مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۲۸ شماره ۴ زمستان ۱۳۸۵ صفحات ۱۱۳- ۱۰۹

سلولهای بلاست در خون بیماران مبتلا به لوسمی های حاد: مطالعه مقایسه ایی در سیستم H1 و فلوسیتومتری و مروری بر عملکرد دو سیستم

دکتر سید هادی ملجائی: دانشیار گروه بیوشیمی و آزمایشگاه های بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط
E-mail: Shmaljaei@Yahoo.com
دکتر جلیل واعظ: استاد گروه داخلی، هماتولوژی و مدیکال انکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۴/۸/۲۸، پذیرش: ۸۵/۲/۲۴

چکیده

زمینه و اهداف: اطلاع از وجود سلولهای بلاست در خون و مغز استخوان یکی از شاخصهای تشخیص لوسمی حاد است. در صورت وجود بلاست تعیین مقدار درصد آن در پیگیری و کنترل بیماران و نیز بعد از درمان نقش ویژه ای دارد. هر چند مشاهده مستقیم سلولها با میکروسکپ روش دقیقی است با اینحال وقت گیر بوده و نتایج از فردی به فرد دیگر ممکن است متفاوت باشد. سیستم شمارشگر اتوماتیک H1 علاوه بر انجام شمارش افتراقی کامل قادر است مقدار درصد بلاستها را نیز گزارش نماید. بمنظور اطلاع از میزان درستی عملکرد این سیستم در محاسبه درصد بلاست، اقدام بمقایسه آن با مقادیری که توسط فلوسیتومتری گزارش میشود نمودیم.

روش بررسی: نمونه خون تعداد ٤٨ بیمار مبتلا به انواع لوسمی حاد بعنوان تست و ۵۰ بیمار مبتلا به لوسمی لنفوئیدی مزمن را بعنوان شاهد همزمان بوسیله H1 و فلوسیتومتری با استفاده از آنتی بادی منوکلنال ضد CD45 بمنظور بدست آوردن تعداد درصد بلاستها مطالعه گردیدند.

یافته ها: مقدار متوسط در صد بلاستهای بدست آمده از H1 برای لوسمی های حاد لنفوئیدی B و حاد لنفوئیدی T ومیلوئیدی حاد از جمله میلوئیدی مزمن در فاز بلاستیک بترتیب ١٦/٣ درصد و۲۷ درصد و ٤٩/٦ درصد بود. مقادیر متوسط در فلوسیتومتری بترتیب ٦٦/٦ و ۷۹/۷ و ۸۷ درصد بدست آمد. هیچکدام از سیستمهای یاد شده برای CLL بلاست نشان ندادند.

نتیجه گیری: آنالیزسلولهای خون توسط H1 در لوسمی لنفوئید مزمن که معمولا فاقد بلاست هستند قابل اعتماد ولی در مورد لوسمی های حاد نادرست است. H1 در مقایسه با فلوسیتومتری با اختلاف قابل توجهی ($p<۰/۰۵$) بلاستهای کمتری در نوع حاد نشان می دهد.

کلید واژه : لوسمی، بلاست، شمارشگر H1، فلوسیتومتری

مقدمه

دستگاه Bayer/Technicon H1: یک نوع فلوسیتومتری اتوماتیک است که دو کانال اپتیکال را مورد استفاده قرار میدهد. ۱- کانال پراکسیداز که با استفاده از لامپ تنگستن و ایجاد شعاع نورانی اطلاعاتی در باره اندازه سلول وشدت جذب نوری ناشی از رنگ آمیزی پراکسیداز فراهم میکند. ۲- کانال بازوفیل که با استفاده از اشعه لیزر تشعشعات نوری را بعد از عبور سلول از مقابل آن در دو زاویه مختلف پس از اجرای لیز سلولی که فقط بازوفیل ها دست نخورده می مانند را اندازه گیری می کند. این کانال همچنین اطلاعاتی در باره لوبولاریتی هسته فراهم می کند. H1 علاوه بر شمارش افتراقی کامل لکوسیت ها، سلولهای درشت پراکسید از منفی (LUC[1]) و اندکس میا نگین پراکسیداز موجود در نوتروفیل ها (MPXI[2]) ها و اندکس لوبولاریتی (LI) سلول ها را نیز محاسبه می کند. H1 علایم متعددی را به نمایش در می آورد: اگر درصد سلول های بلاست در کانال بازو بیشتر از ۲/۵ درصد باشد علامت بازوبلاست (BBLA[3]) ظاهر می شود. اگر تعداد LUC بیشتر از ۴ درصد باشد علامت LUCA[4] و هنگامیکه بازوبلاست و LUC ها افزایش بیابند سیگنال بلاست (BLSI) روشن می شوند. البته افزایش LUC به تنهائی نمی تواند باعث روشن شدن سیگنال BLSI[5] بشود. اگر مجموع مقدار درصد نوتروفیل و ائوزینوفیل منهای پلی مورفو نوکلئار کانال بازو بیشتر از ۱۰٪ باشند، علامت گرانولوسیتهای نارس (IGA) و چنانچه تعداد لنفوسیتهای آتیپیک بیشتر از ۴٪ باشد و یا مجموع درصد بلاست ها بعلاوه ۱/۵ کمتر از ۴٪ باشد علامت ATYP ظاهر خواهد شد. بطور خلاصه سیستمH1 به عنوان یک فلوسیتومتر بسته (کاربر نمی تواند تنظیمات اولیه آنرا تغیر دهد) فقط برای انجام CBC از خون طراحی شده و بنا باظهار سازندگانش شمارش افتراقی لکوسیت هارا بطور کامل انجام داده و از جمله قادر است مقدار درصد بلاست های موجود در خون را مشخص نماید(۱).

فلوسیتومتری چند پارامتری:[6] بطور کلی در همه فلوسیتومترها استفاده از لیزر ۴۸۸ نانومتری که سیگنالهای نوری برای ثبت وضبط تولید می کند عمومیت دارد. سلولهای غوطه ور در محلول ایزوتون (sheath)، از مقابل پرتو لیزری بصورت تک تک و با سرعتی در حدود ۱۰ تا ۱۰۰۰ سلول در ثانیه عبور کرده و در عین حال شعاعهای نورانی به موج یابها (۲) فرستاده می شوند.

1. large Unstained Cell, LUC
2. Myeloperoxidase index, MPXI
3. Baso Blast Alarm, BBLA
4. large Unstained Cell Alarm, LUCA
5. Blast Signal, BLSI
6. Multiparameter Flow Cytometry

پرتوهای نوری با توجه به ویژگی هر سلول از قبیل قطر و محتویات داخل سلولی (غالباً در ارتباط با گرانولاریتی) و نیز بواسطه تهییج لیزری فلوروکرومهای متصل به اجزای سلولی DNA ،RNA یا فلوروکرومهایی که قبلا به عناصر متصل شونده به اجزاء سلول از قبیل آنتی بادی های منوکلنال کنژوکه شده اند تولید می شوند. پرتوهای نوری تولید شده از میان عدسیهای بلوکه کننده (صافی) مختلفی عبور کرده و علایم در یک طیف نوری اپتیمال برای شکل سلول و رنگهای مختلف فلوروکروم ها متمرکز و ثبت می گردند. پرتوها بعد از عبور، سیگنالهای نوری با انرژی متناسب خود تولید خواهند نمود. این سیگنالهای تولید شده در موج یاب نوری، هم بصورت خطی وهم لگاریتمی به جریان انداخته می شوند. سیگنالهای نوری تولید شده بوسیله شکل، گرانولاریتی و قطر سلولی در سیستم تقویت خطی جریان می یابد. تقویت لگاریتمی هنگامی مورد استفاده قرار می گیرد که سیگنالهای نوری با بیش از چهار عامل از هم متفاوت باشند. در واقع این همان زمینه اصلی فلوسیتومتری است که آنالیز بروز یا عدم بروز آنتی ژنها را بوسیله آنتی بادیهای مونوکلنال نشاندار با فلوروکروم های مختلف امکان پذیر می سازد. هنگامیکه سیگنال نوری اندازه گیری و تقویت گردید، مقدار عدد واقعی آن ثبت می گردد. بطور معمول ۵ نوع سیگنال نوری از هر سلول ثبت می شوند، قطر، گرانولاریتی، و سیگنالهایی از سه نوع فلوروکروم. از این پنج نوع سیگنال، لیستی از مقادیر کمّی برای هر سلول ایجاد می شود و این اطلاعات تحت عنوان List Mode-data-file ذخیره می گردند. این لیست در هنگام آنالیز اطلاعات بوسیله نرم افزار مربوط مورد استفاده قرار می گیرد. بطور معمول ازList-mode-data-file یک نمایش دو بعدی بصورت هیستوگرام یا سیتوگرام در ارتباط با دو تا از پنج عامل ذخیره شده ایجاد می شود. با توجه به تفاوتهای موجود بین سلولهای مختلف، سلولهای همگن در هیستوگرام در دستجات مجزا از هم قرار گرفته و می توان با خطوط مجزا کننده نواحی (Gates or Regions) مختلفی با دستجات سلولی موجود در سیتوگرام دو بعدی ایجاد نمود. وقتی که نواحی مشخص شد، محاسبات آماری از قبیل درصد جمعیت سلولی وارائه مقدار عددی شدت فلورسانس بصورت میانگین، میانه و غیره بطور خودکار انجام می گیرد. (۲) فلوسیتومتری چند پارامتری برای آنالیز انواع مختلف از هر بافتی که سلول هاش بصورت سوسپانسیون در آید طراحی و با توجه به پروتکل های آزمایش، کاربر می تواند دستگاه را به منظور های مختلف تنظیم نماید.(۳)

آنتی ژن CD45 یک پان لکوسیت مارکر است و تعداد آن در سلولهای بالغ بیشتر از اشکال نا بالغ لکوسیت ها میباشد. بنابراین با استفاده از این خاصیت، می توان سلول های بلاست موجود در خون ویا مغزاستخوان را که یکی از شاخصهای تشخیص لوسمی است و تعداد آن در پیگیری و کنترل بیماران و نیز بعد از درمان نقش ویژه ای دارد مطالعه کرد.(۱۰-۴)

در حال حاضر مشاهده مستقیم سلولها و محاسبه تعداد بلاست با میکروسکپ در بین هماتولوژیست ها یک روش رایج و اساسی است با اینحال وقت گیر بوده و نتایج از فردی به فرد دیگر ممکن است متفاوت باشد. با توجه به اهمیت موضوع ودر دسترس بودن این دو دستگاه انگیزه ای ایجاد گردید تا با استفاده از آنتی بادی ضد مارکر CD45 ، بلاست ها را که سلول نا بالغ است در سیستم فلوسیتومتری مطالعه و نتایج آنرا با نتایج بدست آمده از H1 را با تجزیه و تحلیل آماری مقایسه بنمائیم.

مواد و روش ها

۴۸ بیمار مبتلا به انواع لوسمی حاد از جمله لوسمی میلوئیدی مزمن در مرحله بلاستیک (CML-B) از سال ۱۳۸۰ لغایت خرداد ۱۳۸٤ بعد از انجام معاینات اولیه و تشکیل پرونده و انجام آزمایشات روتین و تهیه اسمیر خون محیطی، آسپیراسیون و بیوپسی مغز استخوان و مطالعه و خواندن آنها برای این مطالعه انتخاب شدند. پایه انتخاب بیماران و افراد شاهد و کنترل طبیعی در دسترس بودن نتایج همزمان آزمایش CBC دستگاه H1 و نتایج ایمنوفنوتیپ از همان نمونه خون بوده که آزمایش CD45 برای شان در خواست شده بود. همچنین ۵۰ بیمار مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن که در خون خود فاقد بلاست هستند به عنوان شاهد بلاست منفی (با همان شرایط مذکور برای بیماران لوسمی حاد) انتخاب گردیدند.و نیز جهت کنترل بیماران شاهد، نمونه های خون ۸ نفر از همکاران آزمایشگاه و بخش را که در هنگام نمونه گیری در سلامت کامل بودند همزمان برای CBC H1 و CD45 مورد آزمایش قرار گرفتند. هم برای H1 و هم برای ایمنوفنوتیپ از جمله CD45 از خون های اغشته به ضد انعقاد EDTA (EDTA, code no. 8421, MERCK, Germany) استفاده شده است. سلولهای تک هسته ای بدست آمده از ۱۰ الی ۲۰ میلی لیتر خون افراد حداکثر تا دو ساعت با بکار بردن معرفهائی موجود در پانل مخصوص ایمونوفنوتیپ لوسمی های حاد از قبیل CD2, CD3, CD5, CD7, CD10, CD13, CD14, CD19, CD20, CD22, CD33, CD34, CD45, TdT, MPO, HLA-DR, IgM و گلیکوفورین A (خریداری شده از DAKO دانمارک) برابر دستورالعمل سازندگان معرفها و روش استاندارد و مرسوم آزمایشگاه فلوسیتو متری مرکز ایمنوفنوتیپ می شدند.

مطالعه مخصوص اندازه گیری تظاهرآنتی ژن CD45 در سطح سلول های خون به روش ایمنو فلورانس مستقیم با فلوسیتومتری:

همانند سایر روشهای فلوسیتومتری ابتدا سلولهای تک هسته ای بوسیله فایکول (تولید بهار افشان تهران) از خون جدا کرده و بعد از شستشو با محلول هنگس و تهیه سوسپانسیون مناسب، یک میلیون سلول در هر لوله با مقدار۱۰ لاندا (توصیه شده توسط سازنده) از منوکلنال آنتی بادی ضد CD45 (Code no. F 0861 from DAKO, DK-2600 Glostrup, Denmark) که با

فلوروکروم FITC نشاندار بود بمدت ۱۵–۳۰ دقیقه در حرارت توصیه شده و در تاریکی انکوبه شدند. سپس سلولها بعد از سه بار شستشو با PBS و افزودن نیم میلی میتر محلول فیکساتیو (پارافورمآلدهید ۱٪ در PBS) عرض نیم تا دو ساعت با استفاده از نرم افزار Cell Quest (Becton Dickenson, USA) (۳) وارد دستگاه فلوسیتومتری FACS Calibur (ساخت شرکت Becton Dickenson آمریکا)(۲) کرده سپس با همان نرم افزار نسبت به آنالیز سلولها از نظر منفی / مثبت بودن و همچنین شدت تظاهر مارکرهای سطحی سلولها اقدام گردید. علاوه بر تنظیم دستگاه بروال روزمره، برای تشخیص و افتراق فلوسیتومتریک بلاست از سلولهای غیر بلاست، دستگاه به روش CD45/RALS(SSC) gating[1و2] (۵ و ۶) هم موقع دادن سلول به دستگاه و هم هنگام آنالیز تنظیم می گردید. برای آنالیز ابتدا سلول های هدف در هیستوگرام های مربوطه ناحیه بندی (مانند نواحی R2, R3 و R4 در شکل ۲) نموده و اعداد مندرج در مقابل هر ناحیه یادداشت می گردید.

جهت بلوکه کردن FC رسپتور و جلوگیری از مثبت کاذب، سلولها قبل از افزودن آنتی بادی معرف با ۵۰ میکرولیتر AB سرم ۲٪ در PBS انکوبه می شدند. تنظیم دستگاه فلوسیتومتری برای اولین نمونه در حافظه کامپیوتر متصل به فلوسیتومتر بایگانی شده و برای بقیه نمونه ها دائما مورد استفاده قرار می گرفت.

همراه هر نمونه بیمار یا شاهد دو لوله کنترل منفی با آنتی بادی غیر اختصاصی نشاندار با FITC[3] ایزوگروپ با آنتی بادی معرف اولیه و یک لوله کنترل بدون آنتی بادی جهت تعیین مناطق منفی و محاسبه مقدار در صد و شدت تظاهر آنتی ژن CD45 در هیستوگرام و یا سیتوگرام به سری لوله ها اضافه میگردید.

اطلاعات بدست آمده از آزمایش نمونه ها یعنی مقدار درصد بلاست نسبت به سلولهای تک هسته ای محاسبه شده با فلوسیتومتری و H1 را با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۲ برای ویندوز) آزمون t-test به منظور یافتن تفاوت معنی دار در شمارش بلاست توسط دو سیستم مختلف بتفکیک در سه گروه از لوسمی و نیز کل لوسمی به عمل آمد. P کمتر از ۰/۰۵ معیار تفاوت معنی دار بودن در نظر گرفته شد.

یافته ها

با توجه به جدول ۱ که مشخصات دموگرافیک و نتایج مارکرها را به تفکیک انواع لوسمی و میانگین مقادیر درصد بلاست شان را در دو سیستم جمع بندی کرده است میانگین تعداد بلاست شمارش شده با H1 و فلوسیتومتری برای ۱۱ بیمار مبتلا به B-ALL بترتیب ۱۶/۳ و ۶۶/۶ درصد بوده ودر صد بلاست بوسیله فلوسیتومتری به مقدار قابل توجهی بیشتر و متفاوت از H1 است (۰/۰۵ >) این منظره برای لوسمی های T-ALL و AML بترتیب ۲۷ (H1)، ۷۹/۷ (فلو) و ۴۹/۶ (H1)، ۸۷ (فلو) درصد بودند. مقایسه آماری بطور شگفت آوری نشان می دهد که در نزد دو بیماری اخیر نیز مقدار بلاستهای شمارش شده با فلوسیتومتری با اختلاف معنی داری بیشتر از بلاستهای شمارش شده با H1 است به ترتیب با $p < 0.000$ و $p< 0.00$. هیچکدام از سیستمهای یاد شده برای CLL بلاست نشان ندادند

جدول ۱: مشخصات دموگرافیک و مقدار درصد سلولهای بلاست خون ۴۸ بیمار مبتلا به انواع لوسمی های حاد شمارش شده در سیستمهای H1 و فلوسیتومتری (F)

ردیف	مارکر های تیپیک Ω	H1 blast میانگین % طیف	F blast میانگین % طیف	تشخیص
۱	CD19+, CD10+, CD20+ or CD22+ (۹ نفر)	۱۶/۳	۶۶/۶	B-ALL*
	CD19+, CD10-, CD20+ or CD22+ (۲ نفر)	۰–۳۷	۱۸–۹۴	
۲	CD2+, CD3+, CD5+, CD7+ (۶ نفر)	۲۷	۷۹/۷	T-ALL**
		۷–۷۰	۳۸–۹۴	
۳	CD13+, CD14-, CD33+, CD34+, HLADR+ ۳ نفر	۴۹/۶	۸۷	AML:***
	CD13+, CD14-, CD33+, CD34+, HLADR+ ۱۶ نفر	۱۰–۷۷	۹–۹۶	M0-M1
	CD13+, CD14-, CD33+, CD34-, HLADR- ۲ نفر			M2
	CD11b+, CD13+, CD14+, CD33+, CD34+ ۶ نفر			M3
	CD13+, CD33+, CD34+ (۴ نفر)			M4
				CML(B)@

نسبت جنس= ۲۵ مرد/۲۳ زن. میانگین سن بیماران (۶۸–۵) ۳۳/۴ .

بر اساس شمارش با H1 مقدار متوسط WBC = (۱۰۰۰× ۲۷۰–۱۰۰۰) ×۲/۳×۱۰۰۰ ×۵۷/۶عدد در میکرو لیتر خون.

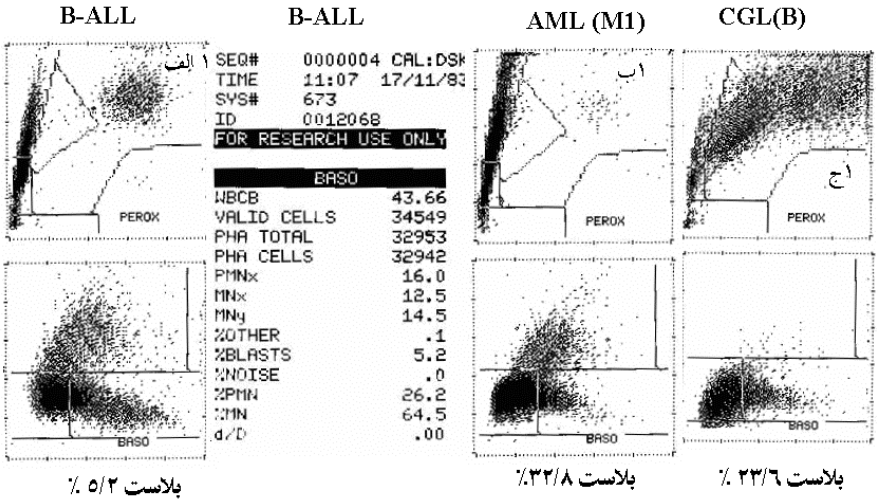
مقدار متوسط هموگلوبین = (۱۳ g/dl – ۳g/dl) ۸/۵ g/dl خون. مقدار متوسط Plt = (۱۰۰۰× ۳۳۲–۱۰۰۰) ×۱۴×۱۰۰۰ ×۵۵عدد در میکرو لیتر خون. متوسط تعداد در صد H1 blast در همه بیماران = (۷۷–۰) ۲۵. متوسط تعداد در صد F blast در همه بیماران = (۹۶– ۹) ۶۳. Ω مطالعه شده توسط سیستم فلوسیتومتری BECTON DICKINSON مدل FACSCalibur .

* همه این بیماران نسبت به مارکرهای سلول T و رده میلوئید منفی بودند. ** همه این بیماران نسبت به مارکرهای سلول B و رده میلوئید منفی بودند.

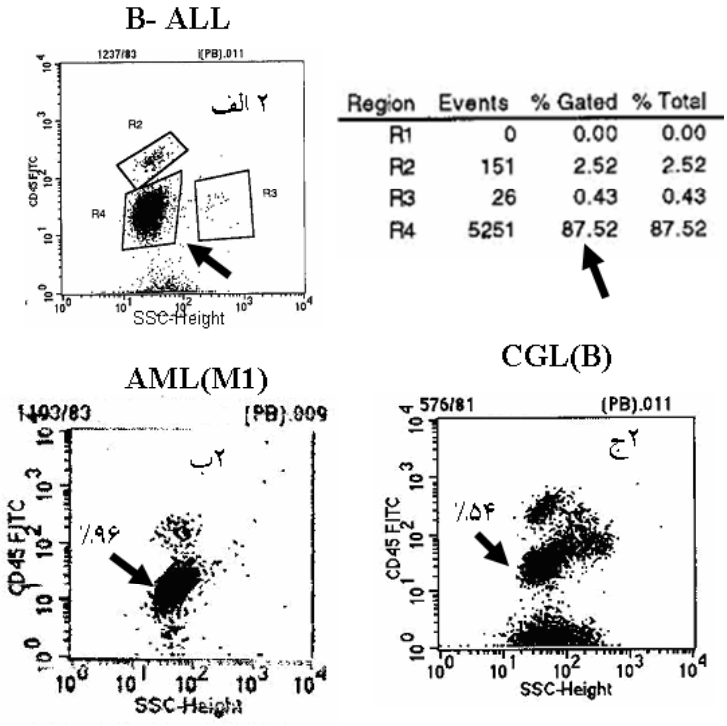
***همه این بیماران نسبت به مارکرهای سلول B و T منفی بودند به جز۴ بیمار که CD19 (یک مورد)و CD7 (سه مورد) را به صورت نا بجا (aberrant) در سطح سلولهای خود بروز داده بودند. + = مثبت – = منفی

@ لوسمی میلوئیدی مزمن در فاز بلاستیک.

1. Cluster of Differentiation, CD
2. Right Angle Light Scatter, RALS
3. Fluorescein Isothiocyanate, FITC



شکل ۱: نمونه ای از سیتوگرام های کانال پراکسیداز (PEROX) و بازو (BASO) سیستم H1 را نشان می دهد. در هیستوگرام های PEROX محور X برای عامل شدت پراکسیداز موجود در سلول های خون و محور Y برای عامل شکل و اندازه سلولهای خون ودر هیستوگرام های BASO محور X برای عامل لوبولاریته هسته سلول ها و محور Y برای شکل و اندازه سلول ها توسط کارخانه سازنده آن قبلاً تنظیم گردیده و کاربر آنرا نمی تواند تغییر بدهد.
۱ الف: سیتوگرام های خون بیمار مبتلا به B-ALL به همراه گزارش خودکار تعداد درصد بلاست(۵/۲ ٪) همان بیمار بوسیله H1 .
۱ب:سیتوگرام های خون بیمار مبتلا به AMLL (M1) که تعداد درصد بلاست آن بوسیله H1 ۳۲/۸ ٪ تعیین شده است. ۱ ج: :سیتوگرام های خون بیمار مبتلا به CGL یا CML در مرحله بلاستیک که تعداد درصد بلاست آن بوسیله H1 ۲۳/۶ ٪ گزارش شده است.



شکل ۲: سیتوگرام یا هیستو گرام های تهیه شده بوسیله نرم افزار فلوسیتومتری چند پارامتری را نشان می دهند . ۲ الف: سیتوگرام مربوط به لکوسیت های خون بیمار مبتلا به B-ALL (همان بیمار معرفی شده در جدول شماره ۱) همراه با نمونه ای از گزارش خودکار فلوسیتومتر نشان دهنده ۸۷/۵۲ ٪ بلاست در حالیکه بوسیله H1 ۵/۲ ٪ گزارش گردیده. ۲ ب و ۲ج نشان دهنده تعداد درصد بلاست های موجود در خون همان بیماران AML(M1) و CGL یا CML در مرحله بلاستیک موصوف در جدول شماره ۱ که به ترتیب ۹۶٪ و ۵۴٪ گزارش گردیده است. در این هیستوگرام ها محور X برای عامل شکل و اندازه سلول ها (SSC=RALS) و محور Y برای عامل شدت بروز آنتی ژن CD45 در فلوسیتومتر تنظیم گردیده است. همانطوریکه مشاهده می شود سلول های ناحیه R4 در ۲ الف و پیکان های موجود در سایر سیتوگرام ها بیانگر تجمع سلول های بلاست می باشند. سلول هائیکه بوسیله پیکان اشاره رفته اند در مقایسه با سلول های قسمت بالاتر خود (که لنفوسیت های نرمال باقی مانده اند) از آنتی ژن CD45 کمتری برخوردار هستند.

بحث و نتیجه گیری

مطالعه نمونه های خون و آسپیره مغز استخوان و مشاهده و تشخیص انواع سلولهای خونی از کارهای اصلی و پایه ائی یک هماتولوژیست می باشد. معمولا بیماران هماتولوژیک از طریق پزشکان عمومی و یاسایر متخصصین به مراکز فوق تخصصی خون و انکولوژی معرفی شده و ارجاع داده می شوند. یکی از تست های با ارزش خونشناسی که به وفور از طرف کلیه پزشکان درخواست می گردد آزمایش CBC است. در اغلب موارد تفسیر نتایج حاصل از این آزمایش است که بطور تصادفی این قبیل بیماران شناسائی و جهت تشخیص نهائی و درمان به هماتولوژیست ارجاع داده می شوند. بنابراین شمارش افتراقی لکوسیت در کنار سایر پارامترهای این آزمایش اهمیت بیشتری پیدا کرده و احیانا ممکن است تشخیص را به طرف بدخیمی بکشاند. وجود بلاست در خون یکی از علایم لوسمی است و حضور آن در ابتدا بوسیله انجام آزمایش CBC مشخص می گردد.

عرضه آنتی ژن CD45 (پان لکوسیت آنتی ژن) در سطح گلبولهای سفید رابطه مستقیمی با میزان بالغ شدن سلولها دارد. بعبارت دیگر بلاستها دارای کمترین مقدار از این آنتی ژن بوده و حتی ممکن است فاقد آن باشند. همچنین مقدار این آنتی ژن در بین رده های مختلف سلولهای خون متفاوت می باشد. (۴و ۵) بنابراین با استفاده از این خاصیت و ترکیب کردن آن با پارامتر اندازه سلول ها عملا شمارش افتراقی ایمنولوژیک با دستگاه فلوسیتومتری که سیتوگرام آن بصورت CD45/SSC تنظیم شده باشد میسر می گردد. همانطوریکه در جداول شماره ۱ نشان داده شده مقدار درصد بلاست های شمارش شده بوسیله هر دو دستگاه با هم مقایسه گردیده و مقدار بلاستهای بدست آمده از H1 برای ALL و AML بمراتب کمتر از مقادیر شمارش شده با فلوسیتومتری است. یافته های این مطالعه که برای اولین بار است انجام می شود بیانگر این است که هر چند فن آوری بکار رفته برای H1 آنرا از سایر شمارشگر های هماتولوژیک ممتاز کرده است با این وصف به نظر می رسد علیرغم موجود بودن بلاست در خون ممکن است گزارش فاقد بلاست تهیه شده و با صرف اعتماد به مقادیر WBC و شمارش افتراقی H1 ، شانس شناخته شدن و ارجاع بموقع بیماران مبتلا به لوسمی حاد و مخصوصا بیماران با WBC در طیف نرمال، پائین باشد. بنابراین نتیجه می گیرد که آنالیزسلولها توسط H1 در CLL که معمولا فاقد بلاست هستند قابل اعتماد ولی در مورد لوسمی حاد با اختلاف فاحشی نسبت به فلوسیتومتری بلاستهای کمتری را نشان می دهد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاری آقای دکتر کامران صداقت برای تجزیه و تحلیل آماری داده ها واز همکاران محترم آزمایشگاه مرکز بویژه آقای رسول چاپاری و آقای سید مصطفی حدودی که ما را در تهیه این مقاله یاری نموده اند سپاسگزاری می نماید.

References

1. Bayer-Technicon H1 system operators Guide. *Technicon Instruments Corporation*.1989. Tarrytown, New York, USA.
2. FACSCalibur™ System Users Guide. January, 1996. *Becton Dickinson Immunocytometry Systems*. 2350 Qume Drive, San Jose, CA 95131-1807, USA.
3. CELLQuest™ Software Users Guide, December 1994. *Becton Dickinson Immunocytometry Systems*. 2350 Qume Drive, San Jose, CA 95131-1807, USA.
4. Lavabre-Bertrand T, Duperray C, Brunet c, Pancelet P, Exbrayat C, Bourquard P, et al. Quantification of CD24 and CD45 antigens in parallel allows a precise determination of B-cell maturation stages: relevance for the study of B-cell neoplasias. *Leukemia*, 1994; **8**(3): 402-408.
5. Sun T, Sangaline R, Ryder J, Gibbens K, Rollo C, Stewart S, et al. Gating strategy for immunophenotyping of leukemia and lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 1997; **108**(2): 152-157.
6. Maljaei S H, Asvadi-Kermani I, Eivazi-Ziaei, Nikanfar A, Vaez J. Usefulness of CD45 density in the diagnosis of B-cell chronic lymphoproliferative disorders. *Indian J Ned Sci*, 2005; **59**: 143-150.
7. Shah VO, Civin CI, Loken MR. Flow cytometry analysis of human marrow. IV. Differential quantitative expression of T-200 common leukocyte antigen during normal hemopoiesis. *J Immunol* 1988; **140**: 861-1867.
8. Loken MR, Shah VO, Dattilio KL, Civin CI. Flow cytometric analysis of human bone marrow. II. Normal B lymphocyte development. *Blood* 1987; **70**: 1316-1324.
9. Stelzer GT, Shults KE, Loken MR. CD45 gating for routine flow cytometric analysis of human bone marrow specimens. *Ann NY Acad Sci* 1993; **677**: 265-280.
10. Borowitz MJ, Guenther KL, Shults KE, Stelzer GT. Immunophenotyping of acute leukemia by flow cytometric analysis: use of CD45 and right-angle light scater to gate on blasts in three-color analysis. *Am J Clin Pathol* 1993; **100**: 534-540.