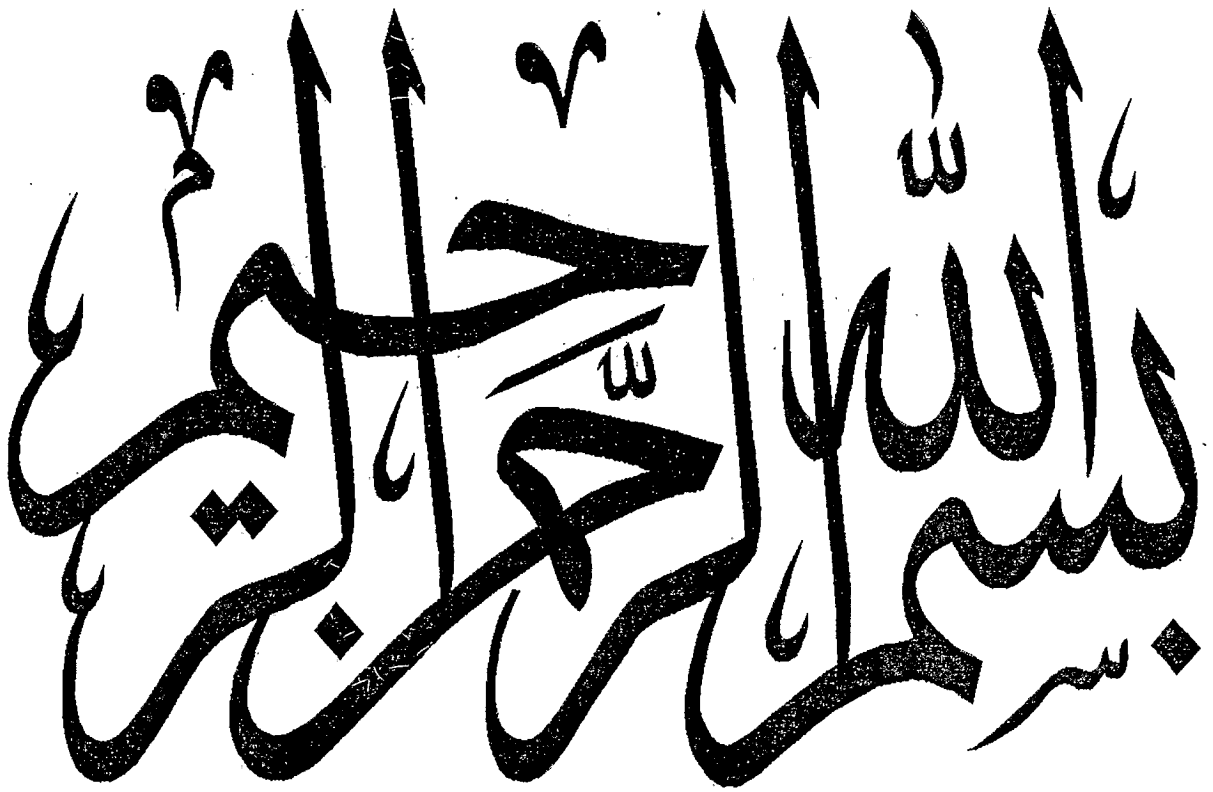
اسکن شد
تاریخ :
اپراتور :

۶۹۲۷



۱۱۴۷۷۲

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

رساله
دوره دکتری ژنتیک پزشکی

عنوان:

مطالعه میزان بیان ZAP-70 با روش Real-Time PCR در زیرگروه های سیتوژنتیکی مبتلا به B-CLL

نگارش:
حسین تیموری

استاد راهنما:
دکتر محمد تقی اکبری

اساتید مشاور:
دکتر عیسی بایبوردی
دکتر مهدی فروزنده مقدم

۱۳۸۸/۴/۱
تهیه مدارک

اسفند ۱۳۸۷

۱۱۴۷۷۲

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

آقای حسین تیموری رشته ژنتیک پزشکی رساله دکتری واحدی خود را با عنوان: " مطالعه میزان بیان ZAP-70 با روش Real time PCR در زیر گروههای سیتوژنتیکی مبتلا به B-Cll

" درتاریخ ۸۷/۱۲/۲۱ ارائه کردند. اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر محمد تقی اکبری	
۲- استاد مشاور	دکتر عیسی بابیوردی	
۳-استاد مشاور	دکتر مهدی فروزنده مقدم	
٤-استاد ناظر	دکتر مهرداد نوروزی نیا	
٥-استاد ناظر	دکتر حسین عبدل تهرانی	
٦-استاد ناظر	دکتر رضا مهدیان	
۷-استاد ناظر	دکتر سیروس زینلی	
۸-نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر حسین مزدارانی	

۱۳۸۸/۴/۱

آئین نامه پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس مبین بخشی از فعالیتهای علمی ـ پژوهشی دانشگاه است .بنابراین به منظورآگاهی و رعایت حقوق دانشگاه ، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود ،مراتب را قبلا به طور کتبی به دفتر " دفتر نشر آثار علمی " دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند :

" کتاب حاضر ، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد / رساله دکتری نگارنده دررشته پزشکی است که در سال ۱۳۸۷ دردانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی دکتر محمدتقی کبیری ، مشاوره دکتر عیسی یاسوری و دکتر مهدی فروزنده مقدم از آن دفاع شده است."

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه ،تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قراردهد .

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳ ، ۵۰ ٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس ،تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداختهای بهای خسارت ،دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه ووصول کند ،به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود ، ازطریق دادگاه ، معادل وجه مذکور در ماده ۴ رااز محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش ،تامین نماید .

ماده ۶: اینجانب حسین سماوری دانشجوی رشته پزشکی مقطع دکتری تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده ، به آن ملتزم می شوم.

نام ونام خانوادگی

تاریخ و امضا

۸۸/۱/۲۲

دستورالعمل حق مالکیت مادي و معنوي در مورد نتایج پژوهشهاي علمي
دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان ، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها/ رساله های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشند.
تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه/ رساله نیز منتشر می شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آئین نامه های مصوب انجام می شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه ای و بین المللی حاصل از نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

۱۳۸۸/۴/ ۹

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸٤/٤/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هر گونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

نام و نام خانوادگی حسین تیموری
تاریخ و امضاء ۸۸/۱/۲۲

تقدیم به:

همسر مهربانم

که ناهمواریها با صبر و ایثار ایشان هموار گردید

اکنون که به شکر خدا این تلاش اندک به بار نشسته است، لازم است از کسانی که در انجام این رساله یاری و همراهیمان نمودند تشکر شود:

از استاد محترم جناب آقای دکتر محمد تقی اکبری که در تنگناهای علمی راهنماییهای ایشان، در مشکلات اجرایی تدابیرشان و در مسائل مالی کمکهای مادی ایشان راه گشای مصائب بود نهایت تشکر و قدردانی را ابراز می نمایم.

از اساتید مشاور جناب آقایان دکتر عیسی بابیوردی، دکتر مهدی فروزنده مقدم، دکتر حسین مزدارانی و دکتر غلامرضا توگه به خاطر مساعدتهایشان قدردانی می گردد.

از زحماتی که جناب آقایان دکتر مهرداد نوروزی نیا و دکتر حسین عبدل تهرانی چه در داوری رساله و چه در کسوت استادی این حقیر، متقبل شدند تشکر می نمایم.

از نصایح و نظرات ارزنده ای که اساتید محترم جناب آقایان دکتر سیروس زینلی و دکتر رضا مهدیان در داوری رساله بذل محبت فرمودند قدردانی و تشکر فراوان دارم.

از همکاران فداکار و مهربان آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران دکتر اکبری که در تمامی مراحل اجرایی این رساله نهایت همکاری را داشتند صمیمانه سپاسگزاری می نمایم.

و در پایان

از کلیه مسولین و کارمندان دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس که طی مدت تحصیل و اجرای این رساله مساعدت و همکاری نمودند تشکر می گردد.

چکیده

لوسمی لمفوسیتی مزمن (CLL) شایعترین نوع لوسمی در جوامع غربی می‌باشد. یافتن عوامل پیش‌آگهی در مبتلایان به CLL یکی از مهمترین اولویتهای بالینی در مواجهه با این بیماری است. در حال حاضر بررسی اختلالات کروموزومی و بیان ژن *ZAP70* از مهمترین موضوعات مورد مطالعه در CLL می باشد. حذف در ۱۳q ، ۱۱q ، ۱۷p و تریزومی ۱۲ فراوانترین اختلالات کروموزومی گزارش شده در CLL هستند که به جز حذف در ۱۳q که پیش آگهی خوب برای CLL می باشد، بقیه به عنوان عوامل پیش‌آگهی بد شناخته می‌شوند. در برخی مطالعات افزایش بیان *ZAP70* نیز به عنوان یک عامل پیش‌آگهی بد در این بیماری مطرح می‌باشد. این مطالعه به منظور بررسی میزان بیان *ZAP70* در بیماران B-CLL که اختلالات کروموزومی شایع فوق را نشان می‌دهند، طراحی و اجرا گردیده است.

اطلاعات بالینی ۶۵ بیمارB-CLL از پرونده بیمارستانی و مشاوره با بیماران جمع‌آوری گردید. نمونه خون یا مغزاستخوان بیماران برای آزمایشات سیتوژنتیکی و نمونه خون آنها برای آزمایشات مولکولی تهیه شد. سیتوژنتیک معمولی و اینترفاز FISH با سه پروب *RB1* ، *ATM* و سانترومریک کروموزوم ۱۲ برای هر بیمار انجام گرفت. بیان *ZAP70* با روش Real-Time RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت.

با روش سیتوژنتیک معمولی در ۲۸٪ و FISH اینترفازی در ۷۵/۳٪ از بیماران، اختلال کروموزومی تشخیص داده شد. این اختلالات شامل ۲۱ بیمار با حذف در ۱۳q ، سیزده بیمار با حذف در ۱۱q و پانزده بیمار با تریزومی ۱۲ بودند. دو روش سیتوژنتیکی ذکر شده، در شانزده بیمار اختلال کروموزومی شناسایی نکردند. میزان بیان *ZAP70* در ۶۵ بیمار مورد مطالعه و ۱۵ فرد کنترل تعیین گردید و با کمک تست آماری ANOVA بیان آن در سه زیرگروه با اختلالات کروموزومی فوق و گروه بدون تشخیص با گروه کنترل مقایسه شد.

نتایج آنالیز آماری نشان داد زیرگروه سیتوژنتیکی دارای حذف *RB1* با حالت خفیف بیماری و زیرگروه دارای حذف *ATM* با حالت بدخیم بیماری ارتباط دارد و بیماران با تریزومی ۱۲ یک حالت بینابین نشان می‌دهند. بررسی بیان *ZAP70* در زیرگروههای سیتوژنتیکی نشان داد که بیان *ZAP70* در زیرگروه سیتوژنتیکی دارای حذف *RB1* و بیمارانی که اختلالی در آنها شناسایی نشده بود مشابه گروه کنترل بوده، ولی بیان *ZAP70* در زیرگروه دارای تریزومی دوازده ۲/۹۵ برابر و در زیرگروه دارای حذف *ATM* ۲/۷۸ برابر گروه کنترل افزایش می یابد. بنابراین بیان *ZAP70* با زیرگروههای سیتوژنتیکی ارتباط معنی داری داشته، برای پیش آگهی بیماران B-CLL پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: اختلالات کروموزومی، لوسمی لمفوسیتی مزمن، *ZAP70* ، FISH

فهرست مطالب:

فصل اول

مقدمه ۱

۱-۱. لوسمی ۲

۱-۱-۱. طبقه بندی لوسمی ۳

۱-۲. لوسمی لمفوسیتی مزمن ۳

۱-۲-۱. انواع لوسمی لمفوسیتی مزمن ٤

۱-۲-۲. تشخیص بیماری ٦

۱-۲-۳. سیستم مرحله‌بندی Rai و Binet ۷

۱-۲-۴. علت شناسی ۸

۱-۳. پیش‌آگهی Prognosis ۹

۱-۴. ناهنجاری‌های کروموزومی ۱۰

۱-۴-۱. سیتوژنتیک معمولی ۱۰

۱-۴-۲. سیتوژنتیک مولکولی ۱۱

۱-۴-۲-۱. تکنیک FISH ۱۲

۱-۵. بررسی مولکولی B-CLL ۱۴

۱-۶. Real-Time PCR ۱۵

۱-۶-۱. تاریخچه و معرفی Real-Time PCR ۱۵

۱-۶-۲. اساس تکنیک Real-Time ۱٦

۱-۶-۳. کمی کردن واکنش Real-Time ۲۰

۱-۶-۳-۱. تعیین Threshold و C_t ۲۰

۱-۶-۳-۲. روش استفاده از SYBR Green I ۲۱

۱-۶-۳-۳. بررسی منحنی ذوب ۲۳

۱-۶-۳-۴. نرمالیزه کردن Normalization ۲۴
۱-۶-۳-۵. رسم منحنی استاندارد ۲۵

فصل دوم

مروری بر منابع ۲۷
۲-۱. عوامل پیش‌آگهی در B-CLL ۲۸
۲-۲. ناهنجاریهای کروموزومی و B-CLL ۳۱
۲-۲-۱. مروری بر مطالعات سیتوژنتیکی B-CLL ۳۱
۲-۲-۲. حذف در بازوی بلند کروموزوم ۱۳ ..... ۳٤
۲-۲-۳. تریزومی کروموزوم ۱۲ ..... ۳۵
۲-۲-۴. حذف در بازوی بلند کروموزوم ۱۱ ..... ۳٦
۲-۲-۵. اختلال کروموزوم ۱۷ ..... ۳٦
۲-۲-۶. سایر اختلالات کروموزومی ۳۷
۲-۳. مطالعات مولکولی در B-CLL ۳۸
۲-۳-۱. بررسی وضعیت جهش در IgVH ۳۸
۲-۳-۲. پروتئین کیناز وابسته به زنجیره زتا (Zeta-chain Associated Protein Kinase) ٤۰
۲-۳-۲-۱. اطلاعات ژنتیکی و ساختمان *ZAP70* ۴۰
۲-۳-۲-۲. نقش بیولوژیک *ZAP70* ۴۱

فصل سوم

مواد و روشها ۴۵
۳-۱. روش انجام تحقیق ۴۶
۳-۲. نمونه گیری ۴۸
۳-۲-۱. نمونه گیری از بیماران ٤۸
۳-۲-۲. نمونه‌گیری از گروه کنترل ٤۸

۳-۲-۳. نمونه گیری از کالیبراتور Calibrator ٤٩
۳-۳. روشهای آزمایشگاهی استفاده شده ۴۹
۳-۴. سیتوژنتیک معمولی ۴۹
۳-۴-۱. کشت سلول ٤٩
۳-۴-۲. برداشت سلولها ٥١
۳-۴-۳. رنگ‌آمیزی کروموزومها ٥٢
۳-۴-۴. آنالیز کروموزومی ٥٢
۳-۵. سیتوژنتیک مولکولی ٥٣
۳-۵-۱. اینترفاز FISH ٥٣
۳-۵-۲. نحوه تجزیه و تحلیل لام FISH ٥٥
۳-۵-۳. تعیین Cut-Off ٥٦
۳-۶. روشهای مولکولی ۵۶
۳-۶-۱. استخراج RNA از نمونه خون ٥٦
۳-۶-۲. جداسازی سلولهای تک هسته به روش فایکول ٥٨
۳-۶-۳. تعیین کیفیت و غلظت RNA استخراج شده ٦٠
۳-۶- ۴. واکنش RT-PCR یا ساخت cDNA ٦٠
۳-۶-۵. الکتروفورز ژل آگارز ٦٣
۳-۶-۶. طراحی پرایمر ٦٦
۳-۷. انجام Real-Time PCR ۶۷
۳-۷-۱. آماده سازی کیت ٦٧
۳-۷-۲. نحوه تجزیه و تحلیل داده‌های دستگاه Real-Time ٦٩
۳-۸. تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات ۷۱

فصل چهارم

بررسی نتایج ۷۳

۴ ـ۱. نتایج بررسی بیماران ۷۴

۴ـ۲. نتایج آنالیز کروموزومی بیماران ۷۷

۴ـ۳. نتایج مطالعات اینترفاز FISH ۸۰

۴-۳-۱. نتایج آنالیز FISH ۸۰

۴-۳-۲. نتایج تعیین Cut-off ۸۳

۴ـ۴. نتیجه نهایی بررسی‌های سیتوژنتیکی ۸۳

۴ـ۵. نتایج بررسیهای مولکولی ۸۴

۴ ـ ۵ ـ۱. یافتن شرایط بهینه برای پرایمرها ۸۵

۴ ـ ۵ ـ ۲. رسم منحنی استاندارد ۸۶

۴ ـ ۵ ـ۳. بررسی بیان ژن *ZAP70* ۸۸

۴-۶. نتایج تجزیه و تحلیل آماری ۹۳

فصل پنجم

۵-۱. بررسی شاخصهای بالینی بیماران ۹۸

۵-۲. بحث و نتیجه گیری از مطالعات سیتوژنتیکی ۱۰۰

۵-۳. بررسی نتایج آزمایشات مولکولی و آنالیز آماری ۱۰۳

۵-۴. نتیجه گیری نهایی ۱۱۰

۵-۵. پیشنهادات: ۱۱۱

فهرست منابع و ماخذ ۱۱۲

فهرست جداول

جدول ۱-۱. پارامترهای سیستم مرحله‌بندی Rai برای لوسمی لمفوسیتی مزمن. ۷

جدول ۱-۲. پارامترهای سیستم مرحله‌بندی Binet برای لوسمی لمفوسیتی مزمن. ۸

جدول ۳-۱. پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر دو ژن *ZAP70* و *GUSB*. ٦٦

جدول ۴-۱. مشخصات بالینی و آزمایشگاهی بیماران B-CLL. ٧٤

جدول ۴-۲. میانگین و دامنه CD مارکرها در همه بیماران و زیرگروههای سیتوژنتیکی..... ٧٦

جدول ۴-۳. میانگین و دامنه شاخصهای خون شناسی در بیماران. ٧٦

جدول ۴-۴. اعداد مربوط به تعیین Cut-off. ٨٣

جدول ۴-۵. نتیجه نهایی واکنش Real-Time PCR. ٩٣

جدول ۴-۶. Mean Rank محاسبه شده برای نشان دادن توزیع مراحل Rai درزیرگروههای سیتوژنتیکی با استفاده از آزمون آماری Kruskal-Wallis. ٩٤

جدول۴-۷. نتیجه آنالیر آماری ارتباط مراحل Rai با زیرگروههای سیتوژنتیکی. ٩٤

جدول۴-۸. نتیجه نهایی آنالیز ارتباط بین بیان *ZAP70* در زیرگروههای سیتوژنتیکی با آزمون آماری ANOVA. ٩٥

جدول ۵-۱. مقایسه نتایج FISH اینترفازی در این تحقیق با مطالعات دیگر گروههای تحقیقاتی . ١٠٢

فهرست تصاویر

شکل ۱-۱. مراحل تمایز مرفولوژیکی و فنوتیپی سلولهای B و T از سلول پیش ساز لمفوئیدی. ۵

شکل ۱-۲. منحنی معادله (۱-۱) و پیشرفت واقعی واکنش PCR..... ۱۷

شکل ۱-۳. مراحل مختلف نمودار خام یک واکنش PCR. ۱۸

شکل ۱-۴. مقایسه منحنی‌های پیشرفت پنج واکنش مشابه در یک واکنش Real-Time ۱۹

شکل ۱-۵. ساز و کار عمل SYBR Green I ۲۲

شکل ۱-۶. منحنی ذوب یک واکنش Real-Time PCR ۲۴

شکل ۱-۷. منحنی استاندارد رسم شده توسط دستگاه Real-Time..... ۲۶

شکل ۲-۱. ساختمان *ZAP70* و ایزوفرمهای آن. ۴۱

شکل ۲-۲. مسیرهای انتقال پیام از گیرنده سلول B و T به داخل هسته. ۴۳

شکل ۳-۱. شمایی از نحوهٔ اجرای تحقیق. ۴۷

شکل ۴-۱. کاریوتایپ یک بیمار B-CLL با حذف در بازوی بلند کروموزوم۱۱. ..... ۷۸

شکل ۴-۲. کاریوتایپ یک بیمار B-CLL با حذف در بازوی بلند کروموزوم ۱۳. ..... ۷۸

شکل ۴-۳. کاریوتایپ یک بیمار B-CLL با تریزومی کروموزوم ۱۲..... ۷۹

شکل ۴-۴. یک کاریوتایپ پیچیده. ۷۹

شکل ۴-۵. ناهنجاری کروموزومی حذف در بازوی بلند کروموزوم ۱۳ تشخیص داده شده با روش FISH اینترفازی با استفاده از پروبهای دو رنگی Dual-Color..... ۸۱

شکل ۴-۶. ناهنجاری کروموزومی تریزومی ۱۲ تشخیص داده شده با روش FISH اینترفازی با استفاده از پروبهای سانترومریک. ۸۱

شکل۴-۷. یک گستره متافازی که حذف در 13q14 را نشان می دهد. ۸۲

شکل ۴-۸. یک گستره کروموزومی با اختلال تریزومی ۱۲. ..... ۸۲

شکل ۴-۹. تصویری از یک ژل پلی اکریل آمید. ۸۵

شکل ۴-۱۰. تصاویر مربوط به رسم منحنی استاندارد برای ژن *ZAP70*..... ۸۶

شکل ۴-۱۱. تصاویر مربوط به رسم منحنی استاندارد برای ژن *GUSB*. ۸۷

شکل ۴-۱۲. نتیجه حاصل از الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز..... ۸۸

شکل ۴-۱۳. نمایی از نتایج واکنش Real-Time PCR ژن *ZAP70*. ۸۹

شکل ۴-۱۴. نتایج مربوط به منحنی ذوب ژن *ZAP70* در شش بیمار اول تحقیق..... ۹۰

شکل ۴-۱۵. نمایی از نتایج واکنش Real-Time PCR ژن *GUSB*. ۹۱

شکل ۴-۱۶. نتایج مربوط به منحنی ذوب ژن *GUSB* در شش بیمار اول تحقیق..... ۹۲

فصل اول:

مقدمه

هدف از نگارش این فصل معرفی برخی اصطلاحات، آشنایی با بیماری لوسمی لمفوسیتی مزمن و شرح اصول برخی روشهای آزمایشگاهی استفاده شده در این تحقیق می‌باشد که در زیر به ترتیب شرح یکایک آنها آورده می‌شود.

۱-۱. لوسمی

لوسمی یا لوکمی سرطانی شدن سلولهای پایه خونساز (هماتوپویتیک) می‌باشد. سرطانی شدن یک فرآیند چند مرحله‌ای است که در اثر جهش‌های متعدد در سه دسته اصلی ژنهای درگیر در سرطان یعنی پروتوانکوژنها ، ژنهای سرکوبگر تومور و ژنهای مسول مرمت DNA اتفاق می افتد. جهش‌های متعدد، به یک سلول طبیعی ویژگیهای جدیدی می‌دهد که آن را به سوی بدخیمی هدایت می‌کند. این ویژگیها شامل نامیر شدن، تکثیر غیر قابل کنترل و تهاجم به دیگر بافتها (متاستاز) می‌باشد.

مغز استخوان جایگاه سلولهای پایه خونساز بدن می‌باشد. سلولهای خون شامل گلبولهای قرمز، گلبولهای سفید و پلاکتها در اثر تقسیم و تمایز این سلولهای پایه در مغز استخوان تولید شده، وارد خون می شوند. از این رو اگر در اثر جهش های جدید، سلولهای پایه خونساز در مغز استخوان ویژگیهای سلول سرطانی را کسب کند لوسمی حادث می‌شود.

لغت لوسمی در زبان لاتین به معنی خون سفید است که در فارسی به آن سرطان خون گفته می‌شود. تجمع زیاد سلولهای سرطانی منشاء گرفته از سیستم خونساز در خون بیماران بدخیم، باعث سفید رنگ شدن خون می‌گردد، این خصوصیت بالینی علت انتخاب واژه لوسمی برای این عارضه می‌باشد.

سلولهای سرطانی یا لوسمیک به دو طریق باعث بر هم خوردن هموستازی بدن و بروز بیماری می‌شوند. آنها از یک سو باعث اختلال در عملکرد صحیح خون می‌شوند که در واقع رساندن مواد غذایی و اکسیژن و انتقال مواد زاید از سلولها و مهمتر از همه سیستم دفاعی بدن در برابر عوامل پاتوژن را با مشکل روبرو می‌کنند و از سوی دیگر سلولهای سرطانی از طریق خون و لنف به سراسر بدن منتقل شده، با مهاجرت و تکثیر خود در اندامهای حیاتی بدن مانند مغز، طحال، کبد، و غدد لنفاوی موجب

تشکیل توده‌هایی در آنها می شوند که عملکرد اندامهای حیاتی را دچار اختلال می کند. از این رو حیات بیمار با تهدیدات متعددی روبرو می‌شود [۱].

۱-۱-۱. طبقه بندی لوسمی

لوسمی را بر اساس شدت و سرعت پیشرفت بیماری به دو دسته لوسمی حاد و لوسمی مزمن تقسیم‌بندی می‌کنند. بدخیمی‌هایی که در اثر سرطانی شدن اشکال اولیه سلولهای پایه یا به عبارت دیگر سلولهای نابالغ به وجود آمده، بیماری روند سریعی داشته، اگر درمان نشوند ظرف مدت چند هفته تا چند ماه منجر به مرگ می‌شوند را نوع حاد (Acute) می‌گویند. آن دسته از بدخیمی‌های دستگاه خونساز که در اثر سرطانی شدن اشکال بالغ‌تر سلولها به وجود می‌آیند و پیشرفت بیماری آرام و کند بوده، از تشخیص بیماری تا مرگ چندین ماه تا چندین سال طول می‌کشد را لوسمی مزمن (Chronic) می‌گویند.

لوسمی را بر اساس منشاء سلول سرطانی نیز طبقه بندی می‌کنند. با توجه به اینکه از نظر بافت شناسی، سلولهای خونی از دو پیش ساز لمفوئیدی و میلوئیدی منشاء می‌گیرند، منشاء سلول سرطانی می تواند یکی از این دو پیش ساز باشد. بر این اساس لوسمی را به دو دسته لمفوئیدی و میلوئیدی نیز طبقه‌بندی می‌کنند.در منابع و متون علمی از تلفیق دو طبقه‌بندی فوق برای لوسمی استفاده می‌شود. به این ترتیب لوسمی در چهار گروه، لوسمی میلوسیتیک حاد (AML)، لوسمی لمفوسیتیک حاد (ALL)، لوسمی میلوسیتیک مزمن CML و لوسمی لمفوسیتیک مزمن CLL دسته بندی می‌شود [۲]. این تحقیق به بررسی لوسمی نوع CLL می پردازد که در ادامه به شرح و توصیف آن پرداخته خواهد شد.

۱-۲. لوسمی لمفوسیتی مزمن

بیماری لوسمی لمفوسیتی مزمن (CLL) یک نئوپلازی هماتولوژیک است که در آن لمفوسیت‌های ظاهرا بالغ در خون تکثیر و تجمع پیدا می‌کنند. این بیماری شایعترین نوع لوسمی در جوامع غربی بوده، ۹ درصد از کل موارد سرطان و بیش از ۳۰ درصد همه لوسمی‌ها را به خود اختصاص می‌دهد [۳]. بروز آن به ترکیب سنی جامعه بستگی دارد؛ در جوامع جوان بروز کمتری دارد و بر عکس در جامعه های پیر، بیماری بروز بالاتری نشان می‌دهد. به عنوان مثال بروز موارد جدید بیماری در آمریکا ۳/۵ در هر ۱۰۰/۰۰۰ نفر در سال می باشد ولی در انگستان ۶/۷ در ۱۰۰/۰۰۰ نفر است. سن

متوسط بروز بیماری ۶۰ سال است و مردان دو تا سه برابر بیشتر از زنان به بیماری مبتلا می‌شوند. خطر بروز بیماری با افزایش سن نیز افزایش می‌یابد به طوری که برای طیف سنی ۵۵ تا ۵۹ سال میزان بروز ۳ در ۱۰۰/۰۰۰ نفر است در حالی که برای طیف سنی ۸۰ تا ۸۴ سال ۳۰/۴ در ۱۰۰/۰۰۰ می‌باشد و تنها ۱۰ درصد موارد بیماری مربوط به افراد کمتر از ۵۰ سال می باشد. از این رو در منابع پزشکی از CLL به عنوان لوسمی بزرگسالان نام برده می شود [۴].

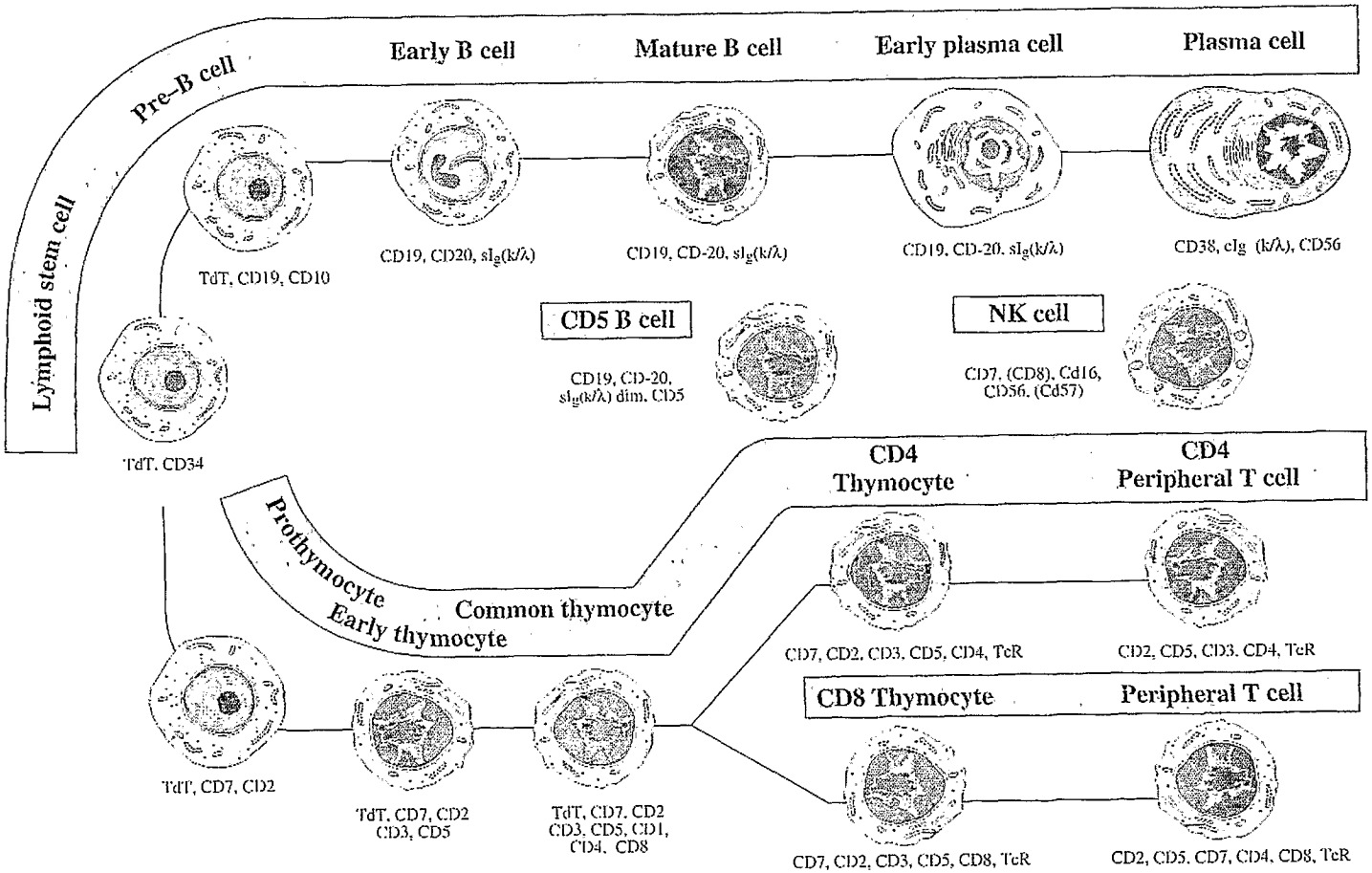
۱-۲-۱. انواع لوسمی لمفوسیتی مزمن

بر این اساس که سه دسته سلولهای خونی یعنی Natural Killer Cells (NK Cells)، لمفوسیتهای T (T- Cells) لمفوسیتهای B (B-Cells) از سلول پیش ساز لمفوئیدی مشتق می‌شوند، CLL را به سه دسته تقسیم بندی می‌کنند [۵]. برای اطلاعات بیشتر از روند تکوین و تمایز سلولها لمفوئیدی به شکل ۱-۱ مراجعه کنید.

بدخیمی سلولها NK را اصطلاحاً NK-Cell Malignancy می‌گویند که بسیار نادر بروز پیدا می‌کند. بدخیمی لمفوسیتهای T را لوسمی لمفوسیتی مزمن سلولهای T یا به اختصار T-CLL خطاب می‌کنند که این نیز موارد کمی از CLL (کمتر از ۵ درصد از کل موارد) را شامل می‌شود. بدخیمی لمفوسیتهای B که با عبارت Chronic B-Cell Leukemia نشان داده می‌شود، بیش از ۹۰ درصد موارد CLL را شامل می‌شوند.

بدخیمی لمفوسیتهای B خود به چهار گروه اصلی شامل B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia (B-CLL) با فراوانی ۸۵-۹۰ درصد، B-Cell Prolymphocytic Leukemia (B-PLL) با فراوانی کمتر از ۵ درصد، Hairy Cell Leukemia (HCL) با فراوانی ۵-۱۰درصد و Hairy Cell Variant Leukemia (HCLv) با بروز بسیار نادر تقسیم بندی می‌شود [۶].

از آنجایی که بخش عمده‌ای از بیماران CLL را مبتلایان نوع B-CLL تشکیل می‌دهد و گروه‌های دیگر فراوانی کمی داشته، دسترسی به تعدادی از آنها که از نظر آماری قابل تجزیه وتحلیل باشند با مشکلات متعدد همراه است ؛ بیشتر تحقیقات علمی روی B-CLL صورت گرفته است. با توجه به اهمیتی بالای بالینی که CLL در بین انواع دیگر لوسمی دارد و همچنین ارزش تحقیقاتی B-CLL در سطح جهانی، بررسی بیماران B-CLL موضوع این تحقیق واقع گردید. با این مقدمه، در ادامه به بررسی B-CLL پرداخته می‌شود.



شکل ۱-۱. مراحل تمایز مرفولوژیکی و فنوتیپی سلولهای B و T از سلول پیش ساز لمفوئیدی [۵].