية 100%. بالتالي نستنتج أنه يمكن اعتماد القيمة **48.7** كقيمة معيارية لتركيز السيرغليسين (نانوغرام/مل) كإنذار للإصابة بالابيضاض الحاد في عينة البحث.



مخطط11: منحني ROCلقيم تركيز السيرغليسين (الخط باللون الأزرق) في مجموعة المرضى بابيضاض حادّ ومجموعة الأشخاص الأصحاء.

ب- **دراسة القيمة الحدية التي تميز مرضى الابيضاض النقوي الحاد عن الأشخاص الأصحاء:**

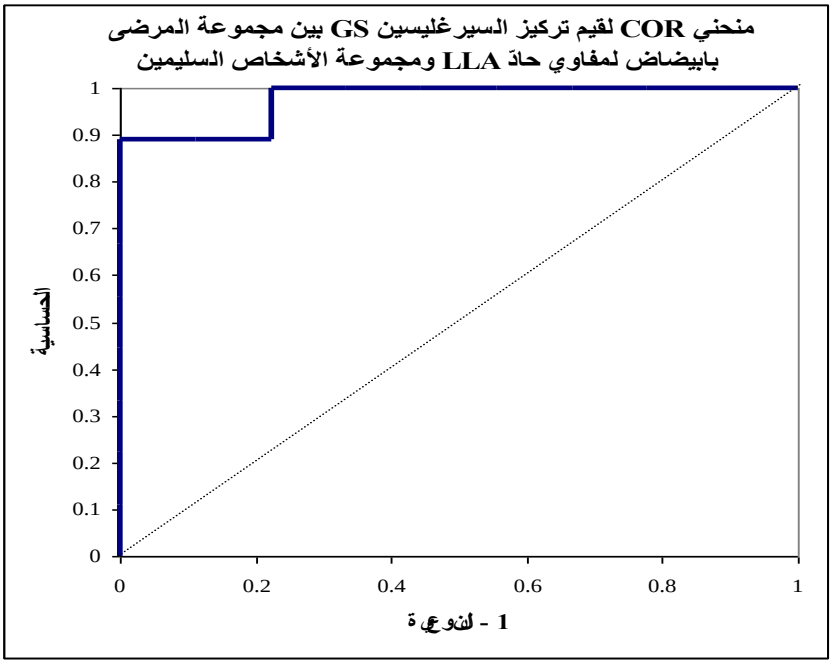
بما أنه يوجد دلالة إحصائية هامة لتركيز السيرغليسين بين مرضى الابيضاض النقوي الحادّ AML والأشخاص الأصحاء، تم رسم منحني ROC فكانت المساحة الواقعة تحته قريبة من الواحد، وهذا يعتبر درجة تمييز جيدة فكانت القيمة الحدية **48.7=cut off** بقيمة تنبؤية إيجابية وقيمة تنبؤية سلبية 100% وذلك بحساسية ونوعية 100% ، وبالتالي نستنتج أنه يمكن تحديد القيمة 48.7 كقيمة معيارية لتركيز السيرغليسينSG (نانوغرام / مل) كإنذار للإصابة بابيضاض نقوي حادّ AML في عينة البحث.



مخطط12: منحني ROC بين قيم تركيزSG والإصابة AML (الخط باللون الأزرق)

ت- **دراسة القيمة الحدية التي تميز مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد عن الأشخاص الأصحاء:**

بما أنه يوجد دلالة إحصائية هامة لتركيز السيرغليسين بين مرضى الابيضاض اللمفاوي الحادّ ALL والأشخاص الأصحاء، تم رسم منحني ROC فكانت المساحة الواقعة تحته قريبة من الواحد، وهذا يعتبر درجة تمييز جيدة فكانت القيمة الحدية **cut off=37.7** بقيمة تنبؤية إيجابية 100% وقيمة تنبؤية سلبية 90% وذلك بحساسية 89% ونوعية 100% ، وبالتالي نستنتج أنه يمكن تحديد القيمة **37.7** كقيمة معيارية لتركيز السيرغليسينSG (نانوغرام / مل) كإنذار للإصابة بالابيضاض اللمفاوي الحادّ ALL في عينة البحث.



مخطط13: منحني ROC لقيم تركيز SG والإصابة ALL (الخط باللون الأزرق)

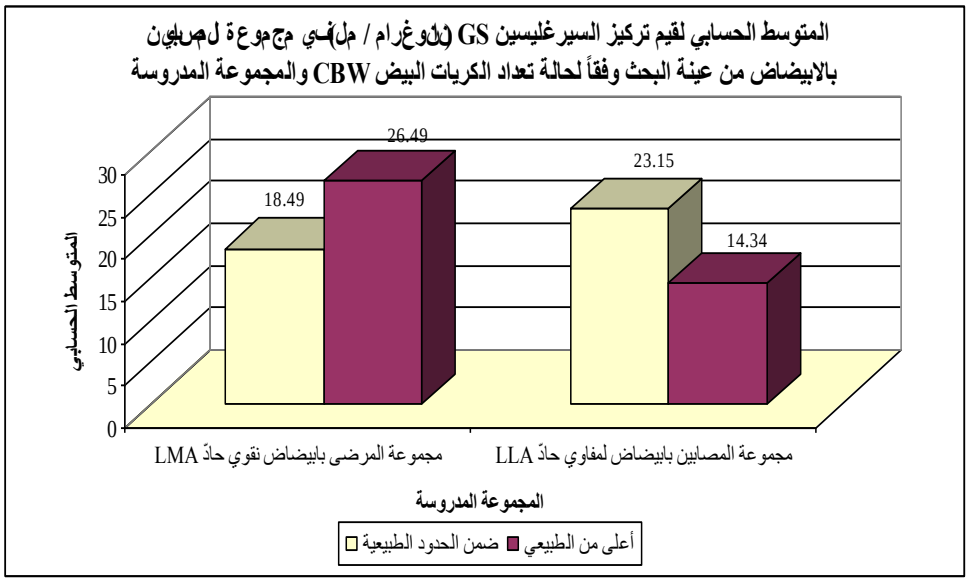
٨. دراسة تأثير حالة تعداد الكريات البيض WBC في قيم تركيز السيرغليسين SG في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ من عينة البحث :

تم إجراء دراسة دلالة الفروق في متوسط تركيز السيرغليسين SG (نانوغرام / مل) بين مجموعة المرضى الذين كان لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية ومجموعة المرضى الذين كان لديهم تعداد الكريات البيض WBC أعلى من الطبيعي في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ من عينة البحث: فكانت حسب الجدول التالي:

جدول11: نتائج دلالة الفروق في متوسط تركيز SG بين مجموعة المرضى الذين كان لديهم WBC ضمن الحدود الطبيعية ومجموعة المرضى الذين WBC أعلى من الطبيعي في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ.

المجموعة المدروسة	تعدادالكريات البيض WBC	Number	Mean	SD	MIN	MAX	P
المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML	ضمن الحدود الطبيعية	7	18.49	8.18	7.01	32.24	0.148
	أعلى من الطبيعي	12	26.49	12.40	10.84	46.26	
المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL	ضمن الحدود الطبيعية	5	23.15	19.41	9.68	56.65	0.426
	أعلى من الطبيعي	4	14.34	7.79	6.16	24.30	

يبين الجدول أن قيمة مستوى الدلالة p> ٠.٠٥ مهما كانت المجموعة المدروسة، أي أنه عند مستوى الثقة ٩٥% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط قيم تركيز السيرغليسينSG (نانوغرام / مل) بين مجموعة المرضى الذين كان لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية ومجموعة المرضى الذين كان لديهم تعداد الكريات البيض WBC أعلى من الطبيعي .



مخطط14: المتوسط الحسابي لتركيز SG في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ وفقاً لحالة تعداد الكريات البيض WBC

٩. دراسة تأثير الإصابة بالابيضاض الحاد في قيم تركيز السيرغليسين في مجموعة المرضى بالابيضاض الحاد وفقاً لحالة تعداد الكريات البيض WBC:

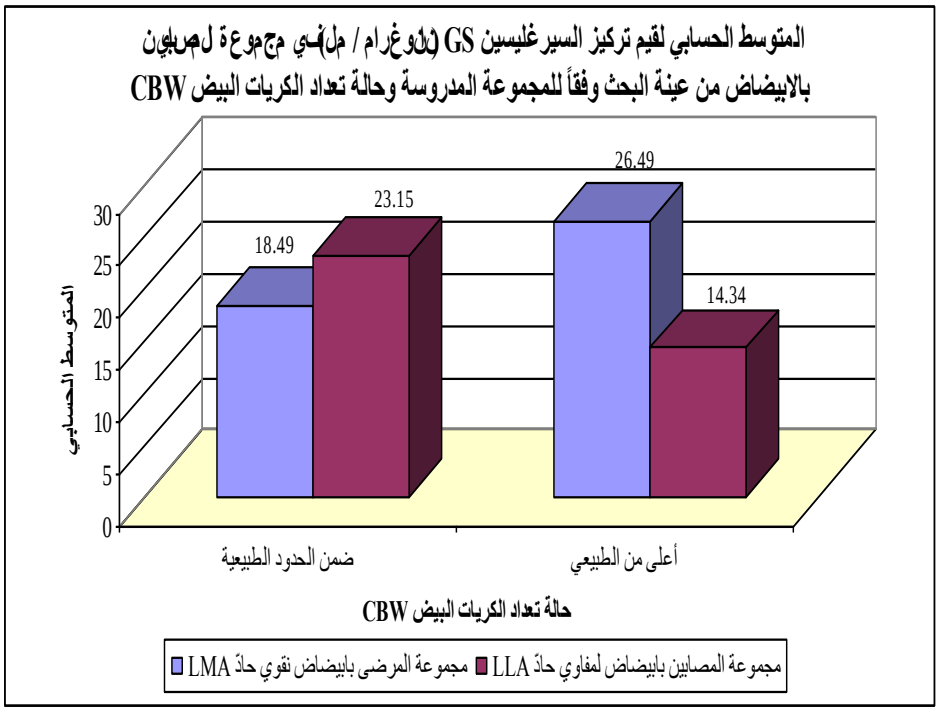
تم حساب دلالة الفروق في متوسط تركيز السيرغليسينSG (نانوغرام / مل) بين مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML ومجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ من عينة البحث، وذلك وفقاً لحالة تعداد الكريات البيض WBC كما يلي:

جدول12: نتائج دلالة الفروق في متوسط تركيز السيرغليسين بين مجموعة مرضى AML ومجموعة مرضى ALL وفقاً لحالة تعداد الكريات البيض WBC.

حالة تعداد الكريات البيض	المجموعة المدروسة	Number	Mean	SD	MIN	MAX	P
ضمن الحدود الطبيعية	المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML	7	18.49	8.18	7.01	32.24	0.577
	المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL	5	23.15	19.41	9.68	56.65	
أعلى من الطبيعي	المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML	12	26.49	12.40	10.84	46.26	0.090
	المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL	4	14.34	7.79	6.16	24.30	

يبين الجدول أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة ٠,٠٥ مهما كانت حالة تعداد الكريات البيض WBC، أي أنه عند مستوى الثقة ٩٥% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط قيم تركيز السيرغليسينSG (نانوغرام / مل) بين مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ

AML ومجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL مهما كانت حالة تعداد الكريات البيض WBC في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ من عينة البحث.



مخطط15: المتوسط الحسابي لتركيز SG في مجموعة المرضى بالابيضاض الحادّ وفقاً حالة تعداد الكريات البيض WBC.

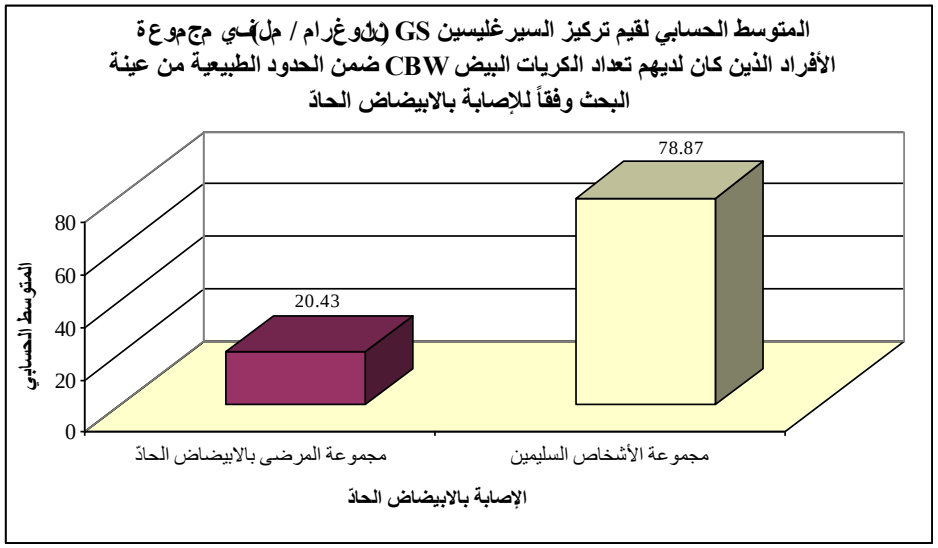
١٠. دراسة تأثير الإصابة بالابيضاض الحاد في قيم تركيز السيرغليسين في مجموعة الأفراد الذين لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية:

تم حساب دلالة الفروق في متوسط تركيز السيرغليسينSG بين مجموعة المرضى بابيضاض حادّ ومجموعة الأشخاص الأصحاء في مجموعة الأفراد الذين كان لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية من عينة البحث كما في الجدول التالي:

جدول13: نتائج دراسة دلالة الفروق في متوسط قيم تركيز SG بين مجموعة المرضى بابيضاض حادّ ومجموعة الأشخاص الأصحاء الذين لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية.

حالة تعداد الكريات البيض WBC	المجموعة المدروسة	Number	Mean	SD	MIN	MAX	P
ضمن الحدود الطبيعية	المرضى بابيضاض حادّ	12	20.43	13.39	7.01	56.65	0.000
	الأشخاص الأصحاء	9	78.87	20.72	51.12	114.34	

يبين الجدول أن قيمة مستوى الدلالة P= 0.00<0.05 ،. أي أنه عند مستوى الثقة ٩٥% توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط تركيز السيرغليسينSG (نانوغرام / مل) بين المجموعتين



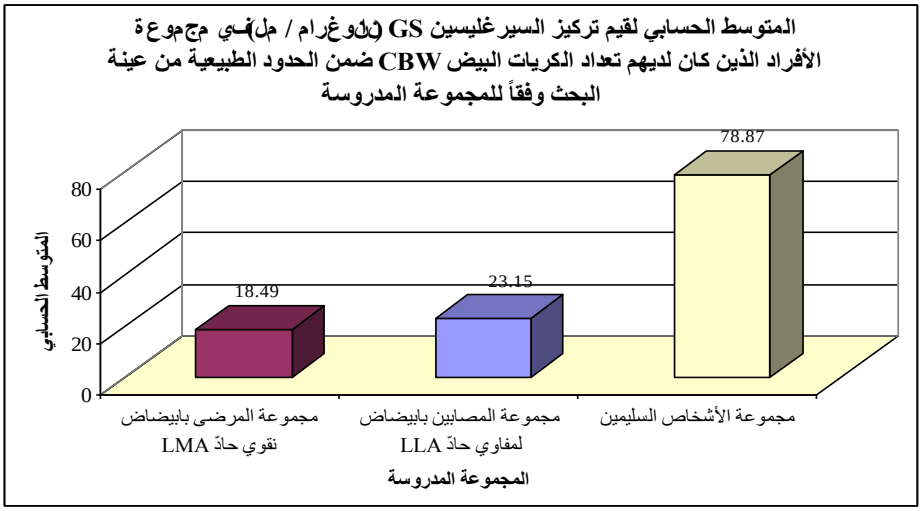
مخطط16: المتوسط الحسابي لقيم SGعند مرضى الابيضاض الحاد والأشخاص الأصحاء عندما WBC تكون طبيعية.

١١. دراسة مستوى الدلالة بين متوسط تركيز السيرغليسين لدى الأشخاص الأصحاء وكل من نوعي الابيضاض على حدا ممن لديهم تعداد كريات بيضاء طبيعية:

جدول14:: نتائج مستوى الدلالة بين كل نوع من الابيضاض الحاد مع الأشخاص الأصحاء.

حالة تعداد الكريات البيض WBC	المجموعة المدروسة	Number	Mean	SD	MIN	MAX	P
ضمن الحدود الطبيعية	المرضى بابيضاض نقوي حادّ	7	18.49	8.18	7.01	32.24	0.000
	الأشخاص الأصحاء	9	78.87	20.72	51.12	114.34	0.000
	المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ	5	23.15	19.41	9.68	56.65	

يبين الجدول أن قيمة مستوى الدلالة <٠.٠٥ عند مقارنة قيم تركيز السيرغليسين SG عند مجموعة الأشخاص الأصحاء مع كل مجموعة من مرضى الابيضاض الحاد على حدة. أي أنه عند مستوى الثقة ٩٥% توجد فروق ثنائية ذات دلالة إحصائية في متوسط تركيز السيرغليسينSGبين مجموعة الأشخاص الأصحاء وكل من مجموعة المرضى بابيضاض نقوي حادّ AML ومجموعة المرضى بابيضاض لمفاوي حادّ ALL على حدة في مجموعة الأفراد الذين كان لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية من عينة البحث

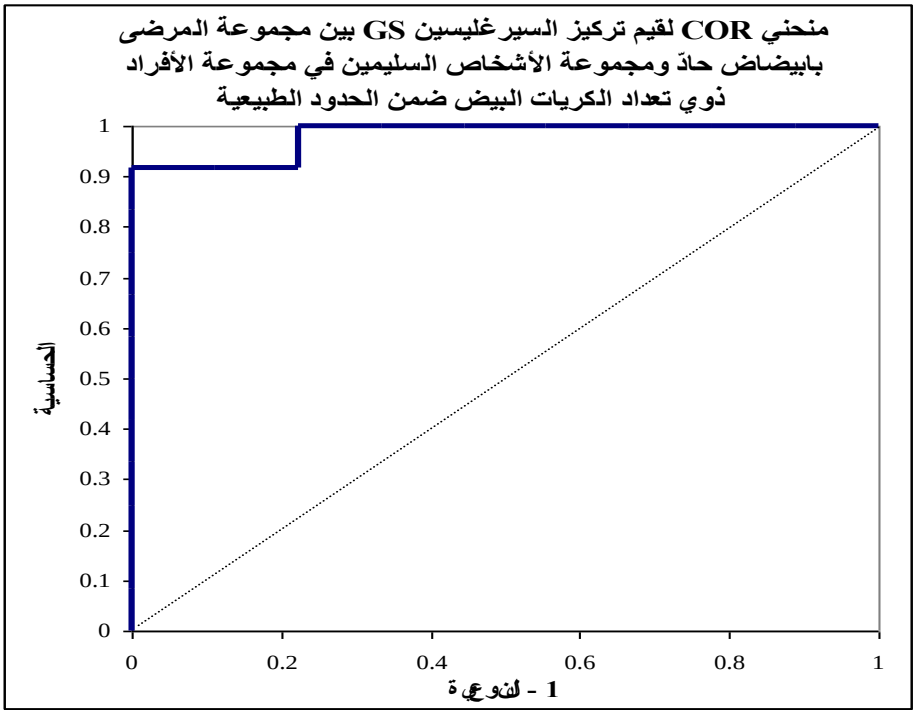


مخطط17: متوسط قيم السيرغليسين عند الأفراد الذين تعداد كرياتهم البيضاء طبيعية في عينة البحث

١٢. دراسة القيمة الحدية لتركيز السيرغليسين عند وجود فروق إحصائية هامة بين المجموعات المدروسة والتي يكون عندها تعداد الكريات البيضاء ضمن الطبيعي:

أ- دراسة القيمة الحدية التي تميز مرضى الابيضاض الحاد عن الأشخاص الأصحاء:

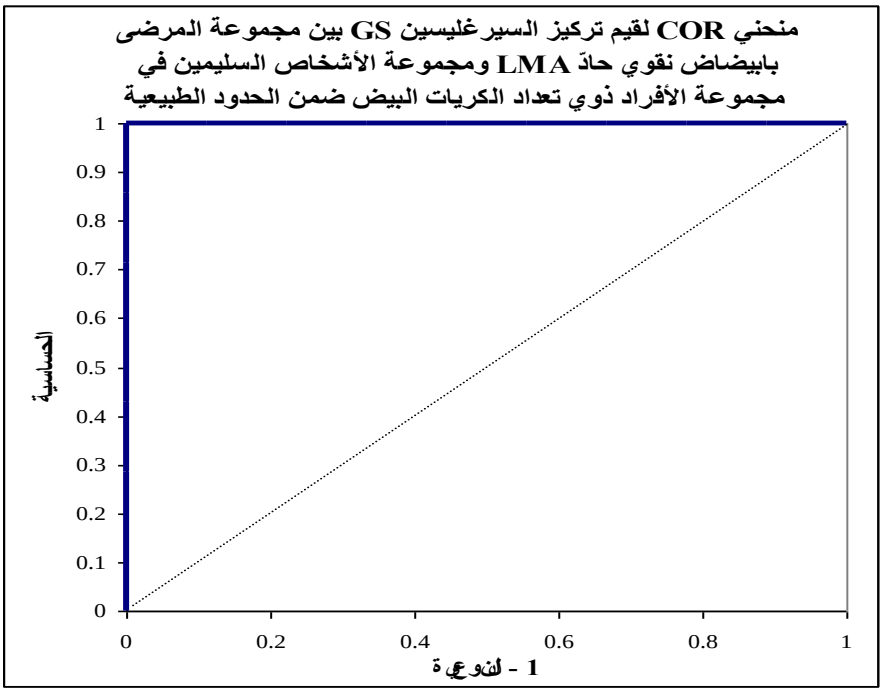
عند وجود قيمة هامة لمستوى الدلالة تم رسم منحني ROC, ثم تحديد القيمة الحدية **cut off=** **41.7** لتعتبر كقيمة معيارية لتمييز مرضى الابيضاض الحاد عندما يكون تعداد كرياتهم البيضاء طبيعية عن الأشخاص الأصحاء، وذلك بقيمة تنبؤية إيجابية 100% وقيمة تنبوئية سلبية90% وذلك بحساسية 91% , ونوعية 100%.



مخطط18: منحني ROC لقيم تركيزSG والإصابة بابيضاض حادّ (الخط باللون الأزرق) في مجموعة الأفراد الذين كان لديهم WBC ضمن الحدود الطبيعية.

ب- **دراسة القيمة الحدية لتركيز السيرغليسين (نانوغرام/مل) عند الأشخاص الأصحاء والإصابة بابيضاض نقوي حاد عندما يكون تعداد الكريات البيضاء طبيعياً.**

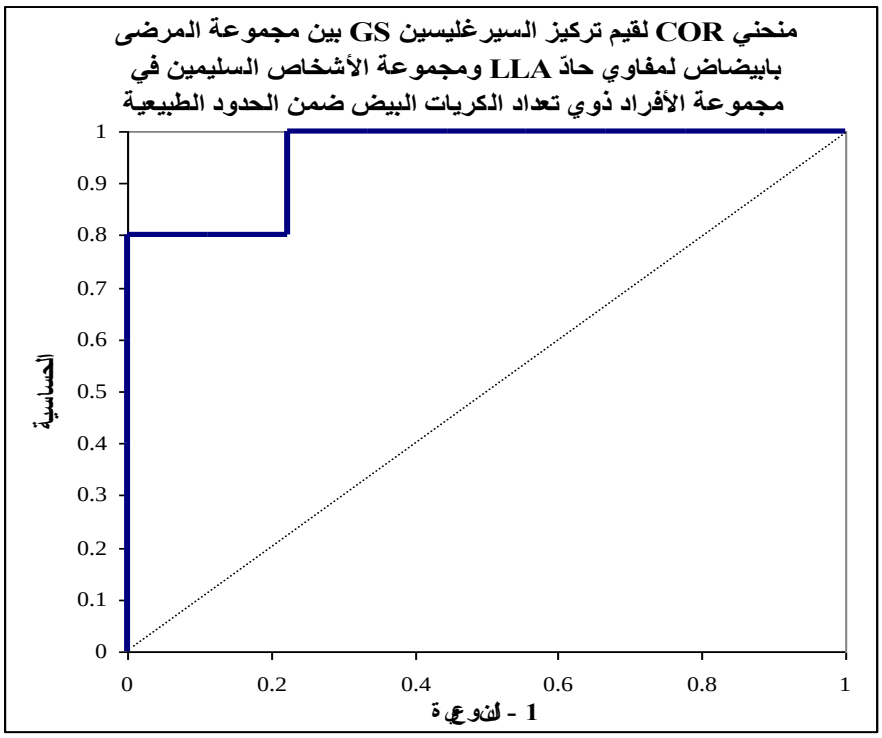
بما أنه يوجد فرق إحصائي هام بين المجموعتين، تم رسم منحني ROC لمتوسط قيم السيرغليسين عند المجموعتين وحساب القيمة الحدية **cut off= 41.68** وذلك عند قيمة تنبؤية إيجابية وسلبية 100% وحساسية وتوعية 100%. ويمكن الاعتماد عليها في مجموعة الأفراد الذين لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية كقيمة معيارية لتركيز السيرغليسين كإنذار للإصابة بالابيضاض النقوي الحاد.



مخطط19: منحني ROC لقيم تركيز السيرغليسين والإصابة AML (الخط باللون الأزرق) في مجموعة الأفراد الذين لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية

ت- **دراسة القيمة الحدية لتركيز السيرغليسين (نانوغرام/مل) عند الأشخاص الأصحاء والإصابة بابيضاض لمفاوي حاد ALL عندما يكون تعداد الكريات البيضاء طبيعياً.**

بما أنه يوجد فرق إحصائي هام بين المجموعتين، تم رسم منحني ROC لمتوسط قيم السيرغليسين عند المجموعتين و حساب القيمة الحدية **cut off= 63.6** وذلك عند قيمة تنبؤية إيجابية 71% وقيمة تنبؤية سلبية 100% وحساسية 100% ونوعية 77%. ويمكن الاعتماد عليها في مجموعة الأفراد الذين لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية كقيمة معيارية لتركيز السيرغليسين كإنذار للإصابة بالابيضاض اللمفاوي الحاد.



مخطط20: منحني ROC لقيم تركيزSG والإصابة بـALL (الخط باللون الأزرق) في مجموعة الأفراد الذين كان لديهم تعداد الكريات البيض WBC ضمن الحدود الطبيعية.

المناقشة Discussion:

وهذا أول بحث في العالم العربي درس تركيز بروتيوغليكان الخلايا الدموية (السيرغليسين) وعلاقته مع الابيضاض النقوي واللمفاوي الحاد، بالإضافة لعلاقته مع الكريات البيضاء.

اعتمدت معظم الدراسات على دراسته داخل الخلايا الدموية وفي عينات من نقي العظم، أما دراستنا فقد اعتمدت على قياس مستوياته في المصل، و درست تراكيزه عند مرضى الابيضاض الحاد بنوعيه النقوي و اللمفاوي (AML,ALL) وكذلك عند فئة من الأشخاص الأصحاء ظاهريا.

تمت دراسة تأثر قيم السيرغليسين بالجنس و المرحلة العمرية للأفراد فكانت لايوجد علاقة تربط تراكيزه مع عمر الأفراد أو المرحلة العمرية (أطفال وبالغين).

وجدنا فروق إحصائية هامة لتميز مرضى الابيضاض الحاد بشكل عام عن الأشخاص الأصحاء ويمكن اعتبار القيمة ٤٨,٧ كقيمة معيارية للإصابة بالابيضاض الحاد، بلغت نسبة الحساسية ٩٦%و النوعية ١٠٠% .

وجدنا القيمة ٤٨,٧ كقيمة معيارية للإنذار بالإصابة بابيضاض نقوي حاد، بلغت الحساسية عنها ١٠٠% والنوعية ١٠٠%

وكذلك القيمة ٣٧,٧ كقيمة معيارية للإصابة بابيضاض لمفاوي حاد. بلغت الحساسية عندها ٨٨% والنوعية١٠٠%.

(لاتوجد دراسات لمقارنة نتائج تراكيز السرغليسين عند مرضى نوعي الابيضاض الحاد مع الأشخاص الأصحاء.)

لاحظنا وجود ارتفاع في متوسط تركيز السيرغليسين عند مرضى AML مقارنة مع ALL لكن كانت قيمة p>٠.٠٥ ولايعطي فروق إحصائية هامة وهذا يعود لقلة عدد العينات التي تحكمت بالبحث. وهذا يخالف دراسة Neiman في جامعة Copenhagen ارتفاع تركيز السيرغليسين لدى مرضى AML بنسبة عالية مقارنة مع مرضى ALL وذلك عند دراسته على ٣٢ مريض AML و ٦ مرضى ALL.

اختلفت الدراسات على بعض أماكن توضع السيرغليسين ضمن الخلايا النقوية حيث أوضحت دراسة Cowland, J. B.1999 وجود مستويات عالية ل mRNA للسيرغليسين في جميع الخلايا النقوية في نقي العظم والمحببات في الدم المحيطي وزيادة تعبيريته كلما نضجت الحبيبات وذلك بوجود خلايا أخرى من حمضات و أسسات تزداد تعبيرية السيرغليسين أثناء تمايز النقويات وهذا يتوافق مع تنشوء الحبيبات، بينما على العكس فتنقص تعبيرية السيرغليسين بتميز سلائف النقويات إلى الخلايا المعتدلة الناضجة.(٣، ١١)

أثبتت دراستين Stellrecht, C. M.1999Niemann, Carsten Utoft2004, مستويات السيرغليسين في نقي العظم باستخدام التلوين النسيجي المناعي immunohistchemistry، حيث وجدت التفاعلية المناعية immunoreactivity في جهاز غولجي Golgi للخلايا السليفة promyeloscyte و الخلايا النقوية Myelocyte و بعض الخلايا الشريطية Band cell وبعض المعتدلات neutrophil.(١٠) وهذا يعني تناقص مستوى بروتين السيرغليسين أثناء تمايز الخلايا النقوية يرافقه تناقص تعبيرية mRNA وذلك باستخدام Northern blotting ، فتختلف تعبيرية السيرغليسين باختلاف الخلايا عند تمايزها من سليفة النقوية نحو الخلايا المفصصة. وتكون مستويات mRNA للسيرغليسين في الخلايا السليفة مشابهة لمستوياته في الخلايا النقوية الابيضاضية acute myelogenus leukemia(٤، ٩، ١٠)

وبما أن المشكلة التي تواجهنا أولا لدى مرضى الابيضاض الحاد عندما يكون تعداد كرياتهم البيضاء طبيعياً كالأشخاص الأصحاء أو ناقصاً، وهي نسبة تشكل ٤٠-٥٠% من الحالات ولاتوجه نحو الابيضاض. فهنا تكمن المشكلة في التوجه نحو التشخيص وتتطلب استقصاءات كثيرة ومكلفة لأنه يدخل مع تشاخيص تفريقية عديدة. فتوجهنا بدراسة فروق تركيز السيرغليسين حسب تعداد الكريات البيضاء. فقد اعتمدت دراستنا لأول مرة على دراسة تأثير عدد الكريات البيضاء على قيم تراكيز السيرغليسين عند مرضى الابيضاض النقوي الحاد (AML) ومرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد (ALL). لكن دراسته داخل الخلايا يعتمد على تقنيات التلوين المناعي وغيرها من تلوين RNA.

.في حالة كان تعداد الكريات طبيعيا لدى مرضى AML و ALL وجدنا بدراسة فروق تركيز السيرغليسين عند هؤولاء المرضى فروق إحصائية هامة جدا تمكننا من تمييزهم عن الأشخاص الأصحاء. (لاتوجد دراسات للمقارنة.)

اعتبرت القيمة الحدية ٤١,٧ قيمة معيارية كإنذار للإصابة بابيضاض حاد وكانت الحساسية ٩١% والنوعية ١٠٠%.

واعتبرت القيمة ٤١,٧ كقيمة معيارية للإصابة بابيضاض نقوي حاد وذلك عندما يكون تعداد كريات المريض طبيعيا أو ناقصاً بحساسية ١٠٠% ونوعية ١٠٠%.

اعتبرت القيمة الحدية ٦٣.٦ قيمة معيارية كإنذار للإصابة بابيضاض لمفاوي حاد عندما يكون تعداد كريات دم المريض طبيعياً. بحساسية ١٠٠% ونوعية ٧٧%.

وجدنا عدم وجود فروق إحصائية هامة عند دراسة فروق تركيز السيرغليسين بين مرضى AML وALL وذلك عند تعداد طبيعي أو ناقص للكريات البيضاء. ولم تنوه الدراسات لهذه العلاقة سابقا.

وبارتفاع تعداد الكريات البيضاء وجدنا ارتفاع في قيم تركيز السيرغليسين عند مرضى AML أكثر بمرتين من مرضى ALL . لكن قيمة $0.05<P$ لاتوجد أهمية إحصائية ويعزى هذا إلى عدد العينات المتحكمة بالبحث. و لا توجد دراسات عالمية أو محلية للمقارنة.

وهذا يثبت العلاقة بينه وبين عدد الكريات البيض. أيضا نجد على العكس عند ارتفاع تعداد الكريات البيض عند مرضى ALL قيم السيرغليسين تبدو أقل من قيمها عند انخفاض تعداد البيض وهذا أشارت له دراسة بأن تركيز السيرغليسين يرتبط عكسيا مع تعداد اللمفاويات التي تكون مرتفعة عند مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد وذلك لارتباطها ب Granze B المكون الأساسي داخل اللمفاويات ويرتبط عكسياً مع السيرغليسين لكن لاتزال الدراسات توضح هذه العلاقة.

الاستنتاجات Conclusions:

ضمن محدودية و إمكانية هذه الدراسة نستنتج ما يلي:

- ✓ يمكن الاعتماد على السيرغليسين في تشخيص الابيضاض الحاد لما له من دلالة إحصائية هامة.
- ✓ وجود علاقة تربط مستويات هذا البروتيوغليكان مع الكريات البيضاء.
- ✓ إمكانية استخدام السيرغليسين كواسم نوعي للتمييز بين مرضى الابيضاض الحاد والأشخاص الأصحاء عندما تكون الكريات البيضاء لمرضى الابيضاض ضمن الحدود الطبيعية .
- ✓ لا علاقة للجنس و العمر بتركيز السيرغليسين.

التوصيات والمقترحات :Recommendations and Suggestions

- ✓ إجراء دراسات تشمل عدد أكبر من المرضى من أجل الدراسية النوعية أكثر للسيرغليسين.
- ✓ إجراء دراسات تعنى بتحري دور السيرغليسين في تشخيص أورام وخباثات أخرى.
- ✓ إجراء دراسات على دور السيرغليسين في الابيضاضات المزمنة.

ملخص:

السيرغليسين بروتيوغليكان داخل خلوي هام في الخلايا الدموية. تمت دراسته في خلايا دموية طبيعية و ورمية. لذلك وصف دوره في المناعة والأورام ومنها الابيضاضات، إن ما نجده من تحد في تشخيص الابيضاض الحاد والتمييز بين نوعيه النقوي واللمفاوي، دفعنا لقياس تركيز السيرغليسين عند مرضى الابيضاض النقوي الحاد واللمفاوي الحاد من أطفال وبالغين مقيمين في شعبة أمراض الدم في المشافي الجامعية (الأطفال والمواساة والأسد) وذلك قبل تلقي أي علاج، و دراسة علاقته مع تعداد الكريات البيضاء. فكان هناك فرق واضح في تراكيزه عند مرضى الابيضاض الحاد و الأشخاص الأصحاء، و تأثر تراكيزه عند مرضى الابيضاض النقوي الحاد و مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد وفق تعداد الكريات البيضاء .

Abstract:

Serglaycin is an intracellular proteoglycan in hematopoietic cells. It has been studied in normal and tumor hematopoietic cell, so it was suggested to have an important role in immunity and cancers as leukemia. The challenge to make a diagnosis for acute leukemia and to differentiate between myeloid or lymphoblastic leukemia, is the reason we go to assay concentration of serglycin with in people and patient with acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia from children and adult at hematology department in the main hospitals in Damascus (Pediatric'shopital, Almouasat and Al asaad hospital) before beginning any kind of treatment and studying the relation with white blood cells count. We found clear difference between the concentration in patient with acute leukemia and normal people. There was a clear effect of concentration of this marker in paint with AML and ALL patients according to the count of white blood cells.

Refrences المراجع

1. Deschler B, Lubbert M. Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. Cancer. 2006;107(9):2099-107. Epub 2006/10/05.
2. Haferlach T, Kern W, Schnittger S, Schoch C. Modern diagnostics in acute leukemias. Critical reviews in oncology/hematology. 2005;56(2):223-34.
3. Kolset SO, Pejler G. Serglycin: a structural and functional chameleon with wide impact on immune cells. J Immunol. 2011;187(10):4927-33. Epub 2011/11/04.
4. Kolset SO, Tveit H. Serglycin--structure and biology. Cellular and molecular life sciences : CMLS. 2008;65(7-8):1073-85. Epub 2007/12/11.
5. Scully OJ, Chua PJ, Harve KS, Bay BH, Yip GW. Serglycin in health and diseases. Anat Rec (Hoboken). 2012;295(9):1415-20. Epub 2012/07/19.
6. Kolset SO, Prydz K, Pejler G. Intracellular proteoglycans. The Biochemical journal. 2004;379(Pt 2):217-27. Epub 2004/02/05.
7. Li XJ, Qian CN. Serglycin in human cancers. Chinese journal of cancer. 2011;30(9):585-9. Epub 2011/09/02.
8. Toyama-Sorimachi N, Kitamura F, Habuchi H, Tobita Y, Kimata K, Miyasaka M. Widespread expression of chondroitin sulfate-type serglycins with CD44 binding ability in hematopoietic cells. The Journal of biological chemistry. 1997;272(42):26714-9. Epub 1997/10/23.
9. Finstad HS, Kolset SO, Holme JA, Wiger R, Farrants AK, Blomhoff R, et al. Effect of n-3 and n-6 fatty acids on proliferation and differentiation of promyelocytic leukemic HL-60 cells. Blood. 1994;84(11):3799-809. Epub 1994/12/01.
10. Niemann CU, Cowland JB, Klausen P, Askaa J, Calafat J, Borregaard N. Localization of serglycin in human neutrophil granulocytes and their precursors. Journal of leukocyte biology. 2004;76(2):406-15.
11. Cowland JB, Borregaard N. The individual regulation of granule protein mRNA levels during neutrophil maturation explains the heterogeneity of neutrophil granules. Journal of leukocyte biology. 1999;66(6):989-95. Epub 1999/12/30.
12. Niemann CU, Kjeldsen L, Ralfkiaer E, Jensen MK, Borregaard N. Serglycin proteoglycan in hematologic malignancies: a marker of acute myeloid leukemia. Leukemia. 2007;21(12):2406-10. Epub 2007/10/12.
13. Meenaghan T, Dowling M, Kelly M. Acute leukaemia: making sense of a complex blood cancer. Br J Nurs. 2012;21(2):76, 8-83. Epub 2012/02/07.
14. Ferrara F, Schiffer CA. Acute myeloid leukaemia in adults. Lancet. 2013;381(9865):484-95. Epub 2013/02/13.
15. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. CA: a cancer journal for clinicians. 2016;66(1):7-30. Epub 2016/01/09.
16. De Kouchkovsky I, Abdul-Hay M. 'Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update'. Blood cancer journal. 2016;6(7):e441. Epub 2016/07/02.
17. Haferlach T, Kern W, Schnittger S, Schoch C. Modern diagnostics in acute leukemias. Critical reviews in oncology/hematology. 2005;56(2):223-34. Epub 2005/10/11.
18. Hasserjian RP. Acute myeloid leukemia: advances in diagnosis and classification. International journal of laboratory hematology. 2013;35(3):358-66. Epub 2013/04/18.
19. McKenna RW. Multifaceted approach to the diagnosis and classification of acute leukemias. Clinical chemistry. 2000;46(8 Pt 2):1252-9. Epub 2000/08/06.
20. Bernadette F. Rodak M, Jacqueline H. Carr, MS,. Clinical Hematology Atlas. book. 2013.

21. Dohner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Buchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. Blood. 2010;115(3):453-74. Epub 2009/11/03.

22. Haferlach T, Bacher U, Kern W, Schnittger S, Haferlach C. Diagnostic pathways in acute leukemias: a proposal for a multimodal approach. Annals of hematology. 2007;86(5):311-27. Epub 2007/03/22.

23. Dohner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Buchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood. 2017;129(4):424-47. Epub 2016/11/30.

24. Saultz JN, Garzon R. Acute Myeloid Leukemia: A Concise Review. Journal of clinical medicine. 2016;5(3). Epub 2016/03/10.

25. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016;127(20):2391-405. Epub 2016/04/14.

26. Betty Ciesla M. Hematology in Practice. book. 2007;Philadelphia, PA 19103:159-219.

27. Pejler G, Abrink M, Wernersson S. Serglycin proteoglycan: regulating the storage and activities of hematopoietic proteases. Biofactors. 2009;35(1):61-8. Epub 2009/03/26.

28. Theocharis AD, Skandalis SS, Tzanakakis GN, Karamanos NK. Proteoglycans in health and disease: novel roles for proteoglycans in malignancy and their pharmacological targeting. The FEBS journal. 2010;277(19):3904-23. Epub 2010/09/16.

29. Carlos BM. Unveiling the biological role of serglycin proteoglycans2008.

30. Schick BP, Gradowski JF, San Antonio JD. Synthesis, secretion, and subcellular localization of serglycin proteoglycan in human endothelial cells. Blood. 2001;97(2):449-58. Epub 2001/01/12.

31. Schick BP. Serglycin proteoglycan deletion in mouse platelets: physiological effects and their implications for platelet contributions to thrombosis, inflammation, atherosclerosis, and metastasis. Progress in molecular biology and translational science. 2010;93:235-87. Epub 2010/09/03.

32. Korpetinou A, Skandalis SS, Labropoulou VT, Smirlaki G, Noulas A, Karamanos NK, et al. Serglycin: at the crossroad of inflammation and malignancy. Frontiers in oncology. 2014;3:327. Epub 2014/01/24.

33. Ranson M, Gallagher J. Proteoglycans in Cellular Recognition and Secretory Functions in the Haemopoietic System. Modern Trends in Human Leukemia IX: Springer; 1992. p. 121-39.

34. Roy A, Femel J, Huijbers EJ, Spillmann D, Larsson E, Ringvall M, et al. Targeting Serglycin Prevents Metastasis in Murine Mammary Carcinoma. PloS one. 2016;11(5):e0156151. Epub 2016/05/26.

35. Oynebraten I, Hansen B, Smedsrod B, Uhlin-Hansen L. Serglycin secreted by leukocytes is efficiently eliminated from the circulation by sinusoidal scavenger endothelial cells in the liver. Journal of leukocyte biology. 2000;67(2):183-8. Epub 2000/02/12.

36. Korpetinou A, Papachristou DJ, Lampropoulou A, Bouris P, Labropoulou VT, Noulas A, et al. Increased Expression of Serglycin in Specific Carcinomas and Aggressive Cancer Cell Lines. BioMed research international. 2015;2015:690721. Epub 2015/11/20.

37. Korpetinou A, Skandalis SS, Moustakas A, Happonen KE, Tveit H, Prydz K, et al. Serglycin is implicated in the promotion of aggressive phenotype of breast cancer cells. PloS one. 2013;8(10):e78157. Epub 2013/11/10.