

# Hematolojik Malign Hastalıkların Etyopatogenezinde Sitokinlerin Rolü

Doç.Dr.Meral

BEKSAÇ\*

Hematopoetik hücrelerden salgılanan otokrin, parakrin veya uzak etkileri bulunan çeşitli moleküllerin tanımlanmaya başlanması hematolojide hastalık etyopatogenezinde bir çok değişikliğe yol açmıştır. Hematopoetik büyüme faktörleri (koloni stimule edici faktörler vb), interlökinler ile solubl reseptörlerden oluşan bu sitokinlerin bu etkileri özetlenmeye çalışılacaktır.

## Multipl Myeloma (MM)

Multipl Myeloma yavaş proliferen olan bir hastalık olmasına rağmen sitokinler MM'da çok önemli bir rol oynarlar. Sentez fazındaki hücre yüzdesi prognozu etkileyen en önemli parametredir. Çeşitli sitokinler malign myeloma hücre klonlarının gelişimindeki etkilerinin yanı sıra hastalık belirtilerinde de rol oynarlar. Bunlardan interlökin 6 (IL-6) için myeloma büyüme faktörü denilebilir. IL-6 dışında ayrıca, IL-1p ve tümör nekroz faktör-a (TNF-a)'da osteoklast aktive edici ve dolayısıyla kemikte litik lezyon geliştirici etkileri nedeniyle gündeme gelmektedir. TNF-a bu etkisini benzer olarak B-cell Kronik Lenfositik Lösemi (B-KLL) ve tüylü hücreli lösemide de gösterir. IL-6 myelomaya bağlı anemide de suçlanmaktadır. Yine megakaryopoez üzerine inhibitör etkileri MM'daki trombositopeniyi açıklayabilir. Bu nedenlerden bu sitokinlerin hastalık sırasında kaynağını açıklamak uygun tedavi girişimlerine olanak sağlayacaktır (1).

Bu konudaki ilk bulgular IL-6'nın otokrin bir kapalı devre şeklinde malign myeloma hücreleri tarafından hem salgılanıp hem de bu sitokine yanıt verdiği şeklinde olmuştur (2). Ancak malign plazma hücrelerinin ayırımıdaki teknik güçlükler bu konunun tam açıklığa kavuşmasına engel olmuştur. Epstein ve ark. flow cytometry ile ayrılmış myeloma hücrelerinde olguların ancak %40'ında polimeraz zincir reaksiyonu ile gösterilebilen IL-6 gen ekspresyonu tespit edebilmişlerdir. IL-6 üretimi ise 150 olgudan ancak birinde gösterilebilmiştir (1). IL-6 reseptör geni 13 olgunun 6'sında gösterilirken interferon a ve p uygulaması ile tüm ol-

gularında gösterilebilir duruma gelmiştir. Görüldüğü üzere myeloma hücrelerinde IL-6 üretimi ve yanıt verme potansiyeli mevcuttur. Muhtemelen bu otokrin mekanizma malign hücre gelişiminin erken basamaklarında çalışmaktadır. Ancak IL-6'nın birlikte olması gereklidir. Buradan varılabilecek olan sonuç IL-6'nın promyeloma hücrelerini immünooglobulin salgılayan myeloma plazma hücrelerine dönüştürdüğüdür. Bu dönüşüm sonrasında olgun myeloma hücrelerinde IL-6 reseptörleri kaybolmaktadır.

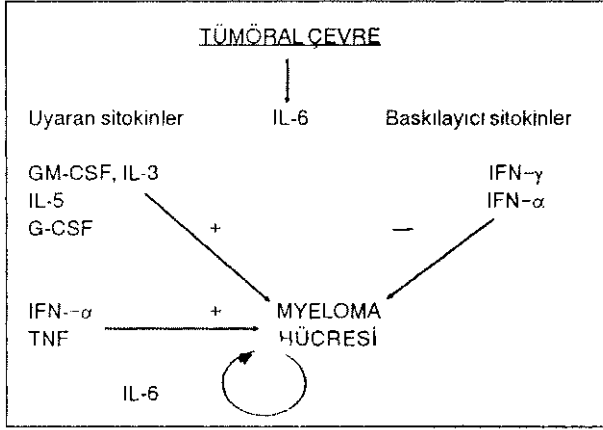
IL-6'ya ilaveten, bu hücreler, IL-1p ve daha nadir de TNF-a salgılayabilmektedirler (3). Aynı teknik ayırım güçlükleri burada da söz konusudur. Epstein ve ark. çalışmasında myeloma hücrelerinde IL-1p gen ekspresyonuna hiç rastlanılmazken TNF-a %25 gözlenmiştir. Oysa aynı hastaların monositlerinde her 2 gen ekspresyonu mevcut bulunmuş ve IFN-a, p uygulaması myeloma hücrelerinde bu iki gen ekspresyonunu, olguların %50'sinde indükleyebilmiştir. Bu sitokinlerin salgılanması muhtemelen myeloma hücrelerinin salgıladıkları immünooglobulinler ve IL-6 tarafından uyarılmaktadır ki bunların salgılanması IL-1a ve TNF-a ile başlatılabilmektedir (1).

Myeloma hücrelerinin proliferasyonu için IL-3 gibi pluripotent bir büyüme faktörünün gerekli olması, myeloma hücrelerinde çok sayıda myeloid, monositler, eritroid ve megakaryositik yüzey antijenlerinin bulunması ve ayrıca Akut Myeloblastik Lösemi (AML) ve Myelodisplastik Sendrom (MDS) ile birlikteliği eskiden beri bilinenin aksine bu hastalığın sadece plazma hücrelerinden değil hematopoetik stem hücrelerinden kaynaklandığını desteklemektedir (4).

MM'da rol oynayan sitokin ağı Şekil 1'de özetlenmiştir.

Tümöral çevreden salgılanan IL-6 myeloma hücrelerinin majör büyüme faktörüdür. Diğer sitokinler bu etkiyi potansiyelize veya inhibe etmektedirler.

\* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbni Sina Hastanesi Hematoloji BD, ANKARA



Şekil 1.

Bu bulguların keşfi klinik bazı uygulamalara olanak tanımaktadır. MM tedavisinde son 20 yılda beklenen düzeyde bir ilerleme gözlenmediği gözönüne alınır sa bu önemli bir aşamadır (5). Öncelikle sitokin veya IFN- $\alpha$  tedavisine başlanılmadan önce bazal otokrin sitokin salgılanımı tespit edilmelidir. 5 günlük Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör (G-CSF) tedavisi alan bir olguda proliferasyon plazmablastik hücre sayısında 8 kat artış gözlenmesi önemli bir bulgudur (6). Eğer böyle ise IL-6, G-CSF, IL-3 veya Granülosit Makrofaj-Koloni Uyarıcı Faktör (GM-CSF)'ün kemoterapi öncesi uygulanması tedavi etkinliğini arttırabilecektir. IFN- $\gamma$  ise kemoterapi ile birlikte uygulanarak sinerjisi sağlanabilir, ikinci olarak etyopatogenezden sorumlu sitokininin tespiti ile bunun antagonize edilme yoluyla tedavi sağlanabilir. Anti IL-6'nın in vitro antiproliferatif etkilerinin in vivo olarak da desteklenmesi gerekmektedir. Bu konuda ilk girişim bir rezistan plazma hücreli lösemi olgusunda anti IL-6 monoklonal antikör uygulamasıdır. Bu olguda tedaviyi kesmeyi gerektirecek bir yan etki gözlenmemiş ve belirgin klinik yanıt elde edilmiştir. Serum Ca ve immünglobulin peak'inde %30, hücre proliferasyon indeksinde %4.5'den 0'a düşüş sağlanmıştır (7). Bu terminal olguların sayısı 5'e yükseldiğinde 2'sinde tam, 3'ünde ise kısmi yanıt elde edilmiştir. Böylece IL-6'nın myeloma için in vivo bir büyüme faktörü olduğuna dair indirek deliller de elde edilirken tedaviye yönelik yeni bir aşamaya ulaşılmaktadır.

### Hairy Celi Lösemi ve Kronik B-Hücreli Malign Hastalıklar

Tümör nekroz faktör (TNF) çok geniş etki alanı olan bir sitokindir. inflamasyon ve immün modulasyonda rol oynamasının yanı sıra bazı tümörlere karşı antiproliferatif etkisi bilinmektedir. Esas olarak makrofajlar, T-lenfositleri, mast ve doğal öldürücü hücreler tarafından salgılanırlar. 6. kromozom üzerinde major histokompatibilite kompleks genlerine komşu bir gen lokalizasyonu vardır. TNF reseptörleri mezanşimal hücrelerin (örneğin fibroblast) yanı sıra makrofaj, lenfosit, polimor-

fonükleer lökositler ile öncülleri ve bazı tümör hücrelerinde gösterilmiştir (8). Ayrıca bazı akut lösemi hücrelerinde de sentezlendiğine dair yayınlar mevcuttur (9).

TNF-a'nın hairy celi lösemi'de (HCL) ve bazı B-KLL olgularında hücre proliferasyonunu arttırdığı ilk kez Cordingley tarafından gösterilmiştir (10). Oysa lenfotoksin (TNF-p)'in böyle bir etkisi yoktur. HCL ve B-KLL'li hastalardan alınan tümör hücrelerinde TNF, IL-1 ve IL-6'ya ait mRNA'nın mevcut olduğu ve ekzojen TNF verilmesi ile otokrin olarak TNF mRNA'nın daha da arttırılabildiği gösterilmiştir. Ayrıca bu hastaların serum TNF düzeylerine bakıldığında TNF düzeylerinin arttığı, klinik evrelendirme ile orantılı olarak incelendiğinde, evre arttıkça TNF salınımının azaldığı gözlenmiştir. Bu hastalarda anti-TNF uygulaması ile bozulmuş hematopoetik koloni oluşumunun tekrar normale döndürülmesi de TNF'nin etyopatogenezdeki rolünü destekleyen dolaylı bir bulgudur (10).

HCL'de bir başka sitokin olan Interleukin-2'nin artmış reseptör düzeylerine rağmen IL-2 uygulamasına yönelik yayın yoktur (11).

CD23 molekülü B lenfositlerin aktivasyon belirleyicidir ve IgE reseptörü görevi görür. IL-4 verilmesi ikincil olarak B lenfositlerinde gösterilmesi artar. HCL'de tedavi öncesi solubl CD23 reseptörleri normal kişilere göre artmış bulunmuştur, ilginç olan Interferon-a tedavisini takiben bu düzeylerin klinik yanıtla paralel olarak azalması veya direnç durumunda yüksek devam etmesidir (11).

### Kronik Myelositer Lösemi (KML)

Kronik Myelositer Lösemi kronik faz ve onu takiben akselere ve blastik fazlar gösteren myeloproliferatif bir hastalıktır. Kromozom ve gen düzeyinde KML için diagnostik denilebilecek translokasyon (t:9;22) ve ürünlerinin (bcr-abl protoonkogen aktivasyonu) tanımlanmasına rağmen hastalığın çeşitli fazlarındaki etyopatogenez ve hücre içi membran ve ötesi mekanizmalar henüz tam aydınlatılamamıştır. Kronik fazdaki hücrelerde olgunlaşma sürecinde bir bozukluk olmamasına rağmen kontrol edilemeyen hücre çoğalma hızına akselere ve blastik fazda farklılaşma bozukluğu da eklenmektedir. Son yıllarda KML hücrelerinin in vitro koşullarda üretilmesi incelendiğinde bu hücrelerin koloni (büyük hücre grupları) oluşturabilmesi için dışardan büyüme faktörü (Interleukin-3, Granülosit veya/ve Makrofaj Koloni Uyarıcı faktörler) eklenmesi gerektiği ortaya çıkmıştır. Bu büyüme faktörleri çeşitli hücrelerden salgılanan hematopoez üzerine çeşitli etkileri olan moleküllerdir (sitokinler). Son yıllarda moleküler biyolojik gelişmeler bize hastalık etyolojisinde sorumlu tutulan sitokin genlerinin izolasyonunu, sentezlenmesi ve hatta insan/fare genomuna transferi ile bunun klinik sonuçlarını inceleme olanaklarını sağlamıştır. Bu şekilde farelere bcr-abl protoonkogen transfeksiyonu ile ortaya çıkan KML benzeri tablo çok ilgi uyandırırken Interleukin-3 (IL-3) gen

transfeksiyonu ile yine KML-benzeri klinik tablo elde edilmesi çok daha ilgi çekicidir (12-14).

KML hücrelerine GM-CSF ve IL-3 eklenmesinin hücre proliferasyonunu artırıcı etkilerinin gözlenmesini diğer sitokinlerin etkilerinin araştırılması izlemiştir. Talpaz grubu tarafından gösterilen in vitro IL-1 antagonistleri ile solubl IL-1 reseptörünün antiproliferatif etkileri ilerde KML tedavisinde yeni bir tedavi olasılığını gündeme getirmektedir. Diğer ilginç bir nokta da KML teda-

visinde çok özel bir yeri olan interferon'a duyarlı kişilerde elde edilen hücrelerde yapılan in vitro çalışmaların sonucudur. Bu hücrelere IL-1 eklenmesi hücre proliferasyonunu arttırırken bu etki interferon'a dirençli hasta hücrelerinde gözlenememiştir (15).

Sonuç olarak yukarıda örnekleri sunulan değişik hematolojik hastalık etyolojilerinde sitokinlerin varlığı önümüzdeki yakın gelecekte tedavide büyük adımlara neden olabilecek potansiyelindedir.

## KAYNAKLAR

1. Epstein J. Myeloma phenotype: clues to disease origin and manifestation. *Hematology/Oncology Clinics of North America* 6(2):249-56.
2. Klein B, Zhang x-G, Jourdan M, et al. Paracrine rather than autocrine regulation of myeloma-cell growth and differentiation by Interleukin-6. *Blood* 1989; 73:517-26.
3. Cozzolino F, Torcia M, Aldinucci D, et al. Production of interleukin-1 by bone marrow myeloma cells. *Blood* 1989; 74:380-5.
4. Epstein J, Xiao H, He XY. Markers of multiple hematopoietic-cell lineages in multiple myeloma. *N Engl J Med* 1990;322:664-8.
5. Osby E, Beksac M, Reizenstein P. Alternating combination therapy doesn't delay development of refractoriness in myeloma. *Anticancer research* 1986; 6:1145-8.
6. Klein B, Bataille R. Cytokine network in human multiple myeloma. *Hematology/Oncology Clinics of North America* 1992;6(2):273-84.
7. Klein B, Nizdenes J, Zhang X-G, et al. Murine anti Interleukin 6 monoclonal antibody therapy for a patients with plasma cell leukemia. *Blood* 1991; 78(5):1198-1204.
8. Heslop HE, Brenner MK, Ganeshagunu K, Hoffbrand AV. Possible mechanism of action of Interferon alpha in chronic B-cell malignancies. *Br J Haematology* 1991; 79 (Suppl 1):14-6.
9. Beksac M, Ertürk Ş, Akan H, Koç H, İlhan O, Şardaş OS. Clinical correlations of serum TNF in acute leukemias. *Leukemia (Basımda)*.
10. Cordingley FT, Hoffbrand AV, Heslop HE, Tunner M, Bianchi A, Reittie JE, Vyakarnam A, Meager A, Brenner MK. Tumor necrosis factor as an autocrine tumour growth factor for chronic B-cell malignancies. *Lancet* 1988; i:969-71.
11. Genot E, Sarfati M, Sigaux F, Petit-Koskas E, et al. Effect of Interferon-a on the expression and release of the CD23 Molecule in Hairy cell Leukemia. *Blood* 1989; 74(7):2455-63.
12. Eaves CJ. Biology of chronic myeloid leukemia 24<sup>th</sup> congress of the International Society of Haematology 1991, State of the Art Symposia *British J Haematology* 1992; 82(1): 19-20.
13. Witte ON. The molecular basis of chronic myelogenous leukemia. *Br J Haem* 1992; 82(1):21-22.
14. Griffin JD. Growth control of leukemic cells (Limited lecture) 24<sup>th</sup> congress of the International Society of Haematology, London 1992.
15. Estrov Z, Kurziok R, Wetzler M, Kantarjian H, Blake M, Harris D, Gutterman JU, Talpaz M. Suppression of CML colony growth by Interleukin-1 receptor antagonist and soluble IL-1 receptors: a novel application for inhibitors of IL-2 activity, *Blood* 1991; 78(6):1476-84.