Downloaded from journal.bums.ac.ir at 21:36 IRST on Monday November 20th 2017

بررسی آنژیوژنز در لوسمی‌های حاد و مقایسه آن با بافت طبیعی مغز استخوان

دکتر محمد هادی صادقیان[1]- دکتر نوریه شریفی[2]- دکتر حسین آیت‌اللهی[3]- دکتر محمد خواجه دلویی[4]

چکیده

زمینه و هدف: آنژیوژنز نقش عمده‌ای در تهاجم و متاستاز تومورهای بدن دارد. در برخی از سرطان‌ها رابطه بین آنژیوژنز و پیش‌آگهی بد بیماری بخوبی نشان داده شده است؛ اما در مورد آنژیوژنز در نئوپلاسم‌های هماتولوژیک مطالعات بسیار محدودی انجام شده است. تحقیق حاضر با هدف انجام مقایسه‌ای بین بافت طبیعی و درگیری لوسمیک مغز استخوان از نظر آنژیوژنز که با MVD (Microvessel Density) ارزیابی می‌گردد، انجام شد.

روش تحقیق: در این مطالعه مورد- شاهدی، بامراجعه به بایگانی بخش آسیب‌شناسی بیمارستان قائم (عج) مشهد، تعداد ۳۰ مورد لوسمی حاد (بافت مغز استخوان) و۳۰ مورد بافت طبیعی مغز استخوان انتخاب شدند. لام‌ها و بلوک‌های آنها استخراج و لام‌ها بازبینی شدند. پس از تایید نهایی از بلوک‌های پارافینی برش نازک تهیه شد و بر روی برش‌ها رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی با نشانگر عامل رشد سلول‌های اندوتلیال (VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor) انجام شد. پس از تهیه لام‌های مناسب، تعداد عروق کوچک یا MVD از شمارش عروق در نقاط با حداکثر تراکم عروقی (Hot Spot) در میدان دید میکروسکوپی با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر گزارش گردید.

یافته‌ها: میزان MVD یا آنژیوژنز در لوسمی حاد (۲۰/۲) به طور مشخصی بیشتر از افراد گروه شاهد (۶/۹) بود. از نظر آماری تفاوت در میزان MVD بین دو گروه بیماران مبتلا به لوسمی حاد و بافت طبیعی معنی‌دار بود ($P<0/001$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این تحقیق، نشان داد که آنژیوژنز در لوسمی حاد به طور مشخصی بیشتر از افراد گروه شاهد (دارای بافت طبیعی) است اما تفاوت چندانی بین دو گروه لوسمی حاد لنفوبلاستیک و میلوبلاستیک وجود ندارد .

واژه‌های کلیدی: سرطان خون؛ تراکم عروقی کوچک؛ ایمنوهیستوشیمی؛ آنژیوژنز

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند (دوره ۱۵؛ شماره ۲؛ تابستان سال ۱۳۸۷)

دریافت: ۱۳۸۶/۵/۲۷ اصلاح نهایی: ۱۳۸۶/۹/۲۹ پذیرش: ۱۳۸۶/۱۰/۱۱

[1] نویسنده مسؤول؛ استادیار گروه آموزشی آسیب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد (گروه خون‌شناسی و بانک خون)
آدرس: مشهد- بیمارستان قائم- بخش هماتولوژی
تلفن: ۰۵۱۱-۸۰۱۲۵۸۴ نمابر: ۰۵۱۱-۸۴۰۹۶۱۲ پست الکترونیکی: sadeghianmh@mums.ac.ir
[2] دانشیار گروه آموزشی آسیب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
[3] استادیار گروه آموزشی آسیب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد (گروه خون‌شناسی و بانک خون)
[4] دانشیار گروه آموزشی پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 21:36 IRST on Monday November 20th 2017

مقدمه

سرطان‌های سیستم خون‌ساز از شایعترین بدخیمی‌های بدن محسوب می‌گردند. بر اساس طبقه‌بندیهای گروه فرانسوی، آمریکایی، بریتانیایی* و سازمان بهداشت جهانی، ضایعات رده میلوئید و لنفوئید در گروههای جداگانه‌ای تقسیم‌بندی می‌شوند (۱). شایعترین نوع لوسمی حاد در کودکان، لوسمی لنفوبلاستیک حاد† و در بالغین لوسمی میلوبلاستیک حاد‡ است(۲). بر اساس گزارش انستیتو کانسر آمریکا، میزان بروز سالیانه لوسمی لنفوبلاستیک حاد بدون در نظر گرفتن سن، ۱/۴ در هر ۱۰۰/۰۰۰ است. میزان بروز لوسمی میلوبلاستیک حاد با افزایش سن بیشتر شده، حداکثر شیوع آن در سن ۶۸ سالگی بوده و میزان بروزآن ۳/۴ در هر ۱۰۰/۰۰۰ است (۳).

در کشور ما نیز این سرطان شایع است؛ اگرچه آمار دقیقی در دسترس نیست ولی بر اساس گزارش کشوری، ثبت موارد سرطانی در سال ۱۳۸۲ انجام شده توسط مرکز مدیریت بیماریهای وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی در این سال ۶۷۷ مورد لوسمی در زنان و ۱۰۵۷ مورد در مردان گزارش شده که این بیماری هشتمین سرطان شایع بدن بوده و در کل ۴/۰۲٪ سرطان‌های زنان و ۴/۸۹٪ سرطان‌های مردان را شامل می‌شود؛ البته همان‌طور که در قسمت نتیجه‌گیری این گزارش ذکر شده است، به علت گوناگونی مراکز تشخیصی لوسمی‌ها و عدم ارائه آمار از طرف برخی از مراکز، ارقام ارائه شده بسیار کمتر از مقدار واقعی آن است (۴).

به جهت شیوع بیماری شناسایی عوامل مؤثر در پاتوژنز بیماری اهمیت زیادی دارد. در سالهای اخیر آنژیوژنز در بدخیمی‌های هماتولوژیک از جنبه‌های مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است؛ برای مثال رابطه افزایش عامل رشد سلول‌های اندوتلیال و عامل رشد فیبروبلاستی§ که از پپتیدهای مهم رگساز هستند، با مشخصات کلینیکی لوسمی‌ها و همچنین رابطه‌ای از افزایش MVD با طول عمر بیماران مبتلا به میلوم متعدد گزارش شده است (۵).

آنژیوژنز یا رگسازی، عنصری مهم برای پیشرفت تومورها بوده و با تشکیل عروق مویرگی از عروق قبلی موجود در بافت تعریف می‌گردد. تومورها برای رشد به مواد غذایی که توسط عروق به آنها ارائه می‌شود، نیازمندند و با تحریک رگسازی این نیاز خود را فراهم می‌کنند. تومورها نمی‌توانند بدون آنژیوژنز، قطری بیش از ۱-۲ میلیمتر پیدا کنند و با افزایش اندازه بیش از این مقدار در اثر هیپوکسی سلول‌ها دچار آپوپتوز می‌شوند. آنژیوژنز نه تنها برای رشد تومور اولیه بلکه برای بروز متاستاز نیز ضروری است؛ بدین جهت آنژیوژنز یک عنصر بیولوژیک ضروری برای بدخیمی‌ها محسوب می‌شود (۵،۶).

آنژیوژنز در تومورهای سولید بدن نظیر سرطان پستان، ریه، کولون و تیروئید در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (۷-۱۰).

علاوه بر تومورهای سولید، تعدادی مقاله در مورد آنژیوژنز در نئوپلاسم‌های هماتولوژیک نیز وجود دارد که مؤید اثر آنژیوژنز بر پیش‌آگهی و همین طور عاملی مؤثر در تعیین خط مشی درمان بیماران مبتلا به انواع مختلف بدخیمی‌های هماتولوژیک است (۱۱-۱۳).

در کشور ما نیز تحقیقات انجام شده بیشتر بر وضعیت آنژیوژنز در تومورهای سولید متمرکز بوده است (۸-۱۰). با توجه به شیوع نسبتاً بالای لوسمی در کشور ما، شناخت عوامل مؤثر بر پاتوژنز، پیش‌آگهی و درمان این بیماران ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه بر آن شدیم که از روش ارزشمند ایمنوهیستوشیمی با استفاده از VEGF** که نشانگر مناسبی برای سلول‌های اندوتلیال عروق است، به بررسی میزان آنژیوژنز در نمونه‌های بیماران مبتلا به لوسمی حاد پرداخته و مقایسه‌ای با بافت طبیعی انجام دهیم. بدیهی

* French-American-British (FAB)
† Acute lymphoblastic leukemia (ALL)
‡ Acute myeloblastic leukemia (AML)
§ Basic fibroblastic growth factor (bFGF)

** Vascular Endothelial Growth Factor

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 21:36 IRST on Monday November 20th 2017

است در صورت اثبات افزایش آنژیوژنز (و میزان عروق کوچک درون تومور) درمان ضایعه به سمت کنترل آنژیوژنز گرایش خواهد یافت.

روش تحقیق

جهت انجام این تحقیق که نوعی مطالعه مورد- شاهدی محسوب می‌گردد، با مراجعه به بایگانی بخش آسیب‌شناسی بیمارستان قائم (عج) مشهد، از بین نمونه‌های بیوپسی مغز استخوان در سالهای اخیر (۱۳۷۶-۱۳۸۶) که بافت کافی و مناسب برای بررسی ایمنوهیستوشیمی داشتند، ۳۰ مورد بافت لوسمی حاد و تعداد ۳۰ مورد بافت طبیعی مغز استخوان به عنوان گروه شاهد انتخاب گردید. اطلاعات بالینی بیماران از پرونده موجود در بخش آسیب‌شناسی و اسلایدهای آنها از بایگانی استخراج شد. اسلایدهای دو گروه مورد و شاهد توسط دو آسیب‌شناس به منظور تأیید تشخیص، کفایت نمونه‌ها مجدداً بررسی گردید. در صورت عدم مناسب بودن لام‌ها، برش مجدد و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H & E) برای آنها انجام شد. به منظور تایید و تکمیل اطلاعات بیماران، نتایج آسپیراسیون مغز استخوان نیز از بایگانی بخش هماتولوژی و از پرونده بیماران، مورد بررسی قرار گرفت؛ همچنین در صورت لزوم اسلایدهای آسپیراسیون مغز استخوان جهت تایید نوع لوسمی که بر اساس معیارهای FAB طبقه‌بندی شده بودند، بازبینی شد؛ مغز استخوان طبیعی نیز به عنوان نمونه‌های شاهد از بیوپسی‌هایی که برای درگیری مغز استخوان از نظر لنفوم فرستاده شده و منفی گزارش شده بودند، انتخاب گردید.

بعد از تایید نهایی از نظر تشخیص، کیفیت و کفایت نمونه‌ها، بلوک‌های پارافینی اسلایدهای مربوطه از بایگانی استخراج و از روی آن برشهایی نازک به ضخامت حدوداً ۴ میکرون تهیه شد. در مرحله بعد، از برشها به مدت ۲۴ ساعت در حرارت هوای اتاق نگهداری شد (انکوباسیون)؛ سپس پارافین‌زدایی با گزیلل و بعد آب‌دهی با استفاده از الکل با درجات خلوص مختلف انجام شد. جهت بازیافت آنتی‌ژن از محلول بافر نیترات ۰/۰۱ مولار در محیط مایکروویو به مدت ۱۲ دقیقه استفاده شد و سپس رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی به روش آویدین- بیوتین- پراکسیداز و با استفاده از نشانگر VEGF انجام شد. آنتی بادی مونوکلونال به کار رفته در این طرح دارای مشخصات زیر بود:

-Monoclonal mouse antihuman Vascular Endothelial Growth Factor

-Dacocytomatin , Dennmark, code: M 7273, clone:VG1

در مرحله آخر نیز از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین مایر به جهت رنگ‌آمیزی زمینه لام استفاده شد و پس از آب‌گیری لامل چسبانده شد.

اسلایدهای ایمنوهیستوشیمی تهیه شده بعد از تطابق با برشهای اولیه توسط دو نفر متخصص آسیب‌شناسی بررسی و تفسیر شدند. از آنجا که روش ایمنوهیستوشیمی یک فرایند تشخیصی چند مرحله‌ای است، بنابراین باید در انتخاب بافت، فیکساسیون، پاساژ بافتی و رنگ‌آمیزی دقت فراوان به کار رود. در حد امکانات و توان سعی شد اسلایدهای مناسب جهت رنگ‌آمیزی انتخاب و کنترل دقیق در مراحل رنگ‌آمیزی بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام گیرد تا از نتایج مثبت و منفی کاذب پیشگیری شود. ضمن این که بررسی لام‌ها توسط دو نفر متخصص آسیب‌شناسی انجام شد تا خطای دید احتمالی به حداقل برسد. جهت تهیه شاهد منفی، آنتی‌بادی از محیط آزمایش حذف و در مورد شاهد مثبت از عضله رحمی با مقاطع عروقی مشخص استفاده گردید.

جهت تعیین تراکم عروقی به این ترتیب عمل شد که ابتدا با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر میکروسکوپ نوری از نوع OLYMPUS مدل CH30، تمام طول بیوپسی مغز استخوان رویت شد؛ سپس کانونی با بیشترین تراکم مقاطع عروقی و سلول‌های آندوتلیال رنگ گرفته انتخاب و در

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 21:36 IRST on Monday November 20th 2017

بزرگنمایی ۴۰۰ برابر شمارش مقاطع عروقی در آن کانون انجام شد و تعداد آنها به عنوان MVD گزارش گردید. عروق دارای دیواره عضلانی و عروق پریوست استخوان شمارش نشدند.

لازم به توضیح است اگر چه در مطالعات قبلی انجام شده نشانگر VIII-R (عامل فون ویلبراند)، اغلب مورد استفاده قرار گرفته ولی چون در بررسیهای ما نتایج رنگ‌آمیزی با این نشانگر و مقایسه آن با شاهدهای مثبت و منفی رضایت‌بخش نبود، نشانگر عروقی (ایمنوهیستوشیمی) دیگری به نام VEGF مورد استفاده قرار گرفت که در مقایسه با شاهدهای مثبت و منفی نتایج قابل قبول و رضایت‌بخشی داشت؛ همچنین نشانگر CD34 به علت راکتیویتی در سلول‌های بلاست سبب نتایج مثبت کاذب می‌شد.

این بررسی بر روی بلوک‌های پارافینی نگهداری شده در بایگانی بیمارستان انجام شد و از بیماران نمونه‌گیری مجدد به عمل نیامد و از طرف دیگر با توجه به محفوظ‌ماندن مشخصات فردی بیماران، سعی شد تا حد ممکن نکات اخلاقی و اخلاق پزشکی رعایت گردد.

نتایج حاصله از ایمنوهیستوشیمی در دو گروه شاهد و مورد در رایانه ثبت و به کمک نرم‌افزار SPSS (11.5) و با استفاده از آزمون Kolmogorov- Smirnov توزیع نرمال داده‌ها تایید گردید و ارزیابی آماری با استفاده از آزمون t در سطح معنی‌داری $P\leq ۰/۰۵$ انجام گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه تعداد ۳۰ مورد بافت طبیعی مغز استخوان و ۳۰ مورد لوسمی حاد شامل ۱۰ مورد لوسمی میلوبلاستیک حاد و۲۰ مورد لوسمی لنفوبلاستیک حاد انتخاب شدند و میزان تراکم عروق کوچک یا MVD در نقاط حداکثر تراکم یا نقاط داغ بررسی گردید. در کنار آن عواملی نظیر سن، جنس، نوع لوسمی و زیر گروههای آن مورد بررسی قرار گرفتند و ارتباط آن با MVD ارزیابی شد.

بیماران مبتلا به لوسمی میلوبلاستیک حاد در مطالعه حاضر شامل یک مورد M0، یک مورد M1، پنج مورد M2، یک مورد M3، دو مورد M4 و بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد شامل پنج مورد L1، چهارده مورد L2 و یک مورد L3 بود.

از ۳۰ بیمار لوسمی مورد بررسی قرار گرفته ۲۰ بیمار (۶۶/۷٪) مرد و ۱۰ بیمار (۳۳/۳٪) زن بودند. کمترین سن بیماران ۱۷ و بیشترین ۷۱ سال با میانگین سنی ۳۶/۲ سال بود.

در بین ۱۰ بیمار لوسمی میلوبلاستیک حاد مورد بررسی قرار گرفته ۶ بیمار (۶۰٪) مرد و ۴ بیمار (۴۰٪) زن،کمترین سن بیماران ۱۷ سال، بیشترین سن ۷۱ سال و میانگین سنی ۳۷/۳ سال بود؛ همچنین از ۲۰ بیمار لوسمی لنفوبلاستیک حاد مورد بررسی قرار گرفته ۱۴ بیمار (۷۰٪) مرد و ۶ بیمار (۳۰٪) زن بودند. کمترین سن بیماران ۱۷ و بیشترین ۶۸ سال با میانگین سنی ۳۵/۷ سال بود.

در بیماران مبتلا به لوسمی حاد، کمترین و بیشترین میزان تراکم عروق کوچک به ترتیب ۱۷ و ۲۴ و میانگین ۱/۸±۲۰/۲ و در گروه شاهد این اعداد به ترتیب ۵، ۱۲ و ۱/۷±۶/۹ بود. از نظر آماری تفاوت در میزان MVD بین دو گروه بیماران مبتلا به لوسمی حاد و بافت طبیعی معنی‌دار بود ($P<۰/۰۰۱$) ($t=۲۹/۶$).

در بین بیماران مبتلا به لوسمی میلوبلاستیک حاد، کمترین و بیشترین میزان تراکم عروق کوچک به ترتیب ۱۷ و ۲۳ با میانگین ۲۰/۳۰ و در بین بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد، به ترتیب ۱۷ و ۲۴ با میانگین ۲۰/۱۵ بود. بین دو گروه بیماران مبتلا به AML وALL میزان تفاوت MVD معنی‌دار نبود ($P=۰/۸۳$).

همچنین میانگین MVD در زیرگروههای لوسمی حاد، به ترتیب ۲۳ در M0، ۲۲ در M1، ۱۸/۸ در M2، ۲۲ در M3، ۲۱ در M4، ۲۰/۴ در L1، ۲۰/۱ در L2 و ۲۰ در L3 بود (جدول ۱).

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 21:36 IRST on Monday November 20th 2017

جدول ۱- مقادیر MVD در زیر گروههای لوسمی حاد

نوع لوسمی	تعداد لوسمی	درصد لوسمی	حداقل MVD	حداکثرMVD	متوسطMVD	انحراف معیار	در محدوده ۹۵٪	
							حد پایین	حد بالا
AML-M0	۱	۳,۳	۲۳,۰۰	۲۳,۰۰	۲۳,۰۰	–	–	–
AML-M1	۱	۳,۳	۲۲,۰۰	۲۲,۰۰	۲۲,۰۰	–	–	–
AML-M2	۵	۱۶,۷	۱۷,۰۰	۲۱,۰۰	۱۸,۸۰	۲,۰۴	۱۶,۲۵	۲۱,۳۴
AML-M3	۱	۳,۳	۲۲,۰۰	۲۲,۰۰	۲۲,۰۰	–	–	–
AML-M4	۲	۳,۳	۲۱,۰۰	۲۱,۰۰	۲۱,۰۰	۰,۰۰	۲۱,۰۰	۲۱,۰۰
ALL-L1	۵	۱۶,۷	۱۹,۰۰	۲۲,۰۰	۲۰,۴۰	۱,۱۴	۱۸,۹۸	۲۱,۸۱
ALL-L2	۱۴	۴۶,۷	۱۷,۰۰	۲۴,۰۰	۲۰,۰۷	۱,۸۹	۱۸,۹۷	۲۱,۱۶
ALL-L3	۱	۳,۳	۲۰,۰۰	۲۰,۰۰	۲۰,۰۰	–	–	–

با توجه به این که تعداد بیماران مورد مطالعه قرار گرفته در بعضی از زیرگروههای لوسمی حاد، بسیار کم بود، بررسیهای آماری در بین چند زیرگروه شایعتر متمرکز گردید. بر این اساس بین L2 و M2 (P=۰/۲۲) و بین L1 و M2 (P=۰/۱۶) و بین L1 و L2 با (P=۰/۷۲) تفاوت معنی‌داری از نظر آماری در میزان MVD به دست نیامد.

بحث

آنژیوژنز را می‌توان با روشهای مختلفی بررسی کرد. یکی از این روشها ایمنوهیستوشیمی با یکی از نشانگرهای سلول‌های اندوتلیال نظیر VIII-R، CD31، CD34، VEGF و .... است (۱۵،۱۴،۴). در این روش تعداد عروق کوچک (MVD) موجود در فیلد میکروسکوپ به عنوان معیاری از آنژیوژنز گزارش می‌شود. روش دوم استفاده از روشهای مختلف و غیرتهاجمی رادیولوژی نظیر سونوگرافی داپلر، MRI* و PET† است. روش دیگر اندازه‌گیری مقدار سرمی و یا بافتی پپتیدهای محرک و مؤثر در آنژیوژنز نظیر VEGF، bFGF، عامل رشد مشتق شده از پلاکت‡، عامل رشد اپیدرمال§، اینترلوکین ۱و ۶ و همچنین اندوستاتین** بوده که در بین اینها دو پپتید اول مهمتر هستند (۴-۱۶).

بر اساس مطالعه Padro و همکاران که به روش ایمینوهیستوشیمی انجام شد، ۶۲ بیمار مبتلا به AML با نشانگرهای ترومبومدولین و عامل فون ویلبراند بررسی شدند و MVD از میانگین نتایج در سه کانون داغ با بزرگنمایی ۵۰۰ برابر میکروسکوپ گزارش گردید. بر اساس نتایج آنها MVD در بیماران AML بالاتر از گروه شاهد (به ترتیب ۲۴ و ۱۱/۲) بود؛ همچنین با درمان، مقدار MVD کاهش می‌یافت که این کاهش در رمیشن(Remission) کامل بیشتر از رمیشن ناکامل بود. آنها نتیجه گرفتند که درمانهای ضدّ آنژیوژنز، می‌تواند راهبرد جدید در درمان AML باشد (۱۷).

در مطالعه دیگری بیست بیمار مبتلا به AML به همراه ۲۰ نمونه طبیعی مغز استخوان با استفاده از نشانگرهای ULEX-E و عامل فون ویلبراند بررسی شدند و تعداد عروق در طول نمونه شمرده شد و عدد به دست بر مقدار طول مغز استخوان تقسیم گردید و نتایج به صورت تعداد عروق در میلیمتر مغز استخوان گزارش شد. نمونه طبیعی از نمونه‌هایی

* Magnetic resonance imaging
† positron emission tomography
‡ Platelet-derived growth factors (PDGF)
§ Epidermal growth factor (EGF)
** Endostatin

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 21:36 IRST on Monday November 20th 2017

که برای درگیری مغز استخوان از نظر لنفوم و یا ارزیابی پان سیتوپنی ارسال شده و منفی گزارش شده بودند، انتخاب گردید. بر اساس نتایج آنها تعداد عروق در لوسمی میلوبلاستیک حاد و نمونه طبیعی به ترتیب ۸/۳ و ۴/۳ با نشانگر ULEX-E و اعداد ۸/۶ و ۴/۹ با نشانگر عامل فون ویلبراند به دست آمد که این اختلاف بین دو گروه شاهد و مورد از نظر آماری معنی‌دار بود اما بین زیر گروههای لوسمی چنین رابطه‌ای به دست نیامد (۱۸).

بر اساس مطالعه‌ای دیگر در کره جنوبی، میزان آنژیوژنز از سنجش MVD با نشانگرهای Fas-ligand (FasL) و عامل فون ویلبراند و مقدار VEGF در بافت مغز استخوان ۴۳ بیمار مبتلا به در لوسمی میلوبلاستیک حاد و همچنین ۱۸ نمونه طبیعی ارزیابی شد. مقدار MVD از میانگین نتایج در دو کانون داغ با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر میکروسکوپ گزارش گردید.

هر سه معیار به طور مشخصی در بیماران AML بالاتر از افراد گروه شاهد بود و با درمان، میزان آنها کاهش می‌یافت. مقدار MVD با نشانگر عامل فون ویلبراند در بیماران AML و در گروه شاهد به ترتیب و ۱۴/۳±۳۱/۹ و ۲/۸±۹/۱ و با نشانگر FasL به ترتیب و ۲۷/۲±۵۵/۱ و ۱۰/۳±۱۲/۸ بود.

همان‌طور که در مقاله ذکر شده اعداد به دست آمده از دو نشانگر به کار رفته با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند. بر اساس مطالعه آنها رابطه‌ای بین میزان MVD و تعداد درصد بلاست مغز استخوان مشاهده گردید (۱۹) در صورتی که درمطالعه Padro چنین رابطه‌ای گزارش نشد (۱۷).

بر اساس مطالعه‌ای در چین میزان MVD در بیوپسی مغز استخوان در فیلد ۴۰۰ برابر میکروسکوپی، همین‌طور مقدار VEGF در مایع آسپیره مغز استخوان بررسی گردید. بر اساس نتایج آنها میزان MVD در بیماران (۲۲/۸۲) به طور مشخصی بیشتر از افراد گروه شاهد (۷/۱۷) بود. در هنگام رمیشن میزان MVD معادل ۸/۵۷ بود و در هنگام عود یا لوسمی مقاوم به درمان میزان MVD ۲۱/۸۳ بود که تفاوت چندانی با MVD بیماران نداشت. بر اساس مطالعه آنان میزان MVD در ALL معادل ۲۳/۰۹ و در ANLL معادل ۲۲/۳۷ بود که تفاوت چندانی بین این دو گروه مشاهده نشد؛ همچنین بین زیرگروههای AML نیز تفاوت زیادی وجود نداشت. بر اساس مطالعه آنها رابطه‌ای بین میزان MVD و تعداد درصد بلاست مغز استخوان مشاهده گردید (۲۰).

همان‌طور که مشخص است به دلیل فقدان دستورالعمل استاندارد برای تعیین MVD، روشهای به کار رفته توسط محققین و نیز بزرگنمایی میکروسکوپی مورد استفاده و احتمالاً نوع میکروسکوپ به کار رفته با یکدیگر متفاوت است؛ بنابراین بدیهی است که اعداد به دست آمده کمی با یکدیگر تفاوت دارند. اما نتایج مطالعه حاضر بسیار مشابه مطالعات یاد شده بخصوص مطالعه آخری بود؛ بدین صورت که میزان MVD یا آنژیوژنز در لوسمی حاد، به طور مشخصی بیشتر از افراد گروه شاهد بود. تفاوت چندانی بین آنژیوژنز در دو گروه لوسمی حاد لنفوبلاستیک و میلوبلاستیک و همچنین بین زیرگروههای آنها وجود نداشت.

پاسخ به درمان لوسمی‌ها با داروهای ضدّ آنژیوژنز (نظیر تالیدومید) نیز توسط بعضی از محققین مورد بررسی قرار گرفته است. Steins و همکاران ۲۵٪ پاسخ درمانی را با تالیدومید گزارش کردند (۲۱).

نتیجه‌گیری

آنژیوژنز در لوسمی حاد افزایش یافته و به طور مشخصی بیشتر از افراد گروه شاهد بود اما تفاوت چندانی بین دو گروه لوسمی حاد لنفوبلاستیک و میلوبلاستیک وجود ندارد. در مطالعه حاضر از هر بیمار یک برش از محل مناسب انتخاب و مورد رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی قرار گرفت. بدیهی است تهیه برشهای فراوان‌تر تخمین دقیق‌تری از میزان MVD به دست خواهد داد؛ همچنین پیگیری بیماران ارتباط MVD با میزان پیش‌آگهی را روشن خواهد ساخت.

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 21:36 IRST on Monday November 20th 2017

تقدیر و تشکر

نتایج حاصل از این مطالعه مربوط به طرح پژوهشی با عنوان"بررسی آنژیوژنز در لوسمی‌های حاد و مقایسه آن با بافت طبیعی مغز استخوان" است که با شماره ۸۴۳۵۶ از طرف معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به تصویب رسیده است؛ بدین وسیله از آن معاونت محترم و شورای محترم پژوهشی دانشگاه تشکر می‌گردد.

همچنین از زحمات و همکاری بی‌دریغ کارکنان محترم بخش آسیب‌شناسی بیمارستان قائم (عج)، بویژه آقای مطهری و خانم برازنده که در تهیه و رنگ‌آمیزی لام‌ها نهایت همکاری را داشته‌اند، قدردانی می‌گردد.

منابع:

1- Greer JP, Rodgers GM, Paraskevas F, Foerster J, Lukens JN, Glader B. Wintrob's Clinical Hematology. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004: p: 1916.

2- Hutchison RE, Abraham NZ. Leukocytic Disorders .In: McPherson RA, Pincus MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 21st ed. Pennsylvania: Elsevier Saunders; 2007.p: 565.

3- Ries LAG, Esiner MP , Kosary CL, Hankey BF, Miller BA, Clegg L, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1973-1999. Bethesda, MD: National cancer institute, 2002; 1-23.

4- Ministry of Health & Medical Education, Center for disease control, Cancer Control Office: Iranian annual cancer registration report 2003. 2005; 2-3.

5- Moehler TM, Ho AD, Goldschmidt H, Barlogie B: Angiogenesis in hematologic malignancies. Crit Rev Oncol Hematol. 2003; 45 (3): 227-44.

6- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran pathologic basis of disease .7th ed. Pennsylvania: Elsevier Saunders; 2004. p: 309.

7- Guo J, Higashi K, Ueda Y, Oguchi M, Takegami T, Toga H, et al: Microvessel density: correlation with 18F-FDG uptake and prognostic impact in lung adenocarcinomas. J Nucl Med. 2006; 47 (3): 419-25.

8- Sadeghian MH, Sharifi N, Shakeri MT. Microvessel density in ductal carcinoma of breast and comparison with normal breast tissue. Iranian J Med Sci. 2006; 4 (8): 246-51.

9- Javadi P, Haeri H. Tumor angiogenesis in colorectal cancer, correlation with tumor extension and invasion. J Tehran Faculty of Med. 2001; 4 (59): 50-56.

10- Tavangar SM, Hojjati SR, Larijani B. The study of angiogenesis in malignant thyroid neoplasms with immunohistochemistry method. Iranian J Endocrinol Metabol. 2005; 27 (7): 213-16.

11- 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 (3): 815-21.

12- Rabitsch W, Sperr WR, Lechner K, Chott A, Prinz E, Valent P, et al. Bone marrow microvessel density and its prognostic significance in AML. Leuk Lymphoma. 2004; 45 (7): 1369-73.

13- Mesters RM, Padró T, Steins M, Bieker R, Retzlaff S, Kessler T, et al. Angiogenesis in patients with hematologic malignancies. Onkologie. 2001; 24 Suppl 5: 75-80.

14- Panteli K, Zagorianakou N, Bai M, Katsaraki A, Agnantis NJ, Bourantas K.1Hematology:Angiogenesis in chronic myeloproliferative diseases detected by CD34 expression. Eur J Haematol. 2004; 72 (6): 410-15.

15- Kuzu I, Beksac M, Arat M, Celebi H, Elhan AH, Erekul S. Bone marrow microvessel density (MVD) in adult acute myeloid leukemia (AML): therapy induced changes and effects on survival. Leuk Lymphoma. 2004; 45 (6): 1185-90.

16- Wrobel T, Mazur G, Kapelko K, Kuliczkowski K. Endostatin serum level in acute myeloid leukemia. Neoplasma. 2005; 52 (2): 182-84.

17- Padro T, Ruiz S, Bieker R, Burger H, Steins M, Kienast J, et al. Increased angiogenesis in the bone marrow of

patients with acute myeloid leukemia. Blood. 2000; 95 (8): 2637-44.

18- Hussong JW, Rodgers GM, Shami PJ. Evidence of increased angiogenesis in patients with acute myeloid leukemia, Blood. 2000; 95 (1): 309-13.

19- Lee JJ, Chung IJ, Park MR, Ryang DW, Park CS, Kim HJ. Increased angiogenesis and Fas-ligand expression are independent processes in acute myeloid leukemia. Leuk Res. 2001; 25 (12): 1067-73.

20- Ye XJ, Wang LJ, Lin MF, Ding W. The clinical significance of angiogenesis in the bone marrow of acute leukemia patients. Zhonghua Nei Ke Za Zhi. 2003; 42 (7): 486-89.

21- Steins MB, Bieker R, Padro T, Kessler T, Kienast J, Berdel WE, et al. Thalidomide for the treatment of acute myeloid leukemia. Leuk Lymphoma. 2003; 44 (9): 1489-93.

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 21:36 IRST on Monday November 20th 2017

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 21:36 IRST on Monday November 20th 2017

Title: Angiogenesis in acute leukemia and comparing it with normal bone marrow

Authors: MH. Sadeghian[1], N. Sharifi[2], H. Ayatallahi[3], M. Khajeh Daloei[4]

Abstract:

Background and Aim: Angiogenesis is essential in the progression and metastasis of solid tumors. It has been proved that increase in angiogenesis within primary solid tumors is actually associated with nodal metastasis and risk prognosis of some malignancies. In contrast, regarding hematologic neoplasms very limited studies have been done. The goal of the present study was to determine MVD (Microvessel density) in acute leukemia and compare it with MVD in normal tissues.

Materials and Methods: In this study 30 cases with acute leukemia and 30 normal controls were selected. These had been diagnosed and archived in the pathology department of Mashhad Ghaem hospital .Their blocks and slides were prepared and examined. After their final approving, the paraffin blocks were thinly sliced and the slices were immunohistochemically stained for VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) Immunohistochemical slides were evaluated for hot spots of MVD in the tissue in the microscopic field of vision with 400 times magnification.

Results: MVD or angiogenesis in acute leukemia was 20.2% which was obviously more than that in the controls (6.9%).The difference between the two groups was statistically significant ($P<0.001$).

Conclusion: Angiogenesis in acute leukemia is significantly higher compared with the controls (who had normal tissues).But there was no significant difference between acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia.

Key Words: Acute Leukemia; Microvessel density (MVD); Immunohistochemistry; Angiogenesis

[1] Corresponding author, Assistant Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences (Cooperating in the Blood Bank and Serology Units). Mashhad, Iran sadeghianmh@mums.ac.ir
[2] Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[4] Associate Professor, Department of Community Medicine, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran