

## Akut Lösemili Hastalarda Anjiogenezinin Değerlendirilmesi

Tülay ÖZÇELİK\*, Rıdvan ALİ\*, Fahir ÖZKALEMKAŞ\*, Vildan ÖZKOCAMAN\*,  
Ülkü OZAN\*, Hülya ÖZTÜRK\*\*, Ahmet TUNALI\*

\* Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı, Bursa

\*\* Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Bursa

### ÖZET

Anjiogenezinin solid tümörlerdeki önemi iyi bilinmektedir. Fakat, hematolojik neoplazmlar için az sayıda veri bulunmaktadır. Çalışmamızda tedavi edilmemiş akut lösemili hastaların kemik iliğindeki anjiogenezinin rolünü araştırmayı amaçladık. Tedavi edilmemiş hastaların kemik iliğindeki mikrodamar sayıları, kontrol olgularının ve komplet remisyon dönemindeki olguların mikrodamar sayıları ile karşılaştırıldı. Çalışmaya on üç hasta alındı. Kemik iliği örnekleri immunohistokimyasal olarak von Willebrand faktör ile boyandı. Her kemik iliği örneğinde damar yoğunluğunun en fazla olduğu alanlardan iki tanesinde mikrodamar sayımı yapıldı. Anjiogenezis, 400'lük büyütmedeki damarların sayısı olarak ifade edildi. Kemik iliği mikrodamar sayısı akut lösemili hastalarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli oranda artmış bulundu ( $p<0.01$ ). İlaveten ilk tanıdaki mikrodamar sayısı komplet remisyon döneminde değerlendirilen damar sayısına göre önemli oranda artmış bulundu ( $p<0.01$ ). Sonuç olarak; akut lösemili hastalarda kemik iliğinde anjiogenezinin artmış olduğu gösterilerek, akut lösemilerin patogenezinde anjiogenezinin rolü olabileceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Anjiogenezis. Akut lösemi.

### Evaluation of Angiogenesis in Acute Leukemia Patients

#### SUMMARY

The importance of angiogenesis for solid tumors is well established. In contrast only few data are available for hematologic neoplasms. In our study we aimed to investigate the role of angiogenesis in bone marrow biopsies of untreated acute leukemia patients. Microvessel counts in the bone marrow biopsies of untreated patients were compared with normal controls and with ones counted at the time of complete remission. Thirteen patients were included in the study. Bone marrow samples were immunohistochemically stained with von Willebrand factor. Microvessels were scored in two areas of the highest microvessel density in sections of each bone marrow specimen. Angiogenesis was expressed as the number of vessels counted at x400 magnification. Bone marrow microvessel count was significantly increased in acute leukemia patients compared with controls ( $p<0.01$ ). Additionally microvessel count at presentation was significantly higher than the one assessed at the time of complete remission ( $p<0.01$ ). In conclusion by demonstrating increased angiogenesis in the bone marrow of acute leukemia patients we think that angiogenesis may play a role in the pathophysiology of acute leukemia.

**Key Words:** Angiogenesis. Acute leukemia.

Anjiogenezis, var olan bir damardan multistep süreçlerden sonra yeni kan damarlarının oluşmasıdır. Anjiogenezis için gerekli basamaklar ekstraseküller matrikste yeniden modellenme, endotel hücre migrasyonu, proliferasyonu, kapiller diferansiyasyon ve tüp formasyonudur<sup>1</sup>. İnsanlarda anjiogenezis, anjiogenezi stimüle eden vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), asidik ve bazik fibroblast büyüme faktörleri (aFGF, bFGF), anjiopoetin-1,

tümör nekrozis faktör (TNF), hepatosit büyüme faktörü (HGF) gibi proteinler ile anjiogenezi inhibe eden, FVIII kolajenin, trombospondin, fibronektin,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  interferon (IFN) gibi faktörler arasındaki ince bir denge ile düzenlenmektedir<sup>2</sup>. Anjiogenezis esnasında, endotel hücreleri sessiz hallerinden, hızla çoğalan şekle dönüşmektedirler. Fizyolojik anjiogeneziste bu olay fokal ve kısa süreli iken (örneğin; over foliküllerinde birkaç haftaya kadar devam edip durmaktadır) patolojik anjiogeneziste hala fokal bir süreç olmakla birlikte aylar veya yıllarca devam edebilmektedir (örneğin, oküler neovaskularizasyon, artrit, deri hastalıkları ve tümörlerde anjiogenezis nadiren spontan durmaktadır). Bugün için progresif tümör büyümesi ve metastazının anjiogenezise bağlı olduğu bilinmektedir. Anjiogenezis bloke edildiğinde

Geliş Tarihi: 25.05.2003  
Kabul Tarihi: 30.06.2003

Uzm. Dr. Tülay ÖZÇELİK  
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları  
Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı, Görükle, Bursa  
Tel: 0224 442 84 00/1087  
e-mail: tulayoz @uludag.edu.tr

tümör hücre proliferasyonu devam edebilmektedir, ancak bu durum yüksek oranda tümör hücre apoptozu ile dengelenmekte ve böylece tümör kitlesi genişleyememektedir<sup>3</sup>. Anjiyojenik faktörler, direkt olarak tümör hücreleri tarafından ve indirekt olarak da ekstrasellüler matriks ve inflamatuvar hücreler tarafından üretilebilmektedir<sup>1,4</sup>. Anjiogenezin tümör büyüme ve metastazındaki öneminin anlaşılması, anjiogenezin belirlenme yöntemleri ve anjiogenezis tedavi modalitelerinin oluşmasını stimüle etmiştir<sup>2,5</sup>.

Son 3-4 yıl içinde anjiogenezin hematolojik hastalıklarda da önemli olabileceği konusu belirgin ilgi uyandırmış ve erişkin ve çocukluk akut lösemilerinde, kronik lösemilerde, miyelodisplastik sendromlarda, lenfomalarda, multipl miyelomada neovaskülarizasyonun rolünü değerlendirmeye yönelik çalışmalar yapılmıştır<sup>6-13</sup>. Hematolojik malignitelerden lenfoma gibi solid tümörlerde anjiogeneziste artış, diğer solid tümörlerdeki patogenezi nedeniyle akla yatkın gelmekte ise de, sıvı hematolojik tümörlerden biri olan akut lösemilerde anjiogenezisin neden artmış olabileceği sorusunu cevaplandırabilmek oldukça zordur. Çünkü kemik iliğini infiltre eden akut lösemi hücreleri solid tümörler gibi "kitle" oluşturmamaktadırlar<sup>12</sup> bu yüzden de lösemik hücrelere besin ve oksijenin taşınması veya metabolitlerin bu hücrelerden uzaklaştırılması amacı çok tatmin edici değildir. Fakat akut lösemilerde de anjiogenezisin ve anjiyojenik mediyatörlerin artmış olduğu çeşitli çalışmalarla desteklenmiştir<sup>9,14-17</sup>. Bugüne kadar yapılan çalışmalar patogenezin netleşmesi açısından yeterli değildir. Bu sebeple biz de akut lösemili hasta grubumuzda anjiogenezis değerlendirmesini yapıp, aktif hastalık, remisyon dönemi ve kontrol grubu arasında farklılık olup olmadığını ve bu durumun hastalığa ait faktörlerle ilişkisi olup olmadığını belirlemeye çalıştık.

## Gereç ve Yöntem

Çalışma Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı kliniğinde akut lösemi tanısı alan 6'sı erkek, 7'si kadın olmak üzere toplam 13 hasta ile yapıldı. Her hasta tanı aşamasında bilgilendirildi ve "onay formu" alındı. Krista iliaka posterior superiordan tek taraflı kemik iliği biyopsisi ve sitolojik, immunolojik ve sitogenetik değerlendirmelerin yapılabilmesi için kemik iliği aspirasyonu yapıldı. Prognostik önemleri açısından tüm hastaların lökosit sayısı ve serum LDH düzeyleri belirlendi. Tüm hastaların Hb düzeyleri kaydedildi. Tanı döneminde kemik iliği aspirasyon materyallerinde blastik hücre yüzde oranı, biyopsi materyellerinde de selülarite oranı belirlendi. Hastalara uygulanan kemoterapi rejimleri, standart akut lösemi tedavi rejimlerinden oluştu. Her hastaya tedavi öncesi ve tedavi tamamlanıp, remisyon kriterleri

elde edildikten sonra olmak üzere toplam 2 kez biyopsi yapıldı. Kontrol vakaları olarak hematolojik veya nonhematolojik malignitesi olan ve evrelendirme amaçlı kemik iliği biyopsisi yapılan, materyalde tümöral infiltrasyon saptanmayıp, normoselüler kemik iliği olarak değerlendirilen on adet kemik iliği biyopsisi alındı. Kemik iliği biyopsi materyalleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirildi. İmmünohistokimyasal boyama için tamponlanmış formaldehitte fikse edilmiş kemik iliği spesimenleri formik asit ve hidroklorik asitte dekalsifiye edilerek parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler alınarak mikrovasküler endotel hücrelerinin belirlenebilmesi amacı ile antihuman Von Willebrand faktör (vWF Monoklonal Antibody [MoAb], Clone F8/86, Dako, Denmark) çalışma dilüsyonu 1/100'lük dilüsyon ile, Streptavidin-Biotin yöntemi kullanılarak boyandı. Anjiogenezis derecesinin değerlendirilmesinde Vermeulen ve arkadaşları tarafından yapılan solid tümörlerde anjiogenezis belirleme kriterleri uygulandı<sup>5</sup>. Bunun için patolog tarafından tüm kemik iliği kesiti sistematik olarak Zeiss marka mikroskopla tarandı, küçük büyütmede (32-100x) önce vasküler "hot spot"(damarlanmanın en yoğun olduğu alan) alanları belirlendi. Bu alanlar tespit edildikten sonra daha büyük büyütme geçildi (x400). Vasküler "hot spot" alanlarının kemik iliğinin selüler alanlarında olmasına dikkat edildi. Her "hot spot"ta x400'lük alanda sayım yapıldı. Herhangi bir kırmızı boyanan endotel hücresi veya endotel hücre kümesi, lümeni olsun ya da olmasın eğer komşu mikrodamarlardan, blastlardan ve diğer kemik iliği hücrelerinden ayrılabiliriyorsa tek, sayılabilir mikrodamar olarak alındı. Damar demek için lümen olması veya eritrosit olması gereği aranmadı. Eğer farklı kümeler, bir büyük damarın kesit gereği bir parçasını oluşturuyor görünseler bile ayrı mikrodamar olarak sayıldı. Endotel hücrelerine ilaveten, megakaryositler de antiWF ile boyandı fakat karakteristik boyutları ve morfolojileri ile bu hücreler mikrodamarlardan kolaylıkla ayrıldı. Her biyopsi örneğinde, kesit başına 2 bağımsız alanda "hot spot" mikrodamar sayımı yapıldı. Bir kemik iliği örneğinin mikrodamar dansitesi, tüm bağımsız alanların ortalamasını alarak hesaplandı ve x400'lik alanda mikrodamar sayısı olarak belirlendi. Kemik iliği biyopsileri hematoksilin ve eosin boyası ile de boyanıp, kemik iliği selüleritesi, blastik infiltrasyon değerlendirilmesi de yapıldı. Kemik iliği selüleritesi heterojen ise alanların ortalaması alınarak değerlendirme yapıldı.

İstatiksel analizlerde gruplar arası karşılaştırmalarda Mann Whitney U Testi, gruplar içi karşılaştırmalarda ise Wilcoxon testi yapıldı. Değişkenler arası ilişkilerin incelenmesinde Pearson korelasyon katsayısı kullanıldı. Betimleyici değerler, aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi ve istatiksel karşılaştırmalarda  $\alpha=0,05$  alındı.

**Bulgular**

Çalışmaya 6 erkek, 7 kadın olmak üzere toplam 13 hasta alındı. Hasta grubu olgularının yaş ortalamaları  $32,61 \pm 14,14$  (yaş aralığı 17-66) ve kontrol grubu 10 olgunun da yaş ortalaması  $38,80 \pm 13,64$  (yaş aralığı 22-63) olarak tespit edildi. Hasta ve kontrol grubundaki olgular arasında yaş özelliği açısından dağılım homojen bulundu ( $p > 0,05$ ). Hasta grubunun 3 akut lenfoblastik lösemi (3 ALL-L<sub>2</sub>) ve 10 akut miyeloblastik lösemi (2 AML-M<sub>3</sub>, 2 AML-M<sub>2</sub>, 6 AML-M<sub>4</sub>) olgusundan oluştuğu belirlendi (Tablo I). Kontrol grubu hastalarının ise; 6'sı Hodgkin Hastalığı, 3'ü non-Hodgkin lenfoma, 1'i meme kanseri tanılarında sahipti.

**Tablo I-** Olguların yaş, tanı, hematolojik parametre ve genetik değerlendirmesi.

No	Yaş	Tanı	Lökosit sayısı (mm <sup>3</sup> )	Hemoglobin (gr/dl)	LDH (EU/L)	Sitogenetik
1	66	AML-M <sub>3</sub>	800	10,9	213	XY
2	22	ALL-L <sub>2</sub>	366000	2,9	1082	XY
3	44	AML-M <sub>2</sub>	2900	9,0	341	XX
4	17	AML-M <sub>2</sub>	25200	10,4	349	Üreme yok
5	37	ALL-L <sub>2</sub>	98000	8,0	830	XX
6	28	AML-M <sub>4</sub>	86500	6,4	430	XY
7	21	AML-M <sub>4</sub>	2560	11,2	1156	XY
8	21	AML-M <sub>4</sub>	3200	6,8	1005	XX
9	25	AML-M <sub>4</sub>	69000	8,8	1679	XX
10	19	AML-M <sub>4</sub>	36400	7,1	666	XY
11	42	AML-M <sub>3v</sub>	89800	10,5	1490	XX
12	38	ALL-L <sub>2</sub>	88500	13,1	1524	T(9:22)
13	44	AML-M <sub>4</sub>	71300	9,3	1393	Monozomi 7
ORTALAMA			$72320 \pm 96080,13$	$8,8 \pm 2,62$	$935,23 \pm 504,11$	

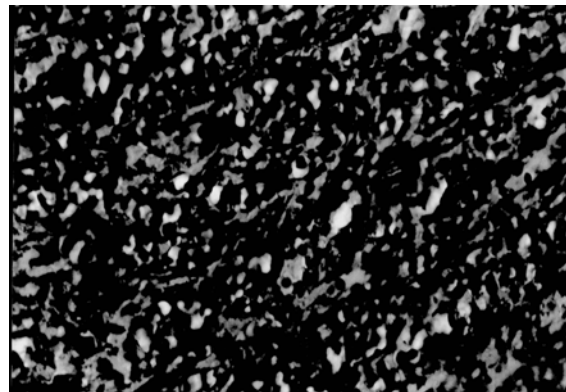
Hastaların lökosit sayısı ortalama  $72320 \pm 96080,13$  (aralık 800-366000), LDH düzeyi ortalama  $935,23 \pm 504,11$  (aralık 213-1679), hemoglobin düzeyleri ortalama  $8,8 \pm 2,62$  (aralık 2,9-13,1) bulundu. Sitogenetik analizlerinde; 1 olguda t(9:22), 1 olguda monozomi 7 saptandı, 1 olguda üreme olmadığı için değerlendirme yapılamadı, diğer hastalarda karyotip normal bulundu (Tablo I). Aktif hastalık dönemindeki lökosit sayısı, hemoglobin, LDH düzeyleri ile tanıdaki mikrodamar sayıları arasındaki ilişkiyi belirlemek için Pearson korelasyon analizi yapıldı ve anlamlı ilişki saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Aktif hastalık dönemi kemik iliğinde blast oranı ortalaması  $63,84 \pm 28,28$  (aralık 30-100) ve kemik iliği selülarite ortalaması  $87,61 \pm 12,27$  (aralık 60-99) olarak tespit edildi. Aktif hastalık dönemi kemik iliğinde blast yüzdesi ile kemik iliği selülaritesinin mikrodamar sayısı ile ilişkisine Pearson korelasyon analizi ile

bakıldığında, anlamlı ilişki saptanmadı. Aktif hastalık dönemi kemik iliğinde mikrodamar sayısı ortalaması  $16,76 \pm 5,43$  (aralık 7-26,5) ve remisyon dönemi kemik iliğinde mikrodamar sayısı ortalaması  $7,03 \pm 2,72$  (aralık 4-12,5) olarak belirlenirken, kontrol grubunda kemik iliğinde mikrodamar sayısı ortalaması  $6,25 \pm 2,36$  (aralık 3,5-11) olarak saptandı (Tablo II). Hasta grubu ile kontrol grubu mikrodamar sayısı açısından karşılaştırıldığında; hasta grubunda mikrodamar sayısının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artmış olduğu belirlendi ( $p < 0,01$ ). Aktif hastalık dönemindeki mikrodamar sayısı remisyon dönemindeki mikrodamar sayısı ile karşılaştırıldığında, aktif hastalık dönemi mikrodamar sayısının remisyon dönemine nazaran istatistiksel olarak anlamlı oranda artmış olduğu tespit edildi ( $p < 0,01$ ) (Şekil 1,2).

**Tablo II-** Hasta ve kontrol olgularının kemik iliği özellikleri ve mikrodamar sayısı

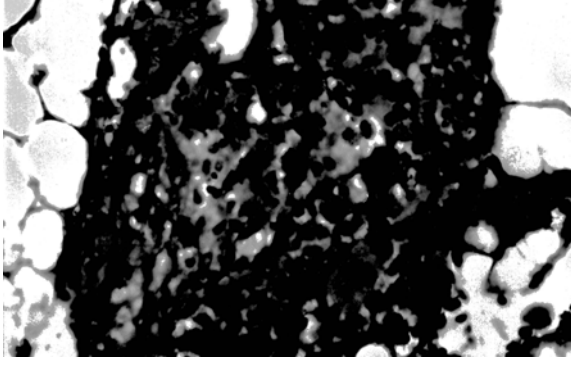
No	Kemik iliğinde Blast Oranı	Kemik iliği Selülaritesi (İlk tanıda)	Mikrodamar Sayısı (İlk tanıda)	Mikrodamar Sayısı (Tedavi sonrası)	K	Mikrodamar Sayısı (Kontrol)
1	%90	%65	17	5	1	11
2	%100	%95	22	4	2	5
3	%47	%60	13	12,5	3	6
4	%34	%85	14	4,5	4	6
5	%98	%95	20,5	4,5	5	9,5
6	%86	%95	14	7	6	5,5
7	%37	%95	21,5	7,5	7	5
8	%40	%80	26,5	11	8	7
9	%62	%90	12	9	9	4
10	%33	%95	7	6	10	3,5
11	%73	%95	22,5	8,5		
12	%100	%90	14	4		
13	%30	%99	14	8		
Ort.	$63,84 \pm 28,28$	$87,61 \pm 12,27$	$16,76 \pm 5,43$	$7,03 \pm 2,72$		$6,25 \pm 2,36$

K: Kontrol Grubu  
Ort: Ortalama



**Şekil 1:**

*Aktif hastalık döneminde kemik iliğinde lösemik infiltrasyon ve neovaskularizasyon, vWF X 400*



**Şekil 2:**  
Komplet remisyon döneminde neovaskülarizasyon,  
vWF X 400

## Tartışma

Solid tümörlerin yaşaması ve büyümesinin angiogenezise bağımlı olduğu bugün için tartışmasız bir gerçektir ve tümörün anjiyogenik aktivite derecesinin, tümörün büyümesi, kanamaya eğilimi ve metastaz potansiyeli ile direkt korelasyon gösterdiği iyi bilinmektedir. Hemopoetik neoplazmaların anjiyogenik aktivitesinin olabileceği konusu ise ilgi çekicidir, çünkü lösemik hücreler görünür bir konnektif doku stroması yokluğunda büyüyüp, kan damarları ve vücut sıvılarında dolaşmaktadır. Bu durumda lösemik hücreler de proliferasyon ve genişleme için neovaskülarizasyona ihtiyaç duymakta mıdır ve akut lösemili hastaların kemik iliğinde neden angiogenez artabilmektedir soruları akla gelmektedir<sup>18</sup>. Bu soruların cevabı bugün için tam netleşmiş değildir. Angiogenezis ve lösemi ilişkisini inceleyen ilk yayın 1997’de yapılmıştır. Bu çalışmada Perez Atayda ve arkadaşları<sup>18</sup> 40 akut lenfoblastik lösemili çocuk hastadan elde edilen kemik iliği biyopsi materyalini angiogenezis yönünden değerlendirmiş, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ALL’li çocukların kemik iliğinde mikrodamar dansitesi belirgin artmış bulunmuştur. Çalışmada ayrıca idrarda bFGF düzeylerine de bakılmış ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, lösemik grupta belirgin olarak artmış bulunmuştur. Padro ve arkadaşlarının<sup>19</sup> 62 yeni tanımlı AML hastasında yaptıkları çalışma da akut lösemilerde artmış angiogenezis desteklemektedir. Bu çalışmada 62 tedavi almamış AML hastası ile birlikte 22 kontrol olgusu alınıp, mikrodamarları göstermede VWF ve trombomodulin (TM) antikorları kullanılmıştır. Sıfırıncı günde yoğun neovaskülarizasyon alanlarının yaygın dağılımının olduğu, buralarda genelde lümeni düzgün görülmeyen mikrodamar ve endotel hücre tomurcuklarının bulunduğu gözlenmiş, kontrol olgularında ise daha büyük ve iyi şekilli damarların olduğuna dikkat çekilmiştir. Mikrodamar sayısının AML’li olgularda kontrol hastaları ile karşılaştırıldı-

ğında önemli oranda artmış olduğu da tespit edilmiştir. Angiogenezis örneklerinin antiVWF veya antiTM boya ile benzer sonuçlar verdiği ifade edilmiştir. Kemoterapinin angiogenezis üzerine etkisini değerlendirmek için, 30 AML’li hastada tedavinin 16. günü ve komplet remisyon döneminde biyopsi yapılmış ve mikrodamar dansitesinin 16. gündeki değerinin sıfırıncı gündeki değerine göre anlamlı oranda düşük olduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde komplet remisyon elde edilen dönemde yapılan biyopsilerde de, inisiyal tanı dönemine göre mikrodamar sayısında anlamlı oranda azalma gözlenmiştir. Sayı yanında morfolojik değişiklikler de dikkat çekici olmuştur. Başlangıçtaki endotelial tomurcukların kemoterapi ile tamamen ortadan kalktığı, lümeni kolaylıkla görülebilen büyük mikrodamarların ortaya çıktığı gözlenmiş ve komplet remisyon dönemindeki mikrodamarların, kontrollerdekine benzer morfoloji gösterdiği izlenmiştir. Bu çalışmada remisyon döneminde damar sayısının azalması ve morfolojinin düzelmesi başlangıçtaki angiogenezinin patolojik süreç olduğunu desteklemektedir. Blastik hücrelerin angiogenezisi nasıl stimüle ettikleri sorusu ise AML blastlarının VEGF ekspresyonu yaptığı çalışmaları ile kısmen yanıtlanmıştır<sup>20,21</sup>. VEGF’nin de en önemli anjiyogenik faktörler içinde yer aldığı göz önüne alınırsa, lösemik hücrelerin angiogenezisi stimüle etme yollarından biri aydınlanmış olabilmektedir. Yapılan çalışmalarla angiogenin gibi başka proanjiyogenik faktörlerin izolasyonu da yapılabilmektedir<sup>15</sup>. Aynı zamanda blastik hücrelerde VEGF reseptörleri de tespit edilmiş olup bunun otokrin etkiye yol açabileceği ileri sürülmüştür<sup>22</sup>.

Mevcut çalışmalar gözden geçirildiğinde angiogenezin belirlenmesinde farklı endotel işaretleyicilerin kullanılabilirdiği ve damar sayımında farklı metodlar uygulanabildiği dikkat çekmektedir. Bunun sebebi hematolojik malignitelerde angiogenezisi değerlendirmede metod ve kriterler açısından ortak bir fikir birliğinin henüz oluşturulmamış olmasıdır. Genel olarak CD34 ve CD31’in, lösemik hücrelerin bu antijenler yönünden pozitif olmaları nedeniyle hematolojik malignitelerde kullanılmaması önerilmektedir<sup>23</sup>. Her ne kadar trombomodulin antikorlarının, VWF antikorları ile karşılaştırıldığı bir çalışmada damarları işaretlemeye daha spesifik olduğu iddia edilse de bunu destekleyen yeterli çalışma bulunmamaktadır<sup>19</sup>. Bu veriler doğrultusunda biz de çalışmamızda anti-WF antikorları kullanmayı uygun bulduk. Her ne kadar megakaryositler de boya almış olsalar da tipik morfolojileri nedeniyle damarlardan ayırmada zorlanmadık. Bu yüzden anti-WF antikorlarının kemik iliğinde angiogenezis değerlendirmesi yapılmasında uygun olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda olguların lösemisinin aktif dönemindeki kemik iliği mikrodamar sayısı, tedavi sonrası dönem ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmış tespit edildi ( $p < 0,01$ ). Elde ettiğimiz bul-

## Akut Lösemili Hastalarda Anjiogenezisin...

gular remisyon döneminde damarlanmada azalma olmasının nedenini izah eden "blastların anjiogenezisi stimüle ettiği, bu yüzden kemoterapi ile blastlar ortadan kalktığına, blastlardan artık anjiogenezisi stimüle eden faktörler salınmadığı için anjiogenezisin azaldığı" düşüncesini desteklemektedir. Anjiogenezisi uyaran diğer bir faktör hipoksi olup akut lösemili hastalarda aneminin sıklıkla görülen bir bulgu olması ve bu yüzden hipoksiye bağlı anjiogenezisin artmış olabileceği<sup>23</sup> düşüncesi doğrultusunda olgularımızın Hb düzeyleri ile mikrovasküler dansite arasında ilişki olup olmadığını belirlemeye çalıştığımızda anlamlı bir ilişki olmadığını saptadık. Fakat bu konuda daha güvenilir değerlendirmelerin Hb düzeyleri çok daha düşük ve homojen olan hasta popülasyonunda yapılması gerektiği kanaatindeyiz çünkü hipoksi erken tümör gelişimi ve yayılımında eritropoetin, VEGF gibi genlerin ekspresyonunu regüle etmektedir<sup>1</sup>. Akut lösemilerde bazı parametrelerin prognostik<sup>24</sup> önemini olduğu bilinmektedir; örneğin özellikle akut lenfoblastik lösemili olgularda ilk tanıdaki artmış lökosit sayısı lösemik yükü korelasyon göstermekte ve kür oranı ile ters ilişki göstermektedir. Artmış LDH düzeyleri de tedavi başarısızlık göstergesi olabileceği yönünde değerlendirilmektedir. Çalışmamızda tümör yükü ile ilişkili bu faktörlerin, ayıca kemik iliği selülaritesi ve blast yüzdesinin de mikrodamar sayısında artışla birlikte olmadığını göstermemiz nedeniyle blastik hücrelerin anjiogenezisi stimüle etme kapasitelerinin kitlesel boyutlarından çok salgıladıkları anjiogenik mediyatörlerin özelliği ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Akut lösemilerde prognostik açıdan anlamlı olan diğer bir parametre de kötü karyotip olup, bazı kromozom anormallikleri [(örneğin t(9,22)] kötü prognoza yol açabilmektedir<sup>24</sup>. Böyle bir durum artmış anjiogenezis ile birlikte olabilir mi sorusunun cevabı henüz verilememiştir. Çalışmamızda tüm olguların karyotip analizleri yapılmış ve sadece 2 olguda kötü özellik gösteren karyotipik anormallik belirlenmiştir. Bu iki olguda (olgu 12 ve 13) mikrodamar dansitesi diğer olgularımızdaki mikrodamar dansitesinden farklılık göstermemiştir. Olgularımızda mikrodamar sayısı ile karyotip arasındaki ilişkinin belirlenmesindeki yetersizlik, olgu sayımızın fazla olmamasından kaynaklanabilir görüşü oluşmuştur. Akut lösemilerde anjiogenezisin bugün için tek başına bir prognostik faktör olup olamayacağı bilinmemektedir. Mevcut çalışmalar akut lösemilerde de anjiogenezisin artmış olduğunu destekler görünmektedir. Bu durum akut lösemilerde yeni tedavi modaliteleri oluşturma yönünde katkıda bulunabilir. Çünkü bugün için örneğin multipl miyelomda antianjiogenik tedavi ile başarılı sonuçlar elde edilebilmiş ve antianjiogenik ajanlar klinik kullanımında yerlerini almışlardır<sup>25</sup>. Benzer durum akut lösemide de gösterilebilmiş, potent antianjiogenik inhibitörler olan SU5416 ve SU6668'in lösemik

hücrelerde apoptoza yol açtığı ve bunların AML tedavisinde terapötik bir yaklaşım olabileceği önerilmiştir<sup>26</sup>.

Sonuç olarak, çalışmamızda akut lösemilerde kemik iliği mikrovasküler dansitesinde artış olduğunu, tedavi sonrası dönemde damarlanmada belirgin azalma olduğunu göstererek, akut lösemilerin patogeneğinde anjiogenezisin rol alabileceği hipotezini destekler sonuçlar bulduk. Tüm bu bulgular doğrultusunda kemoterapi ile kür şansı sınırlı olan bu hastalık grubunda, gelecekte tedavi modaliteleri içinde antianjiogenik ajanların da aktif rol alabileceği düşüncesinde olmakla birlikte bu konuda daha fazla sayıda çalışmalara ihtiyaç duyulduğu kanaatindeyiz.

## Kaynaklar

1. Talks KL, Harris AL. Current status of antiangiogenic factors. *Br J Haematol* 2000;109:477-89.
2. Mangi M, Newland AC. Angiogenesis and angiogenic mediators in haematological malignancies. *Br J Haematol* 2000;111:43-51.
3. Folkman J. Antiangiogenic therapy. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). *Cancer Principles & Practice of Oncology*, Fifth edition. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997. 3075-85.
4. Thomas DA, Giles FJ, Cortes J, Albitar M, Kantarjian HM. Antiangiogenic therapy in leukemia. *Acta Haematol* 2001;106:190-207.
5. Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, Toi M, Martin L, McCulloch P, Pezzella F, Viale G, Weidner N, Harris AL, Dirix LY. Quantification of angiogenesis in solid human tumours: an international consensus on the methodology and criteria of evaluation. *Eur J Cancer* 1996;32:2474-84.
6. Aguayo A, Kantarjian H, Manshouri T, Gidel C, Estey E, Thomas D, Koller C, Estrov Z, O'Brien S, Keating M, Freireich E, Albitar M. Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes. *Blood* 2000;96:2240-5.
7. Belgore FM, Lip GYH, Bareford D, Wadley M, Stonelake P, Blann AD. Plasma levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor, Flt-1, in haematological cancers: a comparison with breast cancer. *Am J Haematol* 2001;66:59-61.
8. Salven P, Teerenhovi L, Joensuu H. A high pretreatment serum vascular endothelial growth factor concentration is associated with poor outcome in non-hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997;90:3167-72.
9. Fiedler W, Graeven U, Ergün S, Verago S, Kilic N, Stockschröder M, Hossfeld DK. Vascular endothelial growth factor, a possible paracrine growth factor in human acute myeloid leukemia. *Blood* 1997;89:1870-5.
10. Di Raimondo F, Palumbo GA, Molica S, Giustolisi R. Angiogenesis in chronic myeloproliferative diseases. *Acta Haematol* 2001;106:177-83.
11. Vacca A, Ribatti D, Presta M, Minischetti M, Lurlaro M, Ria R, Albini A, Bussolino F, Dammacco F. Bone marrow neovascularization, plasma cell angiogenic potential, and matrix metalloproteinase-2 secretion parallel progression of human multiple myeloma. *Blood* 1999;93:3064-73.
12. Palmblad J. Angiogenesis in haematologic malignancies with focus on multiple myeloma. *Haema* 2001;4:89-98.

13. Dickson DJ, Shami PJ. Angiogenesis in acute and chronic leukemias. *Leukemia and Lymphoma* 2001;42:847-53.
14. Hussong JW, Rodgers GM, Shami PJ. Evidence of increased angiogenesis in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2000;95:309-13.
15. Verstovsek S, Kantarjian H, Aguayo A, Manshouri T, Freireich E, Keating M, Estey E, Albitar M. Significance of angiogenin plasma concentrations in patients with acute myeloid leukemia and advanced myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol* 2001;114:290-5.
16. Lai R, Estey E, Shen Y, Despa S, Kantarjian H, Beran M, Maushouri T, Quackenbush RC, Keating M, Albitar M. Clinical significance of plasma endostatin in acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome. *Cancer* 2002;94:14-7.
17. Brunner B, Gonsilius E, Schumacher P, Zwierzina H, Gastl G, Stauder R. Blood levels of angiogenin and vascular endothelial growth factor are elevated in myelodysplastic syndromes and in acute myeloid leukemia. *J Hematother Stem Cell Res* 2002;11:119-25.
18. Perez-Atayde AR, Sallan SE, Tedrow U, Connors S, Allred E, Folkman J. Spectrum of tumor angiogenesis in the bone marrow of children with acute lymphoblastic leukemia. *Am J Pathol* 1997;150:815-21.
19. Padro T, Ruiz S, Bieker R, Bürger H, Steins M, Kienast J, Büchner T, Berdel W E, Mesters RM. Increased angiogenesis in the bone marrow of patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2000;95:2637-44.
20. Aguayo A, Estey E, Kantarjian H, Mansouri T, Gidel C, Keating M, Giles F, Estrov Z, Barlogie B, Albitar M. Cellular vascular endothelial growth factor is a predictor of outcome in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 1999;94:3717-21.
21. Kini AR, Peterson LC, Tallman MS, Lingen MW. Angiogenesis in acute promyelocytic leukemia: induction by vascular endothelial growth factor and inhibition by all-trans retinoic acid. *Blood* 2001;97:3919-24.
22. De Bont ESJM, Rosati S, Jacobs S, Kamps WA, Vellenga E. Increased bone marrow vascularization in patients with acute myeloid leukemia: a possible role for vascular endothelial growth factor. *Br J Haematol* 2001;113:296-304.
23. Di Raimondo F, Palumbo GA, Azzaro MP, Giustolisi R. Angiogenesis in acute myeloid leukemia. *Blood* 2000;96:3656-7.
24. Greer JP, Baer MR, Kinney MC. Acute myelogenous leukemia. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM (eds). *Wintrobe's Clinical Hematology*. 10<sup>th</sup> edition. Egypt: Mass Publ CO, 1999. 2288-90.
25. Kneller A, Raanani P, Hardan I, Avigdor A, Levi I, Berkowicz M, Ben-Bassat I. Therapy with thalidomide in refractory multiple myeloma patients-the revival of an old drug. *Br J Haematol* 2000;108:391-3.
26. Smolich BD, Yuen HA, West KA, Giles FJ, Albitar M, Cherrington JM. The antiangiogenic protein kinase inhibitors SU5416 and SU6668 inhibit the SCF receptor (c-kit) in a human myeloid leukemia cell line and in acute myeloid leukemia blasts. *Blood* 2001;97:1413-21.