

## مطالعه ارتباط بین تعداد سلول‌های اندوتلیال خون محیطی و سطح فاکتور فون ویلبراند با دیگر یافته‌های هماتولوژیک در لوسمی لنفوسیتی مزمن

سمانه حیدرپوریان<sup>۱</sup>، دکتر مینو شهیدی<sup>۲</sup>، دکتر احمد کاظمی<sup>۳</sup>،  
دکتر محسن رضوی<sup>۴</sup>، دکتر علی باسی<sup>۵</sup>، پریسا حیات<sup>۵</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** لوسمی لنفوسیتی مزمن یک اختلال لنفوپرولیفراتیو مزمن است که پیش آگهی بسیار متغیری دارد؛ به همین جهت بررسی فاکتورهای پیش آگهی دهنده این بیماری در تشخیص و شناسایی بیماران با پیش آگهی وخیم‌تر می‌تواند بسیار کمک‌کننده باشد. هدف از این مطالعه تعیین ارتباط تعداد سلول‌های اندوتلیال خون محیطی و سطح فاکتور فون ویلبراند با دیگر یافته‌های هماتولوژیک در این بیماری است.

**روش بررسی:** نمونه‌های خون محیطی از ۳۰ بیمار مراجعه‌کننده به بخش هماتولوژی بیمارستان فیروزگر و ۳۰ مورد افراد سالم تهیه شد. تعداد سلول‌های اندوتلیال با حضور مارکر سطحی CD۳۴ و فاکتور فون ویلبراند در غیاب مارکر CD۴۵ با روش‌های فلوسیتومتری و الیزا اندازه‌گیری شد. یافته‌های هماتولوژیک بیماران نیز ارزیابی شد و نتایج با  $p < 0.05$  معنی‌دار تلقی گردید.

**یافته‌ها:** تعداد سلول‌های اندوتلیال در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن (۰/۶۴٪) نسبت به کنترل (۰/۱۲٪) افزایش داشت ( $P=0.002$ ). میزان فاکتور فون ویلبراند در بین بیماران مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن پیشرفته‌تر در مقایسه با کنترل و بیماران با پیشرفت کمتر، بالاتر بود. بین تعداد سلول‌های اندوتلیال و میزان هموگلوبین بیماران همبستگی معکوس ( $r = -0.47$ ) و معنی‌داری ( $P = 0.01$ ) به دست آمد.

**نتیجه‌گیری:** اگرچه تعداد سلول‌های اندوتلیال و سطح فاکتور فون ویلبراند در پلاسما در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوسیتی مزمن که در مراحل پیشرفته هستند، نسبت به بیمارانی که در مراحل اولیه قرار دارند، افزایش نشان می‌دهد؛ اما ارتباط معناداری بین این دو پارامتر وجود ندارد.

**واژه‌های کلیدی:** سلول‌های اندوتلیال خون محیطی، فاکتور فون ویلبراند، لوسمی لنفوسیتی مزمن

\* نویسنده مسئول:

دکتر مینو شهیدی؛

مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشگاه

علوم پزشکی ایران

Email :  
shahidi.m@iums.ac.ir

- دریافت مقاله : مهر ۱۳۹۴ پذیرش مقاله : دی ۱۳۹۴

### مقدمه

لوسمی در بزرگسالان در کشورهای غربی است و ۳۰-۲۵٪ از کل لوسمی‌ها را شامل می‌شود. حدود ۶۰-۴۰٪ مورد از بیماران مبتلا به CLL بدون علامت هستند و به طور تصادفی تشخیص داده می‌شوند. CLL سیر بالینی بسیار متغیری دارد. برخی بیماران نیاز به درمان ندارند؛ در حالی که بعضی بیماران، بیماری پیش‌رونده و تهاجمی داشته و عمر کوتاهی دارند.

لوسمی لنفوسیتی مزمن (CLL) یا Chronic Lymphocytic Leukemia) شایع‌ترین

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

<sup>۲</sup> استادیار گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

<sup>۳</sup> استاد گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

<sup>۴</sup> دانشیار گروه خون و انکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

<sup>۵</sup> کارشناس زیست‌شناسی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

را تنظیم می‌کند و احتمالاً در خون محیطی بیماران مبتلا به بدخیمی می‌تواند به عنوان یک مارکر تشخیصی مرتبط با شدت بیماری مؤثر واقع شود (۱۵-۱۲). از آنجا که CLL یکی از شایع‌ترین لوسمی‌ها در بزرگسالان می‌باشد، تحقیقات بیشتر در پدیده رگزایی و متعاقب آن درمان‌های هدفمند ضد رگزایی در جهت کمک به افزایش طول عمر این بیماران بسیار سودمند است.

هدف مطالعه‌ی حاضر تعیین ارتباط تعداد CEC، سطح پلاسمایی VWF و نیز فاکتورهای پیش آگهی‌دهنده از قبیل سطح هموگلوبین و تعداد پلاکت و تعداد گلبول‌های سفید و تعداد مطلق لنفوسیت در بیماران مبتلا به CLL است.

### روش بررسی

تعداد ۳۰ بیمار مبتلا به CLL با مطالعه پرونده پزشکی آنها در درمانگاه خون و انکولوژی بیمارستان فیروزگر از مهرماه تا اسفند ماه سال ۹۱ انتخاب گردیدند. اولین و مهمترین معیار انتخاب، تحت درمان نبودن بیماران بود و در مرحله دوم با توجه به مشخصات ایمونوفنوتیپی (بیماران با فنوتیپ B Cell که از قبل تعیین شده بود) ۳۰ بیمار وارد مطالعه شدند. علاوه بر این، نمونه‌گیری از ۳۰ فرد سالم در محدوده سنی بیماران به عنوان کنترل انجام گرفت. هر دو گروه بیمار و کنترل با اخذ رضایت‌نامه وارد مطالعه شدند. ابتدا ۳-۵ میلی‌لیتر نمونه خون محیطی از هر بیمار گرفته شد و به سرعت به ظرف‌های حاوی EDTA منتقل گردید و پس از نگاه‌داری بر روی یخ، بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه هماتولوژی، آزمایش CBC، با استفاده از شمارشگر سلولی شرکت SYSMEX مدل KX-21، بر روی نمونه‌ها انجام شد. این دستگاه

بنابراین عوامل پیش آگهی‌دهنده در شناسایی بیماران با پیش آگهی بد، یعنی بیمارانی که در مرحله‌ی پیشرفته‌ی بیماری یا High grade سیستم درجه‌بندی Rai قرار دارند، در مقایسه با بیماران با پیش آگهی بهتر یعنی بیمارانی که در مراحل low grade هستند، به همراه تشخیص زمان شروع درمان، حائز اهمیت می‌باشد (۱).

مطالعات اخیر نشان می‌دهد که آنژیوزنز یا رگزایی در پاتوزنز CLL نقش دارد؛ بنابراین می‌توان از آن به عنوان یکی از عوامل پیش آگهی‌دهنده یاد کرد (۵-۲). رگزایی یک فرایند فیزیولوژیک در جهت تشکیل عروق خونی جدید است که با تکثیر و رشد فعال سلول‌های اندوتلیال همراه است و در بسیاری از بدخیمی‌ها افزایش می‌یابد (۸-۶).

سلول‌های اندوتلیال گردش خون (CEC) یا (Circulating Endothelial Cells) جمعیتی از سلول‌های غیرخون‌ساز در خون محیطی هستند، که در طیف وسیعی از شرایط پاتولوژیک مانند التهاب، عفونت و بیماری‌های نئوپلاستیک افزایش می‌یابند. پژوهشگران سطح CEC را با اطلاعات بالینی بیماران مبتلا به CLL مرتبط کردند و نشان دادند که در این بیماران در مقایسه با گروه شاهد، سطح CEC افزایش دارد و می‌تواند با رگزایی یا آنژیوزنز ارتباط داشته باشد (۳ و ۴). از سوی دیگر، سلول‌های اندوتلیال به طور عمده سازنده‌ی فاکتور فون ویلبراند (VWF یا Von Willbrand Factor) هستند که به درون خون محیطی ترشح شده و در نتیجه Weibel Palad Body در درون سلول‌های اندوتلیال ذخیره می‌شوند (۱۰ و ۹). این فاکتور مهم انعقادی با دو نقش می‌تواند به انعقاد کمک کند؛ به طوری که هم نقش حمل‌کننده‌ی فاکتور ۸ انعقادی، و هم اتصال پلاکت‌ها را به دیواره‌ی عروق و به یکدیگر در انجام فرایند انعقاد به عهده دارد (۸). این فاکتور که در التهاب نیز نقش دارد (۱۱)، آنژیوزنز

نشان‌دار شده با FITC مجاور شدند و سپس با دستگاه فلوسیتومتری شرکت BECTON DICKINSON مدل FACS Calibur مورد بررسی قرار گرفتند. در تحلیل نمونه‌ها، حداقل ۵۰۰۰۰ سلول در هر نمونه بیمار ارزیابی گردید. سلول‌های اندوتلیال گردشی به وسیله بیان مارکر CD۳۴ و VWF در جمعیت CD۴۵ منفی، با هدف حذف سلول‌های هماتوپوئیتیک نارس بررسی شدند. در ادامه، تحلیل آماری با استفاده از آزمون من - ویتنی و ضریب همبستگی اسپیرمن در نرم‌افزار پرسم و SPSS انجام شد.

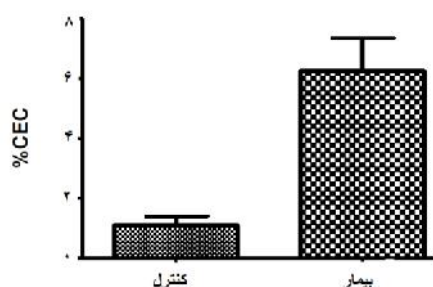
قادر به شمارش افتراقی نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها است، و بنابراین تعداد مطلق لنفوسیت‌ها نیز اندازه‌گیری شد. سپس میزان سطح پلاسمایی VWF با استفاده از روش الیزا و کیت (Asserachrom VWF)، و با توجه به دستورالعمل سازندگان، اندازه‌گیری شد. برای لیز گلبول‌های قرمز طبق پروتکل استاندارد از بافر لیزینگ ACK استفاده گردید و تمام مراحل انجام آزمایش روی یخ و یا در دمای ۴۰ سانتی‌گراد انجام شد (۱۶). نمونه‌ها با آنتی‌بادی‌های (FITC) CD۳۴ و (PE) CD۴۵ منوکلونال موشی (Dackocytomation) و آنتی‌بادی پلی‌کلونال گوسفندی (abcam) VWF

## یافته‌ها

به طور میانگین برابر ۴۶/۵ محاسبه گردید. آزمایش‌های مربوط به فلوسیتومتری همچنین بر روی ۳۰ بیمار مبتلا به CLL و ۳۰ مورد افراد سالم (گروه کنترل) انجام گرفت.

نمونه‌های مورد مطالعه از ۳۰ بیمار مبتلا به CLL با محدوده سنی ۴۴-۸۸ سال و میانگین سنی ۶۶/۴ سال جمع‌آوری شد و تعداد مطلق لنفوسیت (شمارش کل گلبول‌های سفید × تعداد درصد لنفوسیت)

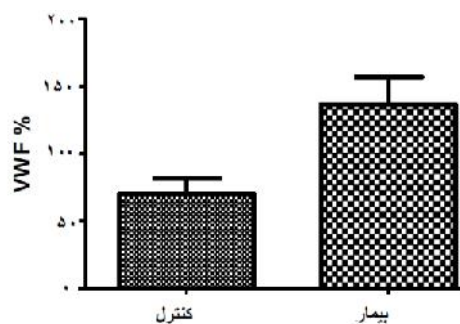
۱۰۰



## نمودار ۱: مقایسه تعداد سلول‌های اندوتلیال گردش (CEC) در خون گروه کنترل و بیمار با استفاده از روش فلوسیتومتری

T-student از نظر آماری معنی‌دار ( $P=۰/۰۰۲$ ) بود (نمودار ۱).

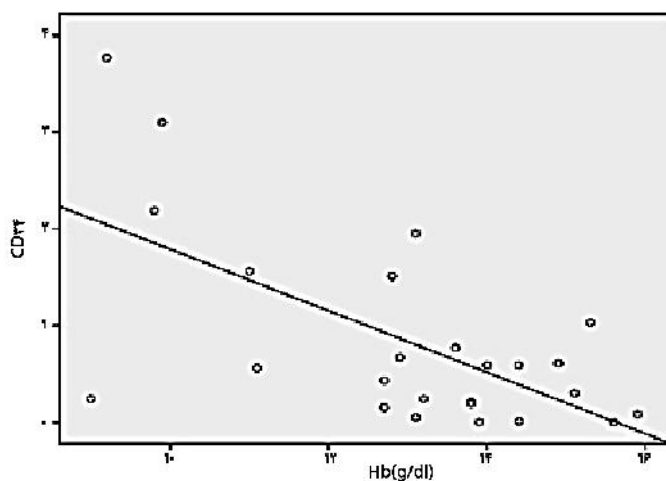
برابر نمودار ۱، تعداد CEC در بیماران مبتلا به CLL (۶۴/۰٪) در مقایسه با گروه کنترل (۱۲/۰٪) افزایش نشان داد که با استفاده از آزمون تحلیلی



### نمودار ۲: مقایسه میزان vWf پلاسما در گروه کنترل و بیماران به روش الیزا

اگرچه میزان VWF پلاسما در بیماران پیشرفته افزایش معنی‌داری داشت، اما مقایسه آن با تعداد CEC در همان بیماران، رابطه معناداری را از لحاظ آماری نشان نداد ( $P=0/07$ ).

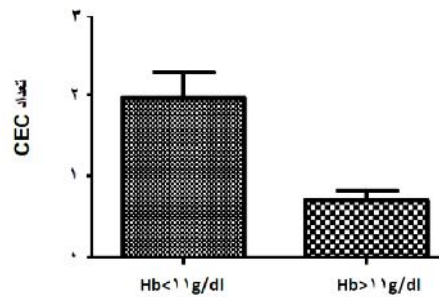
همانگونه که در نمودار ۲ مشخص است، میزان VWF پلاسما در بیماران مبتلا به CLL پیشرفته، افزایش نشان داد که با استفاده از آزمون تحلیلی T-student از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P=0/02$ ).



### نمودار ۳: نمودار همبستگی بین CEC و هموگلوبین بیماران

سطح هموگلوبین بیماران، تعداد سلول‌های اندوتلیال در گردش، با افزایش بیشتری همراه بود (نمودار ۳). اگرچه بین میزان CEC و تعداد پلاکت، تعداد گلبول‌های سفید و تعداد مطلق لنفوسیت‌های بیماران همبستگی معنی‌داری یافت نشد ( $P>0/05$ ).

جهت بررسی ارتباط بین CEC و دیگر فاکتورهای خون از آزمون ضریب همبستگی اسپیرمن استفاده شد که نتایج به دست آمده بین میزان CEC و هموگلوبین بیماران همبستگی معکوس معنی‌داری را نشان داد ( $P=0/01$ ) و ( $r = -0/47$ )؛ به طوری که با کاهش



نمودار ۴: بررسی میزان CEC در دو گروه بیماران با Hb < 11g/dl و Hb > 11g/dl

داد(۱۷). تحقیقات زیادی در مورد نقش CEC در مراحل اولیه و اواخر رشد سرطان و متاستاز انجام شده است و در نهایت در سال ۲۰۰۱ Lyden و همکاران در تحقیقات خود نشان دادند که سلول‌های اندوتلیال گردش خون در پیشرفت تومور کمک می‌کنند(۲۰). با شمارش این سلول‌ها مشاهده شد که آنها در برخی از انواع بیماران سرطانی نسبت به گروه کنترل سالم افزایش یافته‌اند، و بنابراین مشخص شد شمارش CEC ارتباط خوبی با سنجش و ارزیابی رگزایی دارد(۲۱-۳-۵).

Della Porta و همکاران سلول‌های اندوتلیال گردش خون را در بیماران مبتلا به سندرم میلودیس پلاستیک(MDS) با استفاده از تکنیک فلوسیتومتری شناسایی کردند و نشان دادند که این بیماران نسبت به گروه کنترل سالم، سطح بالاتری از CEC را نشان می‌دهند. نتیجه این مطالعه مشخص کرد که CEC منعکس‌کننده‌ی رگزایی غیرطبیعی در بیماران مبتلا به MDS است(۲۲). Rigolin و همکاران نیز در بیماران CLL با تکنیک فلوسیتومتری، سلول‌های اندوتلیال گردش خون را بررسی کردند و نشان دادند که در بیماران مبتلا به CLL در مقایسه با گروه کنترل سالم، افزایش دارد و با دوره‌ی تهاجمی و بدخیم این بیماری در ارتباط است(۳).

با استفاده از آزمون من - ویتنی، میزان CEC در بیماران با Hb > 11 g/dl و بیماران با Hb < 11 g/dl با یکدیگر مقایسه گردید که نتایج نشان داد میزان CEC در بیمارانی که در مرحله III طبقه‌بندی Rai قرار دارند، نسبت به بیمارانی که در مراحل اولیه بیماری هستند، به طور معنی‌داری افزایش یافته است(P=۰/۰۲)(نمودار ۴).

مقایسه‌ی میانگین CEC در بیماران با پلاکت بیشتر از  $100 \times 10^9/L$  و بیماران با پلاکت کمتر از  $100 \times 10^9/L$  نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان CEC بین این دو گروه وجود ندارد(P>۰/۰۵).

## بحث

مطالعات اخیر نشان می‌دهد که آنژیوژنز یا رگزایی، در پاتوژنز CLL نقش دارد و از آن می‌توان به عنوان یکی از عوامل پیش آگهی‌دهنده استفاده نمود و متعاقب آن درمان‌های هدفمند ضد رگزایی در جهت کمک به افزایش طول عمر این بیماران را به کار گرفت(۱۷-۱۹). تاکنون چندین روش جهت بررسی آنژیوژنز پیشنهاد گردیده است. از آنجا که آنژیوژنز با تکثیر و رشد فعال سلول‌های اندوتلیال همراه است(۲۰)، اندازه‌گیری تعداد CEC مزیت نسبتاً بالقوه‌ای دارد؛ زیرا یک راه غیرتهاجمی و عملی است که می‌توان آن را به صورت دنباله‌دار و با دقت انجام

این فاکتور توسط پلاکت‌ها تولید و آزاد می‌گردد، این رابطه نمی‌تواند کاملاً مستقیم و معنی‌دار باشد.

### نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که افزایش CEC در بیماران مورد مطالعه، تنها با کاهش میزان هموگلوبین و نه با سایر پارامترهای خون دیگر، مانند شمارش پلاکت، تعداد WBC و تعداد مطلق لنفوسیت‌ها مرتبط است. به عبارت دیگر، تعداد CEC بیمارانی که در مرحله‌ی III مرحله‌بندی Rai (High grade) قرار دارند، به طور معنی‌داری نسبت به بیمارانی که در مرحله‌ی Low grade قرار دارند، افزایش یافته است. بررسی سطح پلاسمایی VWF در بیمارانی که در مرحله III مرحله‌بندی Rai قرار دارند نیز نسبت به بیمارانی که در مرحله اولیه بیماری هستند، افزایش معنی‌داری را نشان داد. از آنجا که بین میزان این فاکتور و تعداد سلول‌های اندوتلیال در گردش خون در میان بیماران مورد مطالعه رابطه‌ی معناداری مشاهده نشد، به طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تعداد سلول‌های اندوتلیال در گردش خون و سطح پلاسمایی VWF دو پارامتر پیش‌آگهی‌کننده، اما مستقل از یکدیگر در بیماران مبتلا به CLL می‌باشند که با وجود سهولت بیشتر اندازه‌گیری فاکتور فون ویلبراند، این روش جایگزین کاملاً مناسبی برای تغییرات سلول‌های اندوتلیال در گردش خون نیست. لذا ادامه‌ی مطالعات گسترده‌تر پیرامون رگزایی در بیماران مبتلا به CLL می‌تواند رهگشا و تعیین‌کننده باشد.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش که حاصل پایان‌نامه و شماره ۱۴۲۶۰ می‌باشد با تامین بودجه دانشگاه علوم پزشکی تهران و

در مطالعه‌ی حاضر، تعداد CEC با میزان VWF در پلازما و نیز سایر فاکتورهای خون مانند PLT و WBC و تعداد مطلق لنفوسیت‌ها مقایسه گردید؛ لیکن از نظر آماری رابطه‌ی معنی‌داری مشاهده نگردید. اگرچه یافته‌های قبلی حاکی از آن است که لوسمی‌های لنفوسیتی مزمن با منشا سلول‌های B از سلول‌ها و بافت‌های مجاور خود تاثیر بسیار می‌گیرد (۲۴ و ۲۳). تعداد CEC نیز با آنژیوژنز رابطه دارد و مشخص می‌کند که بیماری به سمت مرحله‌ی تهاجمی پیش می‌رود (۲۵)، اما با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر به نظر نمی‌رسد که تعداد CEC به کاهش تعداد پلاکت به عنوان عامل پیش‌آگهی‌دهنده‌ی دیگر وابسته باشد. این یافته می‌تواند تاییدی باشد بر مطالعاتی که نشان از تاثیر پلاکت‌ها در فرایند رگزایی در بدخیمی‌ها دارد که به دلیل تولید فاکتورهای رگزا توسط پلاکت‌هاست، و بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در بسیاری از موارد، حضور پلاکت‌ها حتی می‌تواند تقویت‌کننده‌ی رگزایی و در نتیجه حضور بیشتر CEC باشد (۲۶). در مطالعه‌ی حاضر، اگرچه در خون بیماران با افزایش CEC تعداد گلبول‌های سفید و قدرمطلق لنفوسیت‌ها بیشتر بود، اما در مجموع رابطه معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نگردید. این یافته‌ها موید گزارش Rigolin و همکاران می‌باشد که علیرغم اینکه سطح CEC در بیماران آنها بالاتر از گروه کنترل بود، اما هیچ رابطه‌ای بین CEC و موارد پیش‌آگهی‌دهنده دیگر مثل حجم توده سرطان، مثبت بودن CD۳۸ و ZAP۷۰ مشاهده نگردید (۳). در مطالعه‌ی حاضر انتظار می‌رفت رابطه‌ی مستقیمی بین تعداد سلول‌های اندوتلیال در گردش و سطح پلاسمایی فاکتور فون ویلبراند مشاهده گردد؛ زیرا همان‌طور که قبلاً ذکر شد، سلول‌های اندوتلیال منبع تولید مهمی برای این فاکتور می‌باشند، اما از آنجا که

با همکاری مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام پذیرفت. نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولان و کارکنان آن مرکز ابراز می‌نمایند.

## منابع

- Ghia P, Ferreri AM & Caligaris-Cappio F. Chronic lymphocytic leukemia. *Critical Reviews in Oncology Hematology* 2007; 64(3): 234-46.
- Smolej L & Kašparová P. Choice of endothelial marker is crucial for assessment of bone marrow microvessel density in chronic lymphocytic leukemia. *Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica* 2008; 116(12): 1058-62.
- Rigolin GM, Maffei R, Rizzotto L, Ciccone M, Sofritti O, Daghia G, et al. Circulating endothelial cells in patients with chronic lymphocytic leukemia: Clinical-prognostic and biologic significance. *Cancer* 2010; 116(8): 1926-37.
- Go RS, Jobe DA, Asp KE, Callister SM, Mathiason MA, Meyer LA, et al. Circulating endothelial cells in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Annals of Hematology* 2008; 87(5): 369-73.
- Aguirre Palma LM, Gehrke I & Kreuzer KI. Angiogenic factors in chronic lymphocytic leukaemia (CLL): Where do we stand? *Critical Reviews in Oncology Hematology* 2015; 93(3): 225-36.
- Martinelli S, Maffei R, Castelli I, Santachiara R, Zucchini P, Fontana M, et al. Increased expression of angiopoietin-2 characterizes early B-cell chronic lymphocytic leukemia with poor prognosis. *Leukemia Research* 2008; 32(4): 593-7.
- Hussong JW, Rodgers GM & Shami PJ. Evidence of increased angiogenesis in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2000; 95(1): 309-13.
- Aguayo A, Kantarjian H, Manshour T, Gidel C, Estey E, Thomas D, et al. Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes. *Blood* 2000; 96(6): 2240-5.
- Starke RD, Ferraro F, Paschalaki KE, Dryden NH, McKinnon TA, Sutton RE, et al. Endothelial von Willebrand factor regulates angiogenesis. *Blood* 2011; 117(3): 1071-80.
- Metcalf DJ, Nightingale TD, Zenner HL, Lui-Roberts WW & Cutler DF. Formation and function of Weibel-Palade bodies. *Journal of Cell Science* 2008; 121(1): 19-27.
- Shahidi M, Barati M, Hayat P, Tavasoli B & Bakhshayesh M. The in vitro effects of sodium salicylate on von Willebrand factor and C-reactive protein production by endothelial cells. *Inflammopharmacology* 2014; 22(6): 367-72.
- Podar K, Tai YT, Davies FE, Lentzsch S, Sattler M, Hideshima T, et al. Vascular endothelial growth factor triggers signaling cascades mediating multiple myeloma cell growth and migration. *Blood* 2001; 98(2): 428-35.
- Vacca A, Ribatti D, Roncali L, Ranieri G, Serio G, Silvestris F, et al. Bone marrow angiogenesis and progression in multiple myeloma. *British Journal of Haematology* 1994; 87(3): 503-8.

14. Weidner N, Semple JP, Welch WR & Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *New England Journal of Medicine* 1991; 324(1): 1-8.
15. Wierzbowska A, Robak T, Krawczy ska A, Pluta A, Wrzesie -Ku A, Cebula B, et al. Kinetics and apoptotic profile of circulating endothelial cells as prognostic factors for induction treatment failure in newly diagnosed acute myeloid leukemia patients. *Annals of Hematology* 2008; 87(2): 97-106.
16. Duda DG, Cohen KS, Scadden DT & Jain RK. A protocol for phenotypic detection and enumeration of circulating endothelial cells and circulating progenitor cells in human blood. *Nature Potocols* 2007; 2(4): 805-10.
17. Kwong Y, Wong KF, Chan LC, Liang RH, Chan JK, Wei D, et al. The spectrum of chronic lymphoproliferative disorders in Chinese people. An analysis of 64 cases. *Cancer* 1994; 74(1): 174-81.
18. Campo E, Swerldlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H & Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: Evolving concepts and practical applications. *Blood* 2011; 117(19): 5019-32.
19. Landis SH, Murray T, Bolden S & Wingo PA. Cancer statistics, 1999. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 1999; 49(1): 8-31.
20. Lyden D, Hattori K, Dias S, Costa C, Blaikie P, Butros L, et al. Impaired recruitment of bone-marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth. *Nature Medicine* 2001; 7(11): 1194-201.
21. Mancuso P & Bertolini F. Circulating endothelial cells as biomarkers in clinical oncology. *Microvascular Research* 2010; 79(3): 224-8.
22. Della Porta MG, Malcovati L, Rigolin GM, Rosti V, Bonetti E, Travaglini E, et al. Immunophenotypic, cytogenetic and functional characterization of circulating endothelial cells in myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2008; 22(3): 530-7.
23. Ten Hacken E & Burger JA. Microenvironment interactions and B-cell receptor signaling in Chronic Lymphocytic Leukemia: Implications for disease pathogenesis and treatment. *Biochimica et Biophysica Acta* 2016; 1863(3): 401-13.
24. Burger JA & Gribben JG. The microenvironment in chronic lymphocytic leukemia (CLL) and other B cell malignancies: Insight into disease biology and new targeted therapies. *Seminars in Cancer Biology* 2014; 24(1): 71-81.
25. Haouas H. Angiogenesis and acute myeloid leukemia. *Hematology* 2014; 19(6): 311-23.
26. Sharma D, Brummel Ziedins KE, Bouchard BA & Holmes CE. Platelets in tumor progression: A host factor that offers multiple potential targets in the treatment of cancer. *Journal of Cellular Physiology* 2014; 229(8): 1005-15.



## **Study Of Relationship Between Circulating Endothelial Cell Numbers And Plasma VWF Levels With Other Hematologic Findings In Patient With Chronic Lymphocytic Leukemia**

**Heidarpourian Samaneh<sup>1</sup> (MSc.) - Shahidi Minoo<sup>2</sup> (Ph.D) - Kazemi Ahmad<sup>3</sup> (Ph.D)  
- Razavi Mohsen<sup>4</sup> (M.D.) - Basi Ali<sup>4</sup> (M.D.) - Hayat Parisa<sup>5</sup> (BSc.)**

1 Master of Science in Hematology & Blood Banking, School of Allied Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2 Assistant Professor, Hematology & Blood Banking Department, School of Allied Medicine, Cellular & Molecular Research Center (CMRC), Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3 Professor, Hematology & Blood Banking Department, School of Allied Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4 Associate Professor, Hematology-Oncology Department, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5 Bachelor of Science in Biology, Cellular & Molecular Research Center (CMRC), Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### **Abstract**

Received : Sep 2015  
Accepted : Dec 2015

**Background and Aim:** Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a lymphoproliferative disorder, which is very heterogeneous in prognosis. Therefore, the analysis of the prognostic factors should be very helpful in diagnosing patients with a poor prognosis. The aim of this study was to determine the relationship between circulating Endothelial cells number with VWF levels along with the other hematological findings in CLL.

**Materials and Methods:** Peripheral blood samples were obtained from 30 CLL patients admitted to the hematology department of Firozgar hospital and 30 healthy subjects. The levels of CEC were measured by the presence of CD34 and VWF markers, and absence of CD45 marker, using flow cytometry. VWF levels was evaluated by ELISA.

**Results:** The CEC levels were significantly higher in blood of the CLL patients (0.64%), when compared to the controls (0.12%,  $P=0.002$ ). The levels of plasma VWF were higher among high grade patients, when compared to controls and patients in lower grades. There was a negative correlation between CEC levels, and Hb concentration in the patients group ( $r=-0.47$ ,  $P=0.01$ ).

**Conclusion:** Although the levels of both CEC count and plasma VWF in patient with high grade CLL were increased when compared to patients with low grade, there was no significant correlation between these two parameters.

**Key words:** Circulating Endothelial Cells (CEC), Von Willebrand Factor (VWF), Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL)

\* Corresponding Author:  
Shahidi M;  
E-mail:  
shahidi.m@iums.ac.ir