

Hematolojik malignitelerde plazma thrombospondin düzeyleri

Erdal Kurtoğlu¹, Ayşegül Uğur², Levent Ünder³

¹Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı, Konya

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi ²Biyokimya Anabilim Dalı, ³Hematoloji Bilim Dalı, Antalya

Amaç: Trombospondin (TSP) trombositler, megakaryositler, endotel hücreleri, düz kas hücreleri, fibroblastlar, pnömositler, makrofajlar, monositler ve tümör hücreleri tarafından salgılanan adhesiv özellik gösteren bir glikoproteindir. TSP'nin tümör metastazında çok önemli oynadığı bilinmektedir. Çalışmamızda hematolojik malignitesi olan olguların plazma TSP düzeyini sağlıklı bireylerle ve tanılarına göre birbirleri ile kıyaslamayı amaçladık. **Yöntem:** Bu çalışmada 53 hematolojik maligniteli hasta ile 31 sağlıklı erişkinin plazma TSP düzeyleri "sandwich ELİZA" yöntemi ile ölçülerek kıyaslanmıştır. **Bulgular:** Tüm hastalar ele alındığında hastaların serum TSP düzeyi sağlıklı bireylerinkinden farksız bulundu (P=0.97). Kontrol grubu da dahil olmak üzere tüm grupların analizi, gruplar arasında TSP düzeyi açısından anlamlı bir fark olmadığını gösterdi (P=0.21). MDS/KML grubunun median TSP düzeyi AML grubununkinden anlamlı olarak yüksek bulundu (P=0.045). Kontrol grubu da dahil olmak üzere tüm altgrupların analizi, altgruplar arasında TSP düzeyi açısından anlamlı bir fark olduğunu gösterdi (P=0.0024). **Sonuç:** Hematolojik malignitelerde solid malignitelerden farklı olarak normal ya da düşük plazma TSP düzeyleri ile karşılaşmamız sürpriz oldu. Açıklayıcı yorumlarda bulunabilmek için hasta sayısının daha çok olduğu çalışmaların yapılması gereklidir. Plazma TSP düzeylerindeki düşüklük hematolojik malignitelerin biyolojilerinin solid malignitelerin biyolojilerinden farklılığının bir göstergesi olarak da ele alınabilir.

Anahtar kelimeler: Trombospondin, hematolojik malignite, lenfoma, multiple myeloma

Plasma thrombospondin levels in hematologic malignancies

Objective: Thrombospondin (TSP) is an adhesive glycoprotein secreted by different types of cells, namely thrombocytes, endothelial cells, smooth muscle cells, fibroblasts, macrophages, monocytes and tumor cells. It is well-known that TSP plays an important role in tumor metastasis. We aimed to compare plasma TSP levels of patients with hematologic malignancies to normal healthy ones and with each other according to different diagnosis. **Methods:** In this study plasma TSP levels of 53 patients with hematological malignancy and 31 healthy controls were measured by sandwich ELISA method and then compared. **Results:** Overall plasma TSP levels of patients were not different from those of healthy controls (P=0.97). Overall analysis of all groups including controls revealed no difference of plasma TSP levels (P=0.21). Furthermore pairwise comparison of groups showed that median plasma TSP level of MDS/KML group was significantly high in comparison to that of acute leukemia group (P=0.045). Overall analysis plasma TSP levels of all subgroups including controls revealed a significant difference among them (P=0.0024). **Conclusion:** We are surprised by low plasma TSP levels in hematological malignancies unlike solid malignancies. Studies holding more patients are needed. Actually low plasma levels of TSP may be an indicator of the biological difference between hematologic and solid malignancies.

Key words: Thrombospondin, hematologic malignities, lymphoma, multiple myeloma

Genel Tıp Derg 2003;13(1):1-7

Yazışma adresi: Yrd.Doç.Dr.Erdal Kurtoğlu, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı, Konya.

E-posta: erdalkurtoğlu@yahoo.com

Thrombospondin (TSP), trombositlerin α -granülleri içinde bulunan adeziv bir glikoproteindir. TSP'nin, trombositlerin yanı sıra birçok hücre tarafından salgılandığı bilinmektedir Herhangi bir uyarıya bağlı olarak salındığında trombositlerin agregasyonuna neden olur (1).

TSP hücre adezyonu, hareketi ve büyümesi üzerinde etki gösterir. Çevre dokunun malign hücrelerle invazyonunu stimüle ederek tümöral gelişime yardımcı olur. Tümör gelişimi ve endotel üzerindeki etkisi, önemli bir tümöral büyüme ve metastaz faktörü olarak ilgi çekmesine neden olmaktadır. TSP'nin, in vivo ortamda bazı tümörlerin büyümesini ve metastazını baskıladığı ve anjiogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir. Ancak, bu etkinin tümör tipine göre değişiklik gösterdiği de izlenmiştir (2-4).

Jinekolojik ve gastrointestinal sistemlere ait solid tümörü olan hastalarda plazma TSP düzeyleri sağlıklı insanlara göre yüksek bulunmuştur (5,6). Karaciğer metastazı olan mide ve kolorektal kanser olgularında, metastatik meme ve akciğer kanseri olgularında normalin 2 ila 3 katına ulaşan plazma TSP düzeylerine rastlanmıştır (4).

Akut lösemili olgulardaki plazma TSP düzeyini ölçmek için yapılan bir çalışmada plazma TSP düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur (7). Bu çalışma dışında diğer hematolojik malignitelerdeki plazma TSP düzeyini yansıtan başka çalışma yapılmamıştır.

Çalışmamızda hematolojik malignitesi olan olguların plazma TSP düzeyini sağlıklı bireylerle ve tanılarına göre birbirleri ile kıyaslamayı amaçladık.

Yöntem

Bu çalışma; kliniğimizde yatmış ve yeni tanı alıp kemoterapi/radyoterapi uygulanmamış olan çeşitli hematolojik maligniteli 53 hasta (26 erkek, 27 kadın, ortalama yaş 49, yaş aralığı 19-77) ile bilinen herhangi bir akut veya kronik hastalığı olmayan ve ilaç kullanmayan 31 sağlıklı erişkin (17 erkek, 14 kadın, ortalama yaş 44, yaş aralığı 23-70) kontrol grubu olarak çalışmaya alındı (Tablo 1).

Olgular istatistik analiz için 5 gruba [lenfoproliferatif hastalık (LPH), akut lösemi (AL), multipl myelom (MM), myelodisplastik sendrom/kronik myeloid lösemi (MDS/KML), kontrol] ve 6 alt gruba (non-Hodgkin lenfoma (NHL), kronik lenfositik lösemi/tüylü hücre lösemi (KLL/THL), akut myeloblastik lösemi (AML), multipl myelom (MM), myelodisplastik sendrom (MDS), kronik myeloid lösemi (KML) ve kontrol) ayrıldı. ALL ve Hodgkin alt grupları olgu sayılarının azlığı nedeniyle alt grup karşılaştırmalarına alınmadı.

Tablo 1. Hastaların yaş, cinsiyet ve tanı özellikleri

Hastalar	Yaş	Cins (E/K)	Olgu sayısı
Lenfoproliferatif hastalıklar	49 (30-75)	9/10	19
NHL			10
KLL/THL			6
Hodgkin lenfoma			3
Akut lösemiler	41 (20-73)	9/8	17
AML			12
ALL			5
Multipl myelom	50 (19-77)	7/3	10
MDS/KML	49 (26-77)	1/6	7
Kontrol	48 (24-72)	15/16	31

Örneklerin alımı sırasında trombositlerin aktivasyonu ve kanın pıhtılaşmasını önlemek için azami dikkat gösterildi. Kan örnekleri venöz staz uygulanmaksızın alındı ve ilk 1-2 ml'si atıldı. Sonraki 4-5 ml'si in vitro trombosit agregasyonunun ve trombosit salıverme reaksiyonunun önlenmesi için sodyum sitrat, teofilin, adenozin ve dipiridamol içeren özel tüplere alındı (Diatube-H, Diagnostica Stago, Fransa) ve hemen buzlu su banyosuna yerleştirildi. Su banyosunda en az 15 dakika bekletilen örnekler ilk 1 saat içerisinde +40°C'de 2500 g'de 30 dakika santrifüj edildi. Süpernatant plazmanın orta 1/3'ü alınarak -70°C'de çalışma zamanına dek saklandı.

TSP'nin kantitatif ölçümü, ticari hazır kit (Asserachrom, Thrombospondin, Diagnostica Stago, Asnieres, France) kullanarak ve üretici firmanın yönergesi doğrultusunda ELISA yöntemiyle gerçekleştirildi.

Plazma örnekleri, spesifik anti-human TSP antikorları ile önceden kaplanmış kuyucuklara yerleştirilerek "capture" sağlandı. Ardından "tavşan anti-TSP" peroksidaz kojugatı eklenerek "sandwich" oluşturuldu. Ortho-phenylenediamine/H₂O₂ substratı eklenerek renk değişimi sağlandı. Güçlü asit solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu ve oluşan renk değişimi mikropalak okuyucusundan (Eurogenetics, Belçika) 492 nm'de okundu. Kiti içerisinde yer alan standart TSP solüsyonu kullanılarak log-log grafik kağıt üzerinde elde edilen

kalibrasyon eğrisi ile plazma örneklerinin TSP sonuçları okundu.

Gruplar arasında bir farklılığın olup olmadığı Kruskal-Wallis testi ile analiz edildi. Grupların ikili karşılaştırmaları için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Plazma TSP düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon Spearman's rank korelasyon testi ile analiz edildi.

P<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. Tabloda ve şekillerde değerler median (range) olarak verildi.

Bulgular

Trombosit sayısı ile plazma TSP düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı. Bu nedenle diğer istatistik karşılaştırmalarda olguların ham TSP düzeyleri kullanıldı.

Tüm hastalar ele alındığında; hastaların median plazma TSP düzeyi [114 (1-1382) ng/ml] sağlıklı bireylerinki ile [67 (5-1387) ng/ml] kıyaslandığında iki grup arasında istatistiksel fark yoktu (P=0.97) (Şekil 1).

Kontrol grubu da dahil olmak üzere tüm grupların genel analizi, gruplar arasında plazma TSP düzeyi açısından anlamlı bir fark olmadığını gösterdi (P=0.21). Buna karşın grupların birbirleri ile kıyaslamalarında sadece MDS/KML grubunun median plazma TSP düzeyi akut lösemi grubunununkinden anlamlı olarak yüksek bulundu [sırasıyla 535 (32-1220) ve (62 (1-1007) ng/ml] (P=0.045) (Şekil 2).

Kontrol grubu da dahil olmak üzere tüm altgrupların analizi, gruplar arasında median plazma TSP düzeyi açısından anlamlı bir fark olduğunu gösterdi (P=0.0024) (Şekil 3).

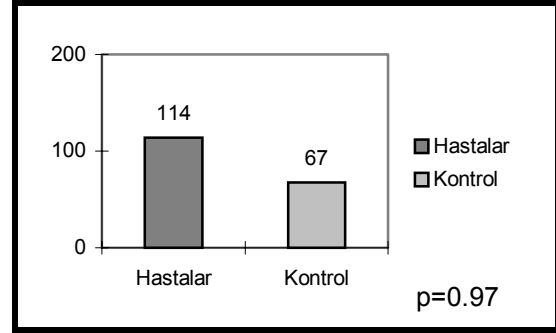
NHL alt grubunun median plazma TSP düzeyi ALL dışındaki alt grupların hepsinden belirgin olarak daha düşüktü.

Diğer alt grupların birbirleri ve sağlıklı kontrol grup ile aralarında anlamlı bir fark yoktu.

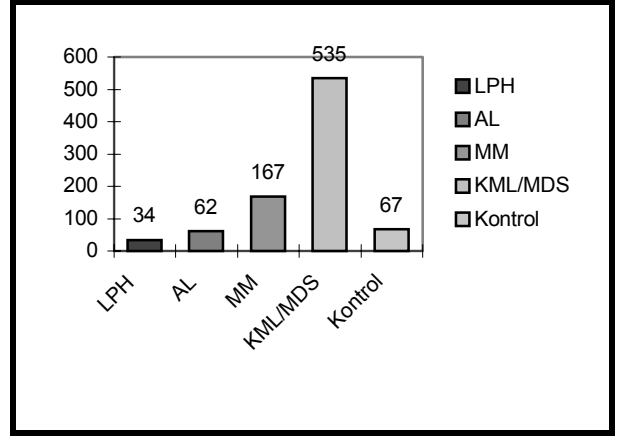
Tartışma

TSP trombositlerde, megakaryositlerde, monositlerde, kapiller endotelinde ve memelilerin epitelinde bulunan, molekül ağırlığı 450,000 dalton

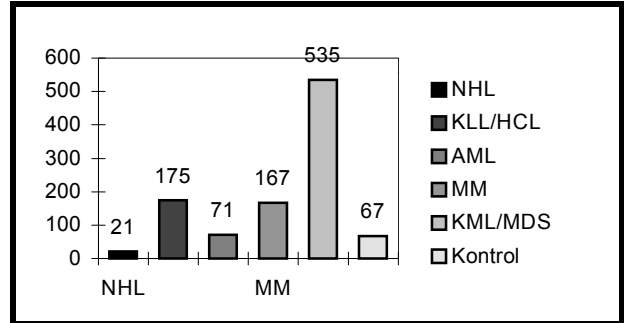
Şekil 1. Hasta ve kontrol gruplarının plazma TSP değerleri



Şekil 2. Grupların ve kontrol grubunun plazma TSP değerleri



Şekil 3. Alt gruplara göre plazma TSP düzeyleri



olan adheziv bir glikoproteindir (1). TSP hematopoetik progenitör hücrelerin de arasında bulunduğu birçok farklı, malign ve benign hücrenin adezyonunu, hareketini ve büyümesini sağlar, çevre dokunun malign hücrelerle invazyonunu stimüle ederek tümöral gelişime yardımcı olur. Bu özellikleri ile önemli bir tümöral büyüme ve metastaz faktörü

olarak ilgi çekmektedir. TSP'nin in vivo ortamda bazı tümörlerin büyümesini ve metastazını baskıladığı ve anjiogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir.

Ancak bu etki tümöral hücre tipine göre değişmektedir. TSP bazı hücre tipleri üzerinde ise, stimüle edici olarak etki göstermekte ve tümör gelişimini hızlandırmaktadır (2-4).

Jinekolojik ve gastrointestinal tümörü bulunan hastalarda plazma TSP düzeylerinin sağlıklı insanlara oranla daha yüksek olduğu gösterilmiştir (5,6,8). Karaciğer metastazı olan mide ve kolorektal kanserlerde metastazı olmayan olgulara oranla yüksek plazma TSP düzeyleri saptanmıştır. Benzer şekilde; metastatik meme ve akciğer kanserlerinde de metastatik olmayan olgulara ve sağlıklı insanlara oranla plazma TSP düzeyinde 2 ila 3 kata ulaşan artışlar bildirilmiştir. Buna dayanılarak tümör yükü ile plazma TSP düzeyi arasında bir ilişki olabileceği düşünülmüştür (4). Bu yüksekliğin nedeninin tümör tarafından gerçekleştirilen venöz invazyon olduğu sanılmaktadır. Kolorektal kanserler üzerine yapılan bir çalışmada plazma TSP düzeyi ile venöz invazyonun derecesi arasında lineer bir ilişki saptanmış olması bu düşünceyi desteklemektedir (9-15). Yamashita ve arkadaşları (16) da yaptıkları çalışmada, venöz invazyon gösteren kolorektal kanser olgularında venöz invazyon göstermeyenlere oranla plazma TSP düzeyini yüksek bulmuşlardır. Bu bulgu tümörün venöz invazyon sonucunda trombositleri aktive ettiğinin ve aktive olan trombositlerin de TSP salgıladığının bir göstergesidir (16).

TSP'nin yassı hücreli ösefagus kanserinin gelişiminde önemli bir rol oynadığı, tümörün gelişmesine ve metastaz yapmasına katkıda bulunduğu saptanmıştır. Plazma TSP düzeyinin tümörün venöz invazyonunu ve lenf bezi tutulumunu saptamada yararlı bir indikatör olduğu bulunmuştur (17).

Tüm olgularımız ele alındığında TSP düzeylerini sağlıklı bireylerinkinden farksız bulduk ($P=0.97$). NHL grubunun medyan plazma TSP düzeyi ALL dışındaki grupların hepsinden ve sağlıklı bireylerinkinden anlamlı olarak düşüktü.

Özatlı ve arkadaşları (7) AML'li hastalarda solid tümörlerden farklı şekilde, plazma TSP düzeyi sağlıklı bireylere oranla anlamlı olarak düşük

bulunurken, bu düşük değer çalışmaya alınan hastaların trombosit sayılarının azlığı ile açıklanmıştır. Biz; akut lösemili olgularımızı, sağlıklı bireylerle karşılaştırdığımızda plazma TSP düzeyi açısından anlamlı bir fark bulmadık. Ancak akut lösemili olgularımızın plazma TSP düzeyi, MDS/KML alt grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşüktü ($P=0.045$). Akut lösemili hastalarda endotel hasarının varlığını dikkate alarak yüksek, en azından normal değerler bulmayı beklemekteydik. Bu düşük değerlerin nedeni çalışmaya alınan hastaların trombosit değerlerindeki düşüklük olabilir (7). Bilindiği gibi TSP, trombositlerin α -granüllerinde bulunmaktadır. İnsan megakaryositik lösemi hücre dizilerinde, α -granüllerinin immunohistokimyasal metodlarla boyanması sonucunda bu granüller içindeki TSP'nin varlığı gösterilmiştir (18,19). Bu bulgular, AML-M7 tanısı almış olgularda saptanan yüksek plazma TSP düzeyini destekler niteliktedir (20). Buna ek olarak; megakaryositik seri lösemilerinde ve MEG-01 ve HEL gibi megakaryositik lösemi hücre dizilerinde TSP reseptörü olan CD36 antijeni hem sentezlenmekte hem de eksprese edilmektedir (21). CD36 trombositlerin yanı sıra megakaryositlerde, monositlerde, kapiller endotelinde ve memeli epitelinde de bulunan major glikoproteinlerinden biridir ve TSP ile etkileşime girebilen bir hücre adezyon reseptörüdür (22,23). CD 36'nın hemostaz, tromboz, malarya enfeksiyonu, inflamasyon, lipid metabolizması ve aterogenez gibi bir çok metabolik olayda önemli rol oynadığı kanıtlanmıştır (24). CD36, insan B lenfositlerince eksprese ediliyor olamamasına karşın; insan B hücre kökenli anjiotropik lenfomada da CD36 ekspresyonu gösterilmiştir. CD36'nın burada lenfoblastların endotele adezyonunda rol oynadığı düşünülmüştür. KLL'de bulunan CD19 pozitif B lenfositlerinde de CD36'nın varlığı gösterilmiştir. CD36 pozitif KLL olgularında tümör yayılımının daha hızlı olduğu bilinmektedir (25). MM'da plazma TSP düzeyi ile CD36 ilişkisi üzerine herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

MM, B hücre kökenli, kemik iliğinde olgun, monoklonal plazma hücreleri ile karakterize hematolojik bir malignitedir (26). MM hücrelerinin belirgin bir özelliği, bu hücrelerin hastalığın genel süreci içerisinde kemik iliğinde kalmaya olan eğilimleridir (27). MM'de her ne kadar egemen olan

hücreler olgun plazma hücreleri ise de, plazma hücrelerinin öncüsü konumundaki immatür B hücreleri de fazladır. İmmatür B hücreleri hastalığın ilerleyen evrelerinde sayıca artarak dolaşımda görünür hale gelirler. Bu immatür hücrelerin hastalığın diğer dokulara yayılmasında ve “homing” üzerinde önemli rolü vardır (26,28). Bu şekildeki immatür hücrelerin dolaşımda görülmesi, bu hücrelerin endotele bağlanmasını sağlayan adezyon molekülleri ile donatıldığını göstermektedir (27). Kemik iliğindeki plazma hücreleri de stromal elmanlarla etkileşime girebilen birçok adezyon molekülünü eksprese ederler (29). Tenascin, laminin, FNC, kollajen tip I, III, V ve IV, MM’lu hastaların kemik iliği kryopresipitatlarında saptanmıştır (30). Myeloma hücre dizileri FNC’e bağlanabildikleri gibi kendileri de FNC üretebilirler. Yapılan fonksiyonel çalışmalar FNC’nin myeloma hücrelerinin stromaya bağlanmasında çok az rol oynadığını esas rolün diğer adezyon moleküllerince oynandığını göstermektedir (28). Çalışmamızda MM’li hastalarda solid tümörlerin yayılımında önemli rolü olan TSP’nin plazma düzeyini sağlıklı kontrollerden farklı bulmadık. Bugüne kadar MM’da TSP düzeylerini yansıtan başka bir çalışmaya da rastlamadık.

NHL, birçok adezyon molekülünü eksprese ederler. Bu moleküller yalnızca lenfosit trafiğine yardımcı olmazlar aynı zamanda NHL’nin yayılmasında da önemli rol oynarlar. Kütanöz lenfosit antijeni, alfa 4 beta 7, alfa E beta 7 ve L-selektin gibi moleküller sırası ile cilt, mukoza, epitel ve lenf bezlerinde lenfositlerin yerleşmesini sağlarlar. Bu bölgelerde ortaya çıkan lenfomalar bu molekülleri kuvvetle eksprese ederler (30). Genelde; CD36 insan B-lenfositlerinde her zaman eksprese olan bir antijen değildir. Yukarıda sözü edildiği gibi yakın zamanda B hücre kökenli anjiotrofik lenfoma CD36 ekspresyonu gösterilmiştir. Olasılıkla bu antijen lenfoblastların endotele olan adezyonlarını gerçekleştirmektedir. CD19 pozitif B hücre kökenli KLL olgularında eş zamanlı olarak CD36 ekspresyonu da saptanmıştır. Bu bulgu, CD36’nın B hücre kökenli KLL olgularında tümör hücrelerinin yayılımından sorumlu olduğunu desteklemektedir (25). Çalışmamızda NHL’li olgularımızın TSP düzeylerini diğer hastalık gruplarından ve sağlıklı kontrollerden bile düşük bulduk. Aslında; CD36 ile “homing” arasındaki ilişkiyi göz önüne alınca plazma TSP düzeyini yüksek beklerdik. Bunun nedeni

NHL’li hastalarımızın kemik iliği tutulumu ve buna bağlı megakaryosit ve trombosit sayılarındaki düşüklük ve sonuç olarak gelişen TSP üretimindeki azlık olabilir (20). Ancak hastalarımızda kemik iliği tutulumu olmasına karşın trombosit sayıları normaldi. Bu nedenle üretimden kaynaklanan bir plazma TSP düzeyi düşüklüğü olası görünmemektedir.

Plazmadaki TSP’nin dolaşımdan, kaçışı dolayısı ile kapiller sızdırma buna neden olabilir. Bilindiği gibi tümörün mikrovasküler yapısı sağlıklı dokulara kıyasla makromoleküllere daha geçirgendir. Buna bağlı olarak da dolaşımdaki makromoleküllerin tümöral dokuya kaybı söz konusu olabilir (31). Bunu göstermek için lenfoma dokusundaki TSP düzeyinin ölçüldüğü çalışmaların yapılması gereklidir.

Fare modelinin kullanıldığı bir çalışmada (5) TSP’nin pıhtı oluşumunu ve tümör hücrelerinin adezyonunu artırarak tümör hücrelerinin yayılımını sağladığı görülmüştür. Ancak insanda aynı mekanizmanın işleyip işlemediği spekülasyona açık bir konudur. Bununla birlikte, yaklaşık 100 yıl önce Trousseau’nun gastrointestinal malignitesi olan hastalarda gözlemediği tromboflebit dolaylı olarak bu şekildeki bir mekanizmanın insandaki varlığı desteklemektedir. Otopsi yapılan kanser hastalarının yaklaşık % 50’sinde tromboemboliye rastlanmaktadır (32). Birçok malignitede rastlanan artmış trombosit aktivasyonu ve hiperagregabilite de TSP’nin metastaz oluşumundaki rolünü destekler. TSP, akciğer kanseri olgularında $TGF\beta_1$ ’i aktive ederek plazminojen aktivatör sistemini harekete geçirir. Böylece hücresele uPA ve PAI üretimi artar. TSP üretimi artan plazminojen ve uPA’ya bağlanır (33). NHL’li olgularımızdaki plazma TSP düzeyi bu bağlanma nedeni ile düşük olabilir.

Sonuç olarak; hematolojik malignitelerde solid malignitelerden farklı olarak normal ya da düşük plazma TSP düzeyleri ile karşılaşmamız sürpriz oldu. Bu durumu açıklamak için yaptığımız tüm yorumlar spekülatifdir. Daha açıklayıcı yorumlarda bulunabilmek için hasta sayısının daha çok olduğu çalışmaların yapılması gereklidir. Hasta sayısının çok olduğu çalışmalarda plazma TSP düzeyleri yine normal ya da yüksek çıkarsa bu düşüklüğün nedenini aydınlatmak için TSP düzeyinin fibrinolitik parametrelerle ilişkisini, “kapiller leak” açısından işaretli TSP’nin doku dışına kaçıp kaçmadığının

gösterilmesini ve daha genelinde de bu hastaların TSP üretim-tüketim kinetiğini gösterecek çalışmaların yapılması gerekmektedir. Aslında plazma TSP düzeylerindeki düşüklük belki de hematolojik malignitelerin biyolojilerinin solid malignitelerin biyolojilerinden farklılığının bir göstergesi olarak da ele alınabilir.

Kaynaklar

1. Frazier WA. Thrombospondin: A modular adhesive glycoprotein of platelets and nucleated cells. *J Cell Biol* 1987;105:625-32.
2. Roberts DD. Regulation of tumor growth and metastasis by thrombospondin-1. *FASEB J* 1996;10:1183-91.
3. Tuszynski GP, Rothman V, Murphy A, Siegler K, Smith L. Thrombospondin promotes cell-substratum adhesion. *Science* 1987;236:1570-3.
4. Hosokawa T, Murasaki A, Rothman VL, Papale M, Tuszynski GP. The effect of thrombospondin on invasion of fibrin gels by human A549 lung carcinoma. *Oncol Res* 1993;5:5183-9.
5. Tuszynski GP, Smith M, Rothman VL, Capuzzi DD, Joseph RR, Katz J. Thrombospondin levels in patients with malignancy. *Thromb Haemost* 1992;67:607-11.
6. Nathan FE, Hernandez E, Dunton CJ, Treat J, Switalska HI, Joseph RR, et al. Plasma thrombospondin levels in patients with gynecologic malignancies. *Cancer* 1994;73:2853-8.
7. Özatlı D, Koçoğlu H, Haznedaroğlu İC, Koşar A, Büyükaşık Y, Özcebe O, et al. Circulating thrombomodulin, thrombospondin and fibronectin in acute myeloblastic leukemias. *Hematologia* 1999;29:277-83.
8. Switalska HI, Niewiarowski S, Tuszynski GP, Rucinski B, Schmaier AH, Morinelli TA, et al. Radioimmunoassay of human platelet thrombospondin: Different patterns of thrombospondin and β -thromboglobulin antigen secretion and clearance from the circulation. *J Lab Clin Med* 1985;106:690-700.
9. Pratt DA, Miller WR, Dawes J. Thrombospondin in malignant and non-malignant breast tissue. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989;25:343-50.
10. Grinnel RS. The lymphatic and venous spread of carcinoma of the rectum. *Ann Surg* 1942;116:200-16.
11. Carrol SE. The prognostic significance of gross venous invasion in carcinoma of the rectum. *Can J Surg* 1963;6:281-8.
12. Khankahnian N, Mavligit GM, Russell WO, Schimek M. Prognostic significance of vascular invasion in colorectal cancer of Dukes' B class. *Cancer* 1977;39:1195-200.
13. Talbot IC, Ritchie S. The clinical significance of invasion of veins by rectal cancer. *Br J Surg* 1980;67:439-42.
14. Minsky BD, Mies C. The clinical significance of vascular invasion in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1989;32:794-803.
15. Krasna MJ, Flancbaum L, Cody RP, Shneibaum S, Ari GB. Vascular and neural invasion in colorectal carcinoma: Incidence and prognostic significance. *Cancer* 1988;61:1018-23.
16. Yamashita Y, Kurohiji T, Tuszynski GP, Sakai T, Shirakusa T. Plasma thrombospondin levels in patients with colorectal carcinoma. *Cancer* 1998;82:632-8.
17. Oshiba G, Kijima H, Himeno S, Kenmochi T, Kise Y. Stromal thrombospondin-1 expression is correlated with progression of esophageal squamous cell carcinomas. *Anticancer Res* 1999;19(5C):4375-8.
18. Hamamoto K, Ohga S, Nagano T, Kishimoto Y, Yasunaga K, Sato T. Expression of platelet alpha-granule proteins in a human megakaryocytic leukemia cell line (CMK 11-5). *Int J Hematol* 1993;58:105-12.
19. Ryo R, Yoshida A, Yamaguchi N. Megakaryocytic leukemia cell lines and megakaryocytic leukemia. *Rinsho Byori* 1999;38:514-23.
20. Dawes J, Pratt DA, Dewar MS, Preston FE. Do extra-platelet sources contribute to the plasma level of thrombospondin? *Thromb Haemost* 1988;59:276-81.
21. Imamura N, Mtasiwa DM, Inada T, Kuramoto A. Different expression of CD36 antigen molecule on the surface of megakaryocyte lineage leukemias and megakaryocyte leukemia cell lines MEG-01 and HEL. *Leukemia* 1990;4:525-8.
22. Ikeda H. Platelet membrane protein CD36. *Hokkaido Igaku Zasshi* 1999;74:99-104.
23. Tsuchida T, Kijima H, Tokunaga T, Oshika Y, Hatanaka H. Expression of the thrombospondin receptor CD36 is correlated with decreased stromal vascularisation in colon cancer. *Int J Oncol* 1999;14:47-51.
24. Daviet L, McGregor JL. Vascular biology of CD36: Roles of this new adhesion molecule family in different disease states. *Thromb Haemost* 1997;78:65-9.
25. Rutella S, Rumi C, Puggioni P, Barberi T, Di Mario A, Larooca LM, et al. Expression of thrombospondin receptor (CD36) in B-cell chronic lymphocytic leukemia as an indicator of tumor cell dissemination. *Haematologica* 1999;84:419-24.
26. Van Riet I, Vanderkerken K, de Greef C, Van Camp B. Homing behavior of the malign cell clones in multiple myeloma. *Med Oncol* 1998;1:154-64.
27. Van Riet I. Homing mechanisms of myeloma cells. *Pathol Biol* 1999;47:98-108.
28. Van Camp B, Van Riet I. Homing mechanism in biology of multiple myeloma. *Verh K Acad Geneesk Belg* 1998;60:163-94.
29. Kibler C, Schermutzki F, Waller HD, Timpl R, Mullar CA, Klein G. Adhesive interactions of human multiple myeloma cell lines with different extracellular matrix proteins. *Cell Adhes Commun* 1998;5:307-23.
30. Pals ST, Drillenburger P, Radaskiewicz T, Manten-Horst E. Adhesion molecules in the dissemination of non-Hodgkin's lymphomas. *Acta Haematol* 1997;97:73-80.
31. Dvorak HF. Leaky tumor vessels: Consequences for tumor stroma generation and for solid tumor therapy. *Prog Clin Biol Res* 1990;354A:317-30.

32. Edwards RL, Rickles FR. Hemostatic alterations in cancer patients. In: Honn JV, Sloane BF, editors. Hemostatic Mechanisms and Metastasis. Martinus Nijhoff, Boston 1984; p 343.
33. Arnoletti JP, Albo D, Granick MS, Solomon MP, Castiglioni A. Thrombospondin and transforming growth factor-beta 1 increase expression of urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in human MDA-MB-231 breast cancer. Cancer 1995;76:998-1005.