تعبير مستقبلات عامل النمو الظهاري والتحولي البشري في خلايا نقي العظم الطبيعية وخلايا ابيضاض الدم (ابيضاض الدم النقوي واللمفاوي)

علي حسن* نجدة نعمة*

الملخص

تظهر الأورام الخبيثة كالأورام الظهارية الغدية في الرأس والعنق وعنق الرحم والثدي والتي تترافق غالباً بإنذار ضعيف ومعدل عالٍ بالوفيات، تعبيراً مفرطاً لمستقبل عامل النمو الظهاري والتحولي EGFR.

الهدف من هذا البحث هو دراسة تعبير مستقبل عامل النمو الظهاري والتحولي في خلايا نقي العظم الطبيعي وفي حالة ابيضاض الدم النقوي واللمفاوي (الحاد والمزمن) لدعم البحث في وظيفة مستقبلات عامل النمو الظهاري والتحولي في نمو خلايا نقي العظم وتطورها والتعبير الخبيث لهذه المستقبلات الذي يجعلها مرشحة كي تكون هدفاً علاجياً كامناً في أمراض الدم الخبيثة.

حددتِ الخلايا الحاملة لمستقبل عامل النمو الظهاري والتحولي بطريقة الكيمياء الخلوية المناعية وذلك باستخدام أضداد وحيدة النسيلة موجهة إلى الجزء الهيولي والغشائي من مستقبلات الـEGFR.

* قسم النسج والجنين والتشريح- كلية الطب البشري - جامعة دمشق.

* قسم النسج والجنين والتشريح- كلية الطب البشري - جامعة دمشق.

لاحظنا حديثاً أن الخلايا الطبيعية المولدة للدم وخلايا ابيضاض الدم النقوي تظهر مستقبلات الـEGFR في مستوى الغشاء الهيولي وهيولى الخلايا التي تمثل المراحل المبكـرة مـن تطور خلايا الدم خصوصاً: أرومة الكرية الحمراء والمصورة النقوية المعتدلـة والحامـضة وخلايا شريطة النواة وخليفة المعتدلة والحامضة وفي مستوى الغشاء النووي للخلايا التـي تمثل مراحل متقدمة من التطور خصوصاً مفصصات النوى وطليعة وحيدة النـواة النقويـة والمصورة اللمفاوية، دون وجود لهذه المستقبلات في خلايا الدم الناضجة.

شوهدت في ابيضاض الدم اللمفاوي(الحاد والمزمن) مستقبلات عامل النمو في مـستوى الغشاء النووي للخلية المصورة اللمفاوية الكبيرة L2 وفي مستوى الغشاء الهيولي لطليعة الخلية اللمفاوية " الناضجة ".

تظهر نتائجنا تعبير الـEGFR في الخلايا المولدة للدم كما تشير إلى إمكانية استخدام هذه المستقبلات كعنصر كاشف في ابيضاض الدم، كما يمكن ترشـيح أضـداد وحيـدة النـسيلة ضدالـEGFR لكشف الخباثة في نقي العظم ومعالجتها كالأورام النقوية واللمفاوية التـي تعبر هذه المستقبلات.

Expression of Human Epidermal and Transforming Growth Factor Receptors in Normal Bone Marrow Cells and Leukemic Cells (Myeloid Leukemia and Lymphatic Leukemia)

Ali Hassan* **Najdat Neameh***

Abstract

The overexpression of the human epidermal growth factor receptor (EGFR) has been demonstrated in many malignancies like Squamous cell carcinoma of the head, neck, cervix, breast, etc, which is often associated with poor prognosis and high mortality.

The goal of this research is to study the expression of epidermal and transforming growth factor receptor in normal human bone marrow (BM) cell, and in leukemia (myeloid and lymphatic leukemia) which promoted the research for the function of EGFR receptors in the development and growth of BM cells and for malignancies expressing of the EGFR as potential therapeutic targets in blood cell malignant diseases. EGFR carrying cells were detected by immunohistochemistry by using a monoclonal antibody directed to the membrane and cytoplasmic part of the EGFR.

* Department of Histology, Embryology and Anatomy, Faculty of Medicine Damascus University.

* Department of Histology, Embryology and Anatomy, Faculty of Medicine Damascus University.

We have recently noticed that normal human hematopoietic cells and myeloid leukemic cells have EGFR on cytoplasmic membrane level and cytoplasm of cells that constituted the early stages of the BM cells development especially erythroblast, (neutrophilic and esoinophilic myelocytes), band cell and metamyelocytes, and at the level of nucleated membrane of cells which represent the late stages of BM cells development like: normoblast, promyelomonocyte, neutrophil and lymphoblast, this has not generally been recognized on mature cells of BM.

In lymphatic leukemia (both chronic and acute) the EGFR has been demonstrated on nucleate membrane level of large lymphoblast (L2) and cytoplasmic membrane of lymphocyte " mature".

The results demonstrate expression of EGFR in a human hematopoietic cell and indicate that EGFR can be used as a marker agent in human leukemia, and suggest a monoclonal antibody anti-EGFR as candidate for therapy and diagnosis of malignancies of BM like myeloma and lymphoma cells which express EGFR .

مقدمة Introduction

تركز البحث في العقدين الماضيين على مستقبلات عوامل النمو وتبين أنها تنظم العديد من الوظائف الخلوية المهمة من ألتكاثر والنمو إلى الموت (41) كما تؤدي دوراً مهماً في العديد من أمراض الخباثة البشرية Human malignancies Pathogenesis ومن أهمها مستقبل عامل النمو الظهاري Epidermal growth factor receptor (EGFR) (28,20,12) الذي يمثل مستقبلاً مشتركاً لكل من عامل النمو الظهاري Epidermal growth factor (EGF) وعامل النمو التحولي ألفا Transforming growth factor alpha (TGF-α) (25)، هو بروتين سكري ذو وزن جزئي 170000دالتون يتوضع في الغشاء الهيولي حيث يشكل مجالاً للرابط الكيميائي EGF و TGF-α خارج الخلايا Extracellular ligand-binding domain، تتألف جزيئته الكيميائية من قطعة محبة للدسم تدخل ضمن الغشاء الخلوي ومجال أنزيمي ذي طبيعة بروتينية يتوضع داخل الخلية ويمتلك قطعة انتهائية كربوكسيلية COOH منظمة، يتفعل هذا المستقبل عندما يرتبط الرابط Ligand الكيميائي EGF أو TGF-α أو Amphiregulin إلى مجال ربط خارج خلوي يتولد نتيجة ذلك معقد يعمل على تفعيل أنزيم التيروزين الداخلي (ذو طبيعة بروتينية) وعلى الفسفرة الذاتية Autophosphorylate النوعية للتيروزين أيضاً (34,21,29,14) التي تؤدي إلى بدء شلال الفسفرة Phosphorylation cascade للرسل داخل خلوية تشكل استجابات كيميائية حيوية ووظيفية Physiological and Biochemical responses تشارك بدورها في نقل الإشارات المولدة أو المحرضة للانقسام Mitogenic signal transduction داخل الخلايا الطبيعية كما في الخلايا الخبيثة (40,35,32,4) كما يحرض على تكون الأوعية Angiogenesis والانتقال Metastasis وتناقص الموت الخلوي المبرمج Apoptosis (6). إن وجود مستوى عالٍ من هذه المستقبلات ورابطها الكيميائي

يقود إلى طابع ظاهري خلـوي محـول Transformed cellular phenotype كما يوجد ترابط بين التعبيـر المفـرط لـ EGFR والمردود الطبي في العديد من الأورام الخبيثة (35)، ولهذا السبب فإن العديد مـن الدراسـات جعلـت مـن الـ EGRR هـدفاً لعـلاج الـسرطان Cancer therapy ولا سيما وأن الاعتماد الحديث على عوامل صيدلانية موجهـة كالأضـداد وحيـدة النـسيلة المـضادة للـ EGFR والمضادة لأنزيم التيـروزين أظهرت فعالية طبية ضد الأورام الخبيثة التي تعبر الـ EGFR والتي تبدي مقاومة للعلاج الشعاعي والكيميـائي التقليـدي Conventional chemotherapy and radiotherapy (41,24,23,18,15,5) لأن هذه الأضداد تثبط عمل مـستقبل عامـل النمو الظهاري وتثير المـوت الخلـوي المبرمج (46,22).

أشارت دراسات عدة إلى وجـود الـ EGFR فـي مـستوى خلايـا طبيعيةNormal cells وخلايـا ورميـة Neoplastic متنوعة كما تم تحديدها في أنسجة طبيعية وأخرى ورمية متنوعـة، ويوجد ميل شديد للقـول بفـرط تعبيـر Overexpression هذه المستقبلات فـي العديد من الأورام الصلبة Solid tumors التي تترافق باستجابة ضـعيفة للعـلاج وقدرة ضعيفة على البقاء كما هو الحـال فـي الأورام الغديـة Carcinoma فـي الرأس والعنق وعنق الرحم والثدي وفي حالات أورام وفرط التصنع في أعـضاء الجهاز اللمفاوي (عقـد لمفاويـة و طحال) (2، 27).

لم تثبت الدراسات الماضية وجود هـذه المستقبلات في الخلايـا المولـدة للـدم الإنسانية Human hematopoietic cells (11,9) لكن أكدت دراسات حديثة وجود مستقبلات عامل النمو الظهاري الوظيفي في مستوى الطلائع الطبيعيـة للكريـات الحمـراء فـي الـدجاج Normal erythrocyte precursor وتبين أن هـذه المستقبلات تشارك فـي ضـبط تكـاثر الخلايـا Multiplication وتمايزهـا Differentiation (45,30,17)، ولـوحظ من التجارب التي تمت على نقي العظـم البـشري Bone marrow(BM) فـي

أوساط الزرع أن هناك تأثيراً غير مباشر للـTGFα في الخلايا المولدة لخلايا الدم Hematopoietic progenitor cells يتم من خلال إشارة يتوسطها مستقبل الـ EGF المحمول على الخلايا المتوسطية Mesenchymal cells (9). أكد استخدام تقانة الكيمياء النسيجية المناعية Immunohistochemistry أن أكثر من 3% من مجموع خلايا النقي تكون موجبة التفاعل المناعي بخصوص الـEGFR وأن هذا التفاعل يكون ضعيفاً في مصورات الكريات الحمراء الناضجة كما أنه يكون معدوماً أو سالباً في الدم المحيطي لكنها توجد في مستوى الخلايا شبيهة المصورة Blastlike غير الناضجة التي تشكل مصدراً لخلايا النقي وحيدة النواة Myelomonocytic origin؛ وهذا ما دعا إلى الاستنتاج أن الـTGF-α الذي يتوضع على أغشية الخلايا المصورة للكريات الحمراء ربما يؤثر بشكل مباشر في خلايا Myelomonocytic الحاملة لمستقبلات عامل النمو الظهاري والتحولي (39,7)

وقد دعِمتْ هذه الفرضية بتطبيق تقانة نقل مورثة الـTGF- α إلى خلايا (Transfection Technology) وبموجب هذه التقانة تصبح الخلايا منتجة ومفرزة لعامل النمو التحولي ثم زرعت بمرافقة خلايا أخرى تحمل مستقبلات عامل النمو(3، 8) أدى ذلك إلى نمو الخلايا وتمايزها ومرد ذلك يعود إلى تنشيط مستقبلات عامل النمو الذي يؤدي إلى تحرير سايتوكينات Cytokines متنوعة تؤثر في الخلايا علماً أن تقديم الخلايا المصورة للكريات الحمراء للـ TGF-α يعتمد على خلايا الهدف Target cells القريبة جداً منها(10,7) وفقاً لآلية الإفراز الذاتي Autocrine والإفراز المجاور Paracrine.

توجد تجمعات من أنزيمات تيروزين الفوسفات Tyrosine phosphatse ذات طبيعة بروتينات سكرية عبر الغشاء الهيـــــــــــولي Glycoprotein Transmembrane في معظم الخلايا المولدة للدم Hemopoietic cells وتُنَشطُ هذه الأنزيمات من خلال مستقبلات من

بينها مستقبلات عوامل النمـو المتباينـة (38) ثم جاء التأكيد على تعبير مستقبلات عامل النمو الظهاري الوظيفي في الخلايا المولدة للـدم البـشري وإلـى أن هـذه المستقبلات تتوسـط اسـتجابات النمـو والتفاعلات الكيميائية الحيوية المبكرة في هذه الخلايا ومن الممكن اسـتخدام هـذه المستقبلات كنموذج فاعل فـي الخلايـا المولدة للدم دون الإشـارة إلـى مكـان وجودها باستثناء تلميحات صغيرة نحـو مصورات الكريات الحمراء (29).

يثير الـ EGF تكـون الهيموغلـوبين Hemoglobinization بتوسط مستقبلات عامل النمو في المراحل المتـأخرة مـن تمايز الخلايا المصورة للكريات الحمـر (11) وفي إشارة أخرى إلى أهمية هـذه المستقبلات في النمو والتمـايز أوضـح (13) أن الـ EGFR تؤدي دوراً حيوياً في المراحـل المبكـرة لتطـور خلايـا التيمـوس Thymocyte development والخلايا T وأن ارتباط ألـ EGF بها يثير فعاليـة التحفيـز Catalytic activity لأنزيم تيروزين كينـاز الهيـولي الـذي تؤدي دوراً مهماً في الفعاليـة الحيويـة للخلايا T (19) علماً أن (26) قد نوه إلى أن خلايا T و B الورمية B and T cell lymphomas لا تعبر الـ EGF أو أن هذا التعبير يكون ضئيلاً ومهمـلاً فـي أغشية الخلايا T الخبيثة (36)، لكن هناك دراسات أخرى أشـارت إلـى وجـود مستقبلات عامل النمو في بعـض مـن حالات أمراض الدم مثل الورم النقـوي Myeloma (30,22) وفي أورام الخلايـا المتغـصنة الجرابيـة Follicular dendritic cells(FDC) (37) وأن التعبير المفرط Overexpression لتـوأم EGFR/ALK(Anaplastic Chimera lymphoma kinase) في بعض الخطوط الخلويـة مـن الأورام اللمفاويـة Lymphoma يكون كافياً لتحريض النمط الظـاهري الخبيـث Malignant phenotype في هذه الخلايا (31).

على الرغم من التأكيـدات الموضـوعية على إفراز الـ TGF-α من قبل الخلايـا المصورة للكريات الحمـراء والخلايـا الحامضة Eosinophils وخلايـا النقـي Myelocytes طليعة النقـي/ المعتدلـة

Promylocytes/neutrophilic في الحالة الطبيعية وحالة ابيضاض الدم Leukemia (45,43,42) التي تقدم مؤشرات طبيعية على التفاعل مع خلايا مجاورة تحمل مستقبلات عامل النمو فإنه لم يتأكد من وجود هذه المستقبلات في مستوى الخلايا الحامضة وخلايا طليعة النقي المعتدلة في نقي الدم الطبيعي، كذلك فإن الدراسات السابقة التي تناولت البحث عن وجود وأهمية مستقبلات عوامل النمو في بعض من أمراض الدم كانت ضئيلة جداً وفيها بعض التضارب إذا ما قورنت مع الدراسات الواسعة التي أجريت على الأنسجة الأخرى في الحالتين الطبيعية والإمراضية. وهذا ما دفعنا إلى إلقاء مزيدٍ من البحث على تعبير مستقبلات عامل النمو الظهاري والتحولي في بعض أمراض الدم ولا سيما في حالة ابيضاض الدم النقوي الحاد والمزمن Chronic and acute myeloid leukemia وابيضاض الدم اللمفاوي Lymphatic leukemia ومقارنة ذلك مع النقي البشري الطبيعي Normal Human bone marrow بهدف إلقاء مزيدٍ من الضوء على تلك المستقبلات في الحالتين الطبيعية والإمراضية للنقي كخطوة مرحلية نحو إمكانية تعميق البحث على الأورام في الوسط الصنعي والحي واستخدام أضداد مستقبلات عامل النمو وحيدة النسيلة.

مواد وطرائق Materials and methods

استخدم في هذا البحث عينات دم طبيعية من ثمانية أطفال وأخرى مرضية من 33 طفلاً مصاباً أعمارهم دون 12 سنة تضم حالات ابيضاض دم لمفاوي ونقوي بشكليه الحاد والمزمن تم الحصول عليها على شكل صفائح جاهزة للدراسة المناعية من مشفى الأطفال الجامعي.

قبل تطبيق تقانة الكيمياء النسيجية المناعية ICC تجرى الخطوات الآتية:

. يتم بزل نقي العظم عند الأطفال عادة من القنزعة الحرقفية الأمامية وفي حالات خاصة عند الرضع والولدان يتم البزل من عظم الظنبوب.

. يمدد ناتج البزل (الرشافة) على صفائح

زجاجية ثم تترك لتجف في الهواء مـدة 12-6 ساعة في درجة حرارة الغرفـة (إذا أريد عدم استخدام العينة مباشرة يمكن حفظها وذلك بلفهـا بـورق سـلوفان ووضعها في المجمدة بدرجة حرارة 20- درجة مئوية وفي حال الاستعمال المباشر يجرى مايأتي:

. تثبت اللطاخـات بواسـطة الكحـول الميتيلـي ويمكـن اسـتخدام الأسـيتون Acetone أو Methanol أو الفـــورم ألدهيد Formadehyde مـدة 90 ثانيـة بدرجة حرارة الغرفة.

. تعرض العينات للتجفيف بالهواء الجاف مدة 10 ثوان قبل تلوين الصفائح.

. حددت طبيعة الشرائح (الطبيعية منها والمرضية ونمط الابيضاض الموجـود بعد تلوين الصفائح بملون رايت من قبل اختصاصي في قسم أمراض الدم في في مشفى الأطفال) ثم نقل ثلثا الصفائح إلى المخبر كـي تجـرى عليهـا الدراسـة المطلوبة.

. تتم قراءة المحـضرات بعـد التلـوين المناعي بواسطة مجهر ضـوئي عـادي نموذج Nikon AFX-IIA

الكشف عن مستقبلات الـEGFR

استخدمت تقانة الكيمياء النسيجية المناعية الأنزيميـــــــــة Enzymatic immunohistochemistry غير المباشرة للكشف عن مـستقبلات عامـل النمـو الظهاري والتحولي وتضم المواد الآتية:

. أضداد مستقبلات عامل النمـو EGF Primary receptor anti body وحيـد النسيلة monoclonal بشري منتج عند الفأر تم الحصول عليه من شركة داكـو Code No M 3563

. أضداد الأمينوغلوبين الفأري منتج عند المـاعز Goat Anti mouse ومعلـم بأنزيم البيروكسيداز المبلمـر EnViso ، DAKO system peroxide Cod No . K4007 system, HRP (DAB)

. مصل خاروف أزيل فعالية المتممة فيه بتسخينه في محم مائي بدرجة 56 درجة مئوية مدة 30 دقيقة.

. مثبط البيروكسيداز 0.03% بيروكسيد الهدروجين ضمن نتريت الصوديوم.

. TRIS HCL 0.05% و 7.5-7.6 Ph كوسط واق تـسنخدم للغـسل وتمديـد الأضداد.

. استخدم الـ (Diaminobenzidine

(DAB كمداد لأنزيم البيروكسيداز وهو يعد مولداً لونياً يعطي لوناً بنياً بنتيجة التفاعل تختلف كثافته اللونية وفقاً لشدة التفاعل المناعي.

طريقة العمل

. توضع الصفائح في الماء المقطر مدة 30 ثانية، ثم تغسل الصفائح في موقي ملحي من (TRS) Tris-bufferd saline

. تحضن الخلايا في مصل خاروف بدرجة التمديد 20/1 مدة 30 دقيقة، ثم تغسل الصفائح بالموقي الملحي ثلاث مرات.

. تحضن الخلايا بوجود مثبط أنزيم البيروكسيداز ذي المنشأ الداخلي Endogenous peroxydase (محضر سلفاً من قبل الشركة) مدة 10 دقائق، ثم تغسل الصفائح ثلاث مرات في موقي TRIS

. تحضن الخلايا مدة ساعة ونصف بوجود أضداد مستقبلات عامل النمو وحيدة النسيلة (ضد أولي Primary antibody) بدرجة تمديد 175/1 ضمن الـTRIS، ويتم الحضن بدرجة حرارة الغرفة وفي جو رطب، ثم تغسل الصفائح ثلاث مرات في الموقي الملحي

. تضاف أضداد الأمينوغلوبولين الفأري (الضد الثانوي Secondary antibody) المعلم بأنزيم البيروكسيداز المبلمر (المحلول جاهز من الشركة) ويستمر الحضن نصف ساعة بدرجة حرارة المخبر وجو رطب، ثم تغسل الصفائح ثلاث مرات في المحلول الموقي.

. يضاف المداد Substrate الملون على الصفائح (يضاف إلى كل 1 مل من محلول TRS 20µ من محلول الـ DAB) ويستمر الحضن في الظلام بين 5-10 دقيقة حسب شدة اللون مع الهز لتفادي الترسب الزائد للملون، بعد ذلك يوقف التفاعل بوضع الصفائح في ماء مقطر ثم تنقل إلى محلول موق.

. للمشاهد السريعة بالمجهر الضوئي يمكن إجراء مونتاج للصفائح في وسط سائل (الريزين) كما في دراسة اللاطاخة، ومن أجل حفظ الصفائح فترة طويلة يمكن إجراء منتاج للصفائح وفقاً للطريقة التقليدية المتبعة في دراسة

الأنسجة باستخدام بلسم كندا.

. استخدم مصل الخاروف بدلاً من الضد الأولي كشاهد سالب وبدرجة التمديد نفسها.

النتائج:

- التحديد الكيميائي النسيجي المناعي Immunohistochemical لمستقبل الـEGR في نقي العظم الطبيعي البشري.

أسهم التلوين الكيميائي النسيجي المناعي لمستقبل عامل النمو الظهاري والتحولي في إظهار تجمعات متباينة من الخلايا موجبة التفاعل المناعي Positive immunoreaction (شكل (1-1←)، وقد لوحظ أن هذا التفاعل محدد في مستوى الغشاء الخلوي وداخل الخلوي خصوصاً في الخلايا ذات النوى اللا مركزية (شكل 1-3 *) ويعتقد أن هذه الخلايا هي من نمط خلايا النقوية المعتدلة والحامضة Neutrophilic and eosinophilic myeloctes وخلايا أرومة النقي وطلائع الخلايا النقوية Myeloblast and promyeloblast خصوصاً خلايا المعتدلة شريطية النواة Band myelocyte (شكل 1-3 ▲) وخلايا خليفة النقوية Metamyelocyte (شكل 1-4 ←) وفي خلايا أرومة الكريات الحمراء Erythroblast (شكل 1-5 D←) كما لوحظ وجود تفاعل مناعي موجب في مستوى الغشاء النووي للخلايا المفصصة المعتدلة ربما تكون طليعة المعتدلة Proneutrophilic cells (شكل 1-5 b ← و C ←)، وفي مستوى الغشاء النووي لطليعة وحيدة النواة النقية Promyelomonocyte (شكل 1-6 c *) وشوهد تفاعلٌ موجب في مستوى الغشاء النووي لأرومة اللمفاويات Lymphoblast (شكل 1-5 a * و 1-4 *) يغيب هذا التفاعل بغياب أضداد مستقبل عامل النمو(شكل 2- 1) وكذلك بالاستعاضة عنه بمصل خروف كما يلاحظ الغياب التام للتفاعل في مستوى الخلايا الناضجة سواء كانت كريات حمراء أم بيضاء.

- التحديد الكيميائي النسيجي المناعي Immunohistochemical لمستقبل الـEGR في حالة ابيضاض الدم

النقـوي الحـاد Acute myeloid leukemia (AML) الذي تغلب عليـه أرومات النقي Myeloblast ، والمزمن Chronic myeloid leukemia (CML) الذي تغلب عليه طلائع النقـي Promyelocytes فـي كلتـا الحـالتين شوهد تفاعل مناعي موجب في مـستوى نوى أرومة الكريـة الحمـراء الـسوية (شكل A -2)، والغشاء النووى للخلايا المصورة Plasma cells (شكل A -2 ←) وفي مستوى الغشاء النووي لوحيدة النـواة النقيـة (شـكل A -2 و B *) والمعتدلة شريطية النواة (شـكل B -2 ▲)، وطليعـة المعتـدلات عديـدة الفصوص(شكل B -2 ←)، كما يـشاهد تفاعلٌ موجب في مستوى الغشاء الهيولي للخلايا اللمفاويات الكبيرة (شـكل A -2 ▲) ونواة المصورة اللمفاوية (شكل A -2 ◊).

- التحديد الكيميائي النسيجي المنـاعي Immunohistochemical لمـستقبل الـEGR في حالـة ابيـضاض الـدم اللمفـاوي الحـاد Acute lymphoid leukemia (ALL) الذي تـسود فيـه أرو مـات اللمفاويـات، والمـزمن Chronic lymphoid leukemia(CLL) الـذي تـسود فيـه اللمفاويات الناضجة في الحالة الأولـى ALL شوهد تفاعل مناعي موجب فـي مستوى الغشاء النووي لأرومة الخلايـا اللمفاوية وطلائعها وخصوصاً النمط L2 (شـكل c -3 ←) فـي حـين فـي الابيضاض اللمفاوي المزمن CLL حيث يغلب علـى العينـة الخلايـا اللمفاويـة "الناضجة" (شـكل A -3) شـوهد أن معظم التفاعل المناعي موجب وكان في مستوى الأغـشية الخلويـة ولـوحظ أن توزع وكثافة التفاعل غير متجانسة بـل يكون متجمعاً في بعض الخلايـا علـى شكل Cup (شكل B -3 ←) كما شوهد تفاعل مناعي موجب في مستوى الأغشية النووية لبعض الخلايا التي من المحتمـل أنها تمثل مراحل محـددة مـن تطـور الخلايا اللمفاوية وبشكل خـاص طلائـع الخلايـا اللمفاويـة Prolymphocytes لكنها تكون قليلة جداً.

المناقشة Discussion:

بينت دراستنا الحالية أن عدداً كبيراً من خلايا نقي العظم الطبيعي تكون غنية بالتفاعل المناعي الموجب الخاص بمستقبلات عامل النمو الظهاري والتحولي (شكل 1-1) وهذا التفاعل يكون موزعاً ومركزاً بشكل رئيس في سوية الغشاء الخلوي وهيولى الخلايا في أرومة الكريات الحمراء والخلايا النقوية المعتدلة والحامضة وأرومة وطلائع الخلايا النقوية خصوصاً شريطية النواة وخليفة النقوية (شكل 3-1) كما شوهد في مستوى الغشاء النووي للخلايا النقوية الحبيبية المفصصة المعتدلة والحامضة (شكل 5-1) وفي طليعة وحيدة النواة النقوية وأرومة الخلايا اللمفاوية (شكل 6-1) وأرومة الكريات الحمراء السوية في نقي العظم البشري الطبيعي من خلال التلوين غير المباشر لخلايا نقي العظم بواسطة أضداد وحيدة النسيلة معلمة بالبيروكسيداز ضد مستقبل عامل النمو EGFR، وهذا يقدم دليلاً عملياً على تعبير مستقبلات عامل النمو الظهاري والتحولي في مراحل تطورية متتالية من نمو الكريات الحمراء والبيضاء وغيابه بشكل كلي من الكريات الحمراء والكريات البيضاء الناضجة.

يشير التعبير المكثف للـ EGFR في مراحل تطورية مختلفة من نضج الكريات الحمراء والخلايا النقوية الحبيبية واللاحبيبية إلى الدور الذي من المحتمل أن تتوسطه هذا المستقبلات في سياق تطور خلايا الدم في نقي العظم، ومن الملفت للانتباه أيضاً هو أن التفاعل المناعي كان متبايناً لا يقتصر على مكان محدد وثابت في جميع الخلايا وفي جميع المراحل التطورية بل أنه يتواجد في مستوى خارج خلوي(الغشاء الخلوي) والهيولى في المراحل المبكرة والمتوسطة من تطور الكريات الحمراء والخلايا النقوية الحبيبية واللاحبيبية في حين يقتصر هذا الوجود على الغشاء النووي في مراحل متقدمة من التطور قبل التمايز، وهذا مؤشر على أن هذا التباين في تعبير مستقبلات عامل النمو الظهاري والتحولي مرتبط بمراحل

محددة من تطور الخلايا وكذلك بنوع الخلية في آن معاً (شكل 1-1)، أضف إلى ذلك أن المشاهدات التي جمعت من اطلخات نقوية من أفراد مصابين بابيضاض الدم النقوي بحالتيه الحادة والمزمنة تدعم هذا الاستنتاج؛ حيث لوحظ أن التفاعل كان متركزاً بشكل أساس في مستوى الغشاء النووي لأرومة الكريات الحمراء السوية وطلائع الخلايا النقوية الحبيبية المفصصة ووحيدة النواة النقوية والخلايا المصورية (شكل 2- a وb) وغيابها بشكل كامل من الأغشية الخلوية في هذه المرحلة من تطور خلايا الكريات الحمراء والبيضاء التي تعد مرحلة متقدمة من التطور بعكس الخلايا اللمفاوية في حالتي ابيضاض الدم النقوي واللمفاوي، فقد تركز التفاعل المناعي الموجب بخصوص المستقبلات في مستوى الغشاء النووي في المراحل المبكرة من تطور الخلايا اللمفاوية في حين تجمع التفاعل المناعي على شكل Cup في مستوى الغشاء الخلوي للخلايا التي يصنفها اختصاصي أمراض الدم بالخلايا "الناضجة" (شكل A-3 و B) خلافاً للخلايا المصورية التي تشتق من الخلايا اللمفاوية B فإن تعبير الـEGFR ينحصر على النواة دون الغشاء الخلوي.

الملاحظة الاخرى التي تجب الإشارة إليها هو التباين في تعبير مستقبل عامل النمو التحولي بين ابيضاض الدم النقوي واللمفاوي، فبينما يكون هذا التعبير محدداً في الغشاء الهيولي والهيولى في المراحل المبكرة من تطور الكريات الحمر والخلايا النقوية الحبيبية في ابيضاض الدم النقوي بشكليه فإنه بالمقابل يقتصر على الغشاء النووي في الخلايا طليعة اللمفاويات في حالة ابيضاض الدم اللمفاوي، كذلك تكون مظاهر التعبير مختلفة في المراحل المتقدمة من تطور خلايا الدم فهي محددة في الأغشية النووية للخلايا النقوية المفصصة في الابيضاض النقوي في حين هي منتشرة أو متجمعة على شكل Cup في الخلايا اللمفاوية الناضجة في الابيضاض اللمفاوي.

يدل وجود EGFR في الخلايا المولدة

للدم الطبيعية وفي حالة ابيضاض الدم النقوي واللمفاوي بشكليه على إمكانية إفراز بعض عوامل النمو (الرابط الكيميائي للـEGFR) من قبل بعض خلايا نقي العظم بطريقة تمكن هذا الرابط الكيميائي من التفاعل مع هذه المستقبلات في مراحل متباينة من التطور الخلوي (اعتماداً على آلية الإفراز الذاتي والمجاور)، ومن ثَم يثير هذا التفاعل سلسلة من الفسفرة الذاتية للجزء الداخلي من المستقبل تؤثر إيجابياً في نمو الخلايا وتطورها، وقد ثبت وجود عامل النمو التحولي Transforming growth factor alpha (TGF-α) في أغشية وحبيبات الإفراز في خلايا طلائع الكريات الحمر والخلايا النقوية المعتدلة والحامضة في النقي البشري الطبيعي (39)، كما تقوم طلائع النقوية Promyelotic cells خلال تمايزها الحبيبي والخلايا وحيدة النواة والبالعات الناضجة بإنتاج وإفراز TGF-α في حالة ابيضاض الدم (43) وكذلك الخلايا الحامضة الناضجة في الدم المحيطي البشري (42، 45) وخلايا الحامضة في نقي عظم الهامستر Hamster (10)، رغم التباين الموجود في مكان وجود الـTGF-α بين الخلايا الحامضة والخلايا المصورة للكريات الحمر فإن وجود الرابط الكيميائي هو دليل منطقي على وجود مستقبله سواء على الخلايا نفسها أو على الخلايا المجاورة استناداً إلى آلية الإفراز الذاتي والمجاور.

تشير الدراسات إلى أن تمايز الخلايا المولدة للدم يتطلب تدخل شبكة معقدة من العوامل المنظمة والخلايا المتداخلة Interacting cells لإنجاز هذه الآلية (1، 9)، ويعد تفعيل مستقبلات عوامل النمو في خلايا النقي وحيدة النواة عاملاً مؤثراً في نمو هذه الخلايا ونضجها، تشير الملاحظات نفسها استنبطت من البحوث التي أجريت على خلايا المصورة للكريات الحمراء الحاملة لمستقبلات عوامل النموالظهاري والتحولي إلى أن هذه الخلايا تتكاثر وتتمايز بعد تعرضها للـ TGF-α (30,17) علماً أنه ليس من الضروري وجود عامل النمو ومستقبله

معاً في الخلايا نفسها (7).

إذا حاولنا الربط بين ما جاء في دراسات سابقة تؤكد وجود عامل النمو التحـولي في الخلايا المصورة للكريـات الحمـر وطلائع الخلايا النقوية ووحيدات النـواة والخلايا الحامضة وبين النتـائج التـي حصلنا عليها والتي تشير إلـى وجـود مـستقبلات عامـل النمـو الظهـاري والتحولي في مستوى الغـشاء الهيـولي لمصورة الكريات الحمراء والمصورات النقوية وطلائعها بأنواعها تدعم القـول: إن الرابط TGF-α يؤثر بشكل مباشر في الخلايا المجاورة الحاملـة لمـستقبلات الـEGFR من خـلال ارتباطـه بهـذه المستقبلات وتفعيلها مما يؤثر في نمـو الخلايا ونضجها، وهذا يؤكد أن التعبيـر الوظيفي للـEGFR يتوسط اسـتجابات النمو والكيمياء الحيويـة المبكـرة فـي الخلايا المولدة للـدم البـشري Human hematopoietic cells(21).

بالعودة إلى النتائج التي حـصلنا عليهـا والتـي تـشير إلـى التعبيـر المفـرط لمستقبلات عامل النمـو فـي مـستوى الغـشاء الخلـوي للخلايـا اللمفاويـة "الناضجة" (حالة ابيضاض الدم اللمفاوي المزمن) وغيابها من النواة على عكـس الخلايا المصورة اللمفاوية التي شاهدناها في حالة ابيضاض الدم اللمفاوي الحـاد حيث يكون التفاعل المناعي موجباً فـي النواة وغائباً في مستوى الغشاء الخلـوي يجعلنا نؤكـد ثانيـة أن مكـان وجـود الـEGFR يرتبط بمراحل محـددة مـن تطور الخلايا وهذا يسهم فـي إمكانيـة استخدام الكشف المناعي في التمييز بين الحالتين المزمنة والحادة واستطراداً فإن غياب مستقبلات عامل النمو في مستوى الأغـشية الهيوليـة والنوويـة للخلايـا اللمفاوية الناضـجة الطبيعيـة (نقـي طبيعي) وظهور هذه المـستقبلات فـي أغشية الخلايـا اللمفاويـة فـي حالـة ابيضاض الدم اللمفاوي المـزمن يـسمح بالقول: إن التعبير المفرط لـEGFR في هذه الخلايا يشير إلى درجة خباثتها وإلى أنها ربما تمثل مرحلة تطوريـة تـسبق مباشرة التمايز النهائي للخلايا اللمفاوية؛ وهذا باعتقادنا يشجع ويـدعم نظريـة

استخدام أضداد مستقبلات عامل النمو التحولي في المقاربات العلاجية في حالة ابيضاض الدم اللمفاوي المزمن.

النقطة الأخرى التي تجب الإشارة إليها أيضا هي أنه لم نجد علامة محددة يمكن الاعتماد عليها في التمييز بالطرق المناعية بين مراحل تطور الكريات الحمراء والنقوية في النقي الطبيعي وحالات ابيضاض الدم النقوي الحاد والمزمن إلا من حيث كثافة بعض الأنماط الخلوية دون غيرها والكثافة النسبية للتفاعل المناعي في كل مرحلة من مراحل تطور الخلايا رغم التأكيد على وجود التفاعل المناعي في مستوى الغشاء الهيولي لمعظم الخلايا في مراحلها التطورية المبكرة وغياب هذا التفاعل في مستوى الغشاء النووي بعكس الخلايا الناضجة أو القريبة من التمايز النهائي التي ينحصر التفاعل المناعي فيها في الغشاء النووي كما أن غياب التفاعل المناعي في الخلايا الطبيعية الناضجة سواء كانت كريات حمراء أم بيضاء يؤكد دور هذه المستقبلات في عملية النمو والنضج وأنه ليس لهذه المستقبلات دور مهم يمكن أن تؤديه بعد التمايز الخلوي الطبيعي، لذلك فإننا نعتقد أنه من الممكن استعمال مضادات الـEGFR كمقاربة علاجية لتحييد عمل هذه المستقبلات مناعياً ومن ثَم الحد من نمو خلايا النقي وتمايزها في حالة ابيضاض الدم النقوي، ولا يمكن استخدام التقانة المناعية في التشخيص التفريقي بين الحالتين المزمنة والحادة.

تظهر هذه الدراسة أن الـ EGFR يمثل عاملاً مهماً وفاعلاً في مختلف المراحل التطورية للدم الطبيعي كما يزداد تعبيره في حالات الشذوذ حيث يظهر في مواقع جديدة (الغشاء الخلوي في حالة ابيضاض الدم اللمفاوي المزمن)، ومن ثَم يمكن للأضداد وحيدة النسيلة الخاصة بمستقبل عامل النمو الظهاري أن تمتلك مستقبلاً واعداً كمرشح قوي من بين العوامل العلاجية Therapeutic agent للأورام التي تبدي تعبيراً مفرطاً لمستقبلات عامل النمو الظهاري والتحولي.

References

1-Allen TD, Dexter TM, Simmons PJ: Marrow biology and stem cell, in Dexter TM, Garland JM, Testa NG (eds): Colony-stimulating factors. New York, NY, Dekker, 1990, p 1

2-Ali H : Immunocytochemical localization of epidermal growth factor and transforming growth factor receptor (EGFR) in human lamphatic organs (LO) and bone marrow in the normal case and diseased one. مجلة جامعة دمشق- المجلد الثامن عشر –العدد الاول 2002 , P 131-163

3- Anklesaria P, Texido J, Laiho M, Pierce JH, Greenberger JS, Massague J: Cell-cell adhesion mediated by binding of membrane anchored transforming growth factor α to epidermal growth factor receptors promotes cell proliferation. Proc Natl Acad Sci USA. 1990; 87(9):3289-93

4- Aronson S.A. Growth factor and cancer. Science (Wash.DC). 1991; 254: 1146-53.

5-Baselga J. Why the epidermal growth factor receptor? The rational for cancer therapy. Oncologist. 2002;7 suppl 4:2-8.

6- Baselga J, Pifister D, Cooper M.R, Cohen R, Buerness B, Bos M, D'Andrea G, Seiman A, Norton L, Gunnett K, Falcey J, Anderson V, Woksol H, Mendelsohn J. Phase-I studies of anti-epidermal growth factor receptor chimeric antibody C225 alone and in combination with cisplatin. J. Clin. Oncol. 2000; 18: 904-914.

7- Brachmann R, Lindquist PB, Nagashima M, Kohr W, Lipari T, Napier M, Derynck R: Transmembrane TGF-α precursor activate EGF/TGF-α receptors. Cell. 1989; 56: 691

8-Carpenter G, Wahl MI: the epidermal growth factor family, in Sporn MB, Roberts AB (eds); Peptide growth factor and their receptors, vol 1. New York, NY, Springer-Verlag, 1990, p 69

9-Cashman JD, Eaves AC, Raines EW, Ross R, Eaves CJ: Mechanisms that regulate the cell cycle status of very primitive hematopoietic cells in long-term human marrow cultures. I. Stimulatory role of a variety of Mesenchymal cell activators and inhibitory role of a variety of Mesenchymal cell activators and inhibitory role of TGF-β. Blood. 1990; 75: 96-101.

10- Elovic A, Galli S.J, Weller P.F, Chang A.L.C, Chiang T, Chou M.Y, Donoff R.B, Gallagher G.T, Matossian K, McBride J, Tsai M, Todd R, Wong D.T.W. Production of transforming growth factor alpha by hamster Eosinophils. Am. J. Pathol. 1990; 137: 1425-34.
11- Elizabeth R. Sharlow, Robert P, Jill C, Jennifer B, Kazuo T, and Wojchowski D.M. Hematopoietic cell phosphatase negatively regulates erythropoietin-induced hemoglobinoztion in erythroleukemic SKT6 cells. Blood. 1997; 90(6): 2175-2187.
12- Fan Z, Mendelsohn J. Therapeutic application of anti-growth factor receptor antibody. Curr Opin Oncol. 1998; 10: 67-73.
13- Freitas CS, Dalmau SR, Savino W. Epidermal growth factor (EGF) modulate thymocyte growth and differentiation: partial reversal by insulin, mimicking by specific inhibitors of EGF receptor tyrosine kinase activity, and differential expression of CD45 phosphatase isotopes. J Immunol. 1998; 161(7): 3384-92.
14- Gotoh N, Arinobu T, Kenkoh M, Hishimoto Y, hattori S, Nakamura S, Takenawa T, Yasaki Y, Shibuya M. Epidermal growth factor-receptor mutant lacking the autophosphorylation sites induces phosphorylation of the Shc protein and Shc-Grb2/ ASH association and retains mitogenic activity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994; 91(1): 167-71.
15- Harari P.M, Huang S.M. Epidermal growth factor receptor modulation of radiation response: preclinical and clinical development. Semin Radiat Oncol. 2002; 12: 21-26.
16-Hayman MJ, Mayer S, Martin F, Steinlein P, Beug H: Selfrenewal and differentiation of normal avian Erythroid progenitor cells: Regulatory roles of the TGFα/c-ErbB and SCF/c-Kit receptors. Cell. 1993; 74:157
17- John O, Robert H, Bernd G, Eli G, Joseph S, and Raymond T. Expression of epidermal growth factor receptors in human hematopoietic cell line. Cancer research. 1991; 51: 150-156.
18- Karnes W.E, Weller S.G,Adjei P.N, Kottke T.J, Glenn K.S, Gores G.J, Kaufmann S.H. Inhibition of epidermal growth factor receptor kinase induces protease –dependent apoptosis in human colon cancer cells. Gastroentrology. 1998;114: 930-39.

19-Kennedy IC, June CH, O'Shea JJ. Expression of the human epidermal growth factor receptor in a murine T-cell hybridoma. A transmembrane protein tyrosine kinase can synergize with the T-cell antigen receptor. J Biol Chem. 1992; 267(7): 4924-9.

20- Lango M.N, Shin D.M, Grandis J.R. Targeting growth factor receptors: integration of novel therapeutics in the management of head and neck cancer. Curr Opin Oncol. 2001; 13(3): 168-75.

21- Lyall R.M, Zilberstaein A, Gasit A, Gilon C, Levitzki A, Schlessinger J. Tryphostins inhibit epidermal growth factor(EGF)-receptor tyrosine kinase activity in living cells and EGF stimulated cell proliferation. J. Biol. Mhem. 1989; 264: 14503.

22- Mahtouk K, Jourdan M, De Vos J, Hertogh C, Fiol G, Jourdan E, Rossi JF, Klein B. An inhibitor of the EGF receptor family bloks myelom cell growth factor activity of HB-EGF and potentiates dexamethasone or anti-IL-6 antibody-induced apoptosis. Blood. 2004;103(5): 1829-37.

23- Manoj P, Chandramohan K. Epidermal growth factor receptor: A novel target for anticancer treatment. World J Surg Oncol. 2003; 1: 9-10

24- Mark M.M , Andrea B, Steven D.A, Neal R. The tyrosin kinase inhibitor ZD1839 ("Iressa") inhibits HER2-driven signaling and suppresses the growth of HER2-overexpressing tumor cells. Cancer research. 2001; 61: 7184-88

25- Massag J. Epidermal growth factor – like Transforming growth factor: interaction with epidermal growth factor receptors in human placenta membranes and A431 cells. J.Biol-chem. 1983; 258: 13614.

26- Mauro M, Silvio V, Roberta S, Ornella C, Boe S.S, Marcello G and Salvatore S. Epidermal growth factor receptor expression and activation in nonseminomatous Germ cell tumors. Clinical Cancer Research. 2001; 7: 2770-75.

27- Mendelsohn J. Epidermal growth factor receptor inhibition by a monoclonal antibody as an anticancer therapy. Clin. Cancer Res. 1997; 3: 2703-07.

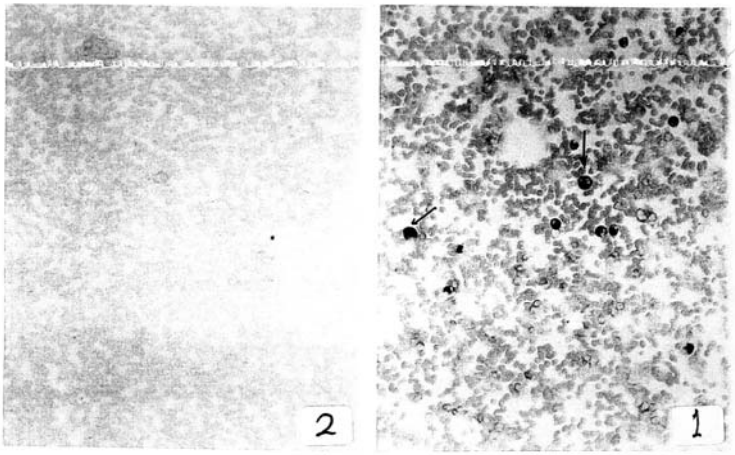
28- Modi S, Seidman A.D. An update on epidermal growth factor receptor inhibitors. Curr Oncol Rep. 2002; 4(1): 47-55

29-Oval J, Hershberg R, Gansbarcher B, Gilboa E, Schlessinger J, Taetle R: Expression of functional epidermal growth factor receptors in a human hematopoietic cell line. Cancer Res. 1991; 51(1): 150-6.

30- Pain B, Woods CM, SaeZ J, Flickinger T, Raines M, Peyrol S, Moscovici C, Moscovici MG, Kung H-J, Jurdic P, Lazarides E, Samarut J: EGF-R as a hematopoietic growth factor receptor: The c-erbB product is present in chicken erythrocytic progenitors and controls their self-renewal. Cell. 1991; 65:37-46
31- Piccinini G, Bacchhiocchi R, Serresi M, Vivani C, Rossetti S, Gennaretti C, Carbonari D, Fazioli F. A ligand-inducible epidermal growth factor receptor/anaplastic lymphoma kinase chimera promotes mitogenesis and transforming properties in 3T3 cells. J Biol Chem. 2002; 277(25): 22231-9.
32- Pomerantz R.G, Grandis J.R. The role of epidermal growth factor receptor in head and neck squamous cell carcinoma. Curr Oncol Rep. 2003; 5: 140-46.
33- Raymond E, Faivre S, Armand J.P. Epidermal growth factor receptor tyrosin kinase as a target for anticancer therapy. Drugs. 2000; 60 suppl 1: 15-23; discussion 41-2
34- Riese 2nd DJ, Stern DF. Specificity within the EGF family/ErbB receptor family signaling network. Bioessays. 1998; 20: 41-48.
35- Salomon D.S, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N. Epidermal growth factor-releted peptides and their receptors in human malignancies. Crit. Rev. Oncol. 1995; 19: 183-232.
36-Su I.J and Kadin M.E. Expressio of growth factor /receptor genes in postthymic T cell malignancies. Am. J. Pathol. 1989;135: 439-445.

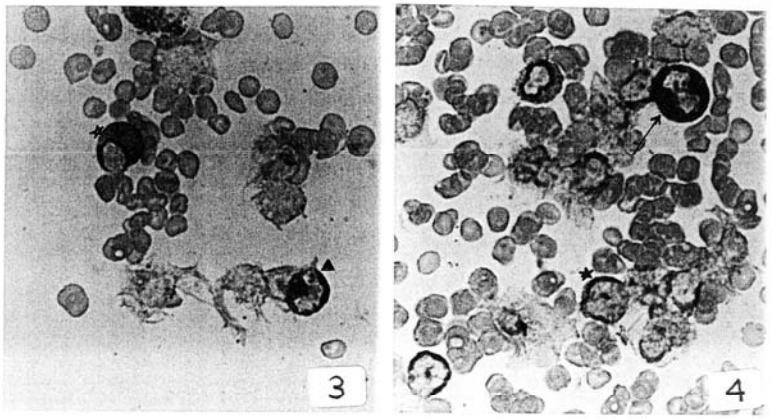
37- Sun X, Chang KC, Abruzzo LV, Lai R, Younes A, Jones D. Epidermal growth factor receptor expression in follicular dendretic cells: a shared feature of follicular dendriutic cell sarcoma and castleman's disease. Humn pathol. 2003; 34(9): 835-40.
38- Taetle R, Ostergaard H, Smedsrud M, Trowbridge I: Regulation of CD45 expression in human leukemia cells. Leukemia: 1991; 5(4): 309-314.
39- Thomas M.W, Claes M, Bronwen K, Nishikawa, and Ake W. Transforming growth factor –α (TGF- α) in human bon marrow : demonstration of TGF- α in erythroblast and eosinophilic precursor cells and of epidermal growth factor receptor in blastlike cells of myelomonocytic origin. Blood. 1995; 85(9): 2385-2392.

40- Thompson K.L, Rosner M.R. Regulation of epidermal growth factor receptor gene expression retinoic acid and epidermal growth factor. J Biol Chem. 1989; 264: 3230-4
41-Tortora G, Ciardiello F. Targeting of epidermal growth factor receptor and protein kinase A:molecular basis and therapeutic application. Ann. Oncol. 2000; 11: 777-783.
42- Walz T.M, Nishikawa B.K, Malm C, wasteson A. Production of transforming factor alpha by normal human blood Eosinophils. Leukemia. 1993; 7: 1531-37.
43- Walz T.M, Malm C, Nishikawa B.K, Willander K, wingren S, , wasteson A. Production of transforming growth factor alpha by human leukemia cells (HL-60 and U-937) during monocytic differentiation. Leukemia. 1995; 9: 671-76.
44 Wilkis A.F. Protein tyrosin kinase growth factor receptors and their ligands in development, differentiation and cancer. Adv. Cancer Res. 1993; 60: 43-73
45- Wong D.T.W, Weller P.F, Galli A, Elovic A, Rand T.H, Gallagher G.T, Chiang T, Chou M.Y, Matossian K, McBrid J, Todd R. Human Eosinophils express transforming growth factor alpha. J EXP Med. 1990; 172: 673-681.
46 Wu X, Fan Z, Masul H, Rosen N, Mendelsohn J. Apoptosis induce by anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody in a human colorectal cells line and its delay by insulin. J Clin Invest. 1995; 95: 1897-1905.



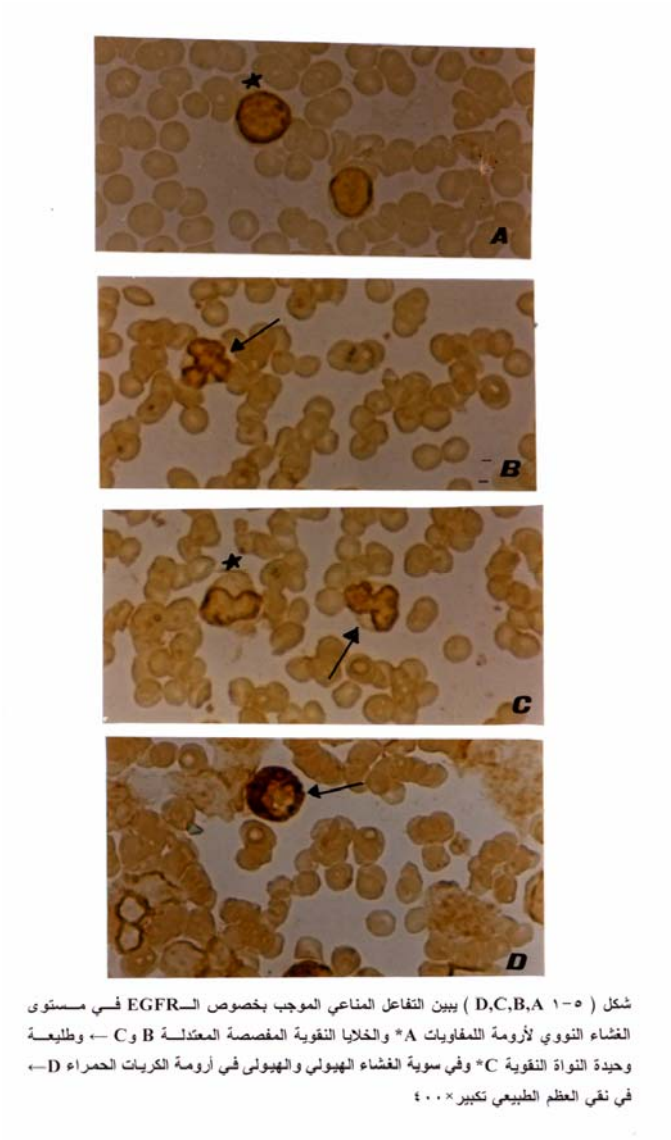
شكل(١-١) التحري الكيميائي النسيجي المناعي للـEGFR في مستوى الغشاء الهيولي والنووي والهيولى لتجمعات خلوية متباينة في نقي عظم بشري طبيعي ← وغيابه من الكريات الحمراء الناضجة * ×١٥٠

شكل (١-٢) شاهد سالب استبدل فيه أضداد الـEGFR بمصل خروف يظهر الغياب التام للتفاعل المناعي من جميع خلايا نقي العظم تكبير × ١٥٠

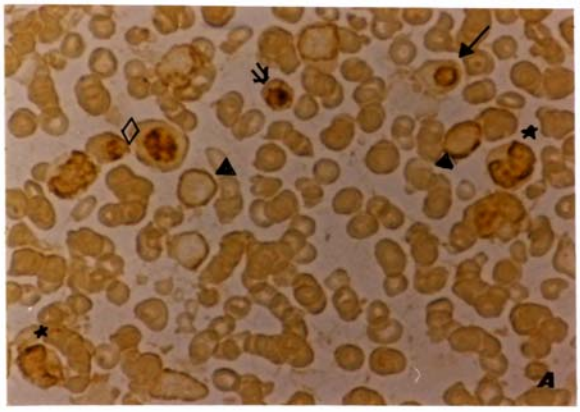


شكل (١-٣) يوضح تفاعلاً مناعياً موجباً بخصوص الـEGFR في مستوى الغشاء الهيولي وهيولى الخلايا النقوية المعتدلة والحامضة * والخلايا النقوية الحبيبية شريطة النواة ▲في نقي عظم طبيعي تكبير× ٤٠٠

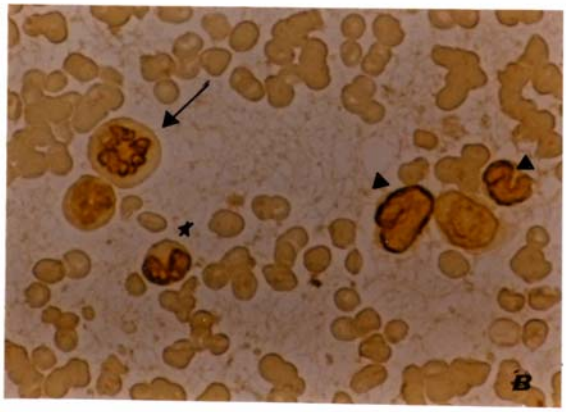
شكل (١-٤) يظهر تفاعلاً مناعياً موجباً في مستوى خليفة النقويـة← وفي سوية الغشاء النووي لأرومة الخلية اللمفاوية * تكبير× ٤٠٠



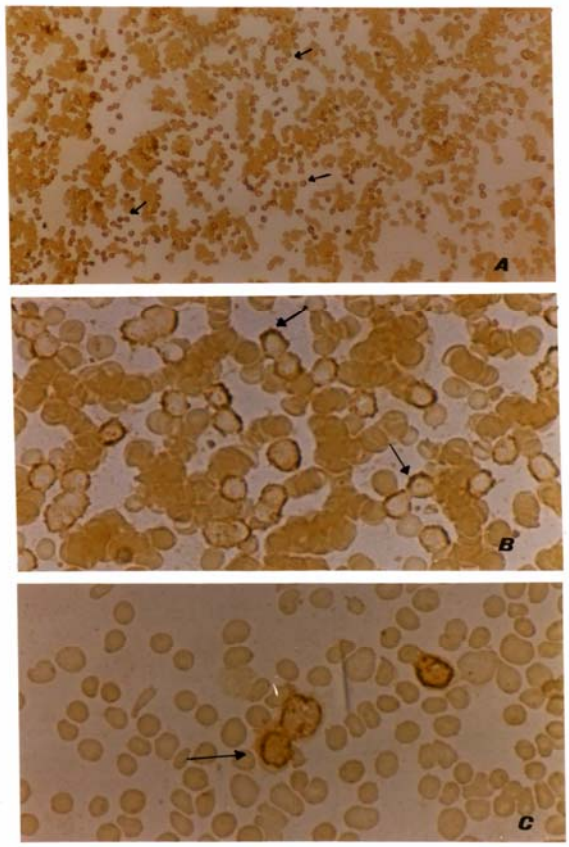
شكل (١-٥ D,C,B,A) يبين التفاعل المناعي الموجب بخصوص الـEGFR في مستوى الغشاء النووي لأرومة اللمفاويات A* والخلايا النقوية المفصصة المعتدلة B و C ← وطليعة وحيدة النواة النقوية C* وفي سوية الغشاء الهيولي والهيولى في أرومة الكريات الحمراء D← في نقي العظم الطبيعي تكبير ×٤٠٠



شكل (A-٢) التحري الكيمياني النسيجي المناعي للـEGFR في خلايا نقي العظم في حالة ابيضاض الدم النقوي الحاد والمزمن، ويظهر هنا في مستوى نوى أرومة الكريات الحمراء السوية A⇧والخلية المصورية ← وفي مستوى الغشاء النووي لوحيدة النواة النقوية * ونوى الخلايا المصورة اللمفاوية ◊ والغشاء الخلوي للخلايا اللمفاوية الكبيرة A▲ تكبير×٤٠٠



شكل (B-٢) يظهر التفاعل المناعي الموجب لـEGFR في سوية الغشاء النووي للخلايا المعتدلة عديدة الفصوص← وشريطة النواة المعتدلة ▲ ووحيدة النواة النقوية * تكبير×٤٠٠



شكل (٣-A وB و C) التحري الكيميائي النسيجي المناعي للـEGFR في خلايا نقي العظم في حالة ابيضاض الدم اللمفاوي ويبدو في الشكل A غزارة الخلايا اللمفاوية ← وتركز التفاعل في مستوى الغشاء الهيولي للخلايا اللمفاوية ' الناضجة ' B← وفي سوية الغشاء النووي لأرومة الخلايا اللمفاوية وطلائعها وخصوصاً النمط L2 C← تكبير × ٤٠٠

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق:2004/12/5.
تاريخ قبوله للنشر:2006/5/23.