

Glial Tümörlerde Angiogenesis ve Prognoz İlişkisi

Rezzan ERGUVAN-ÖNAL¹, Hale KIRIMLIOĞLU¹, Çağatay ÖNAL²,
Haldun Şükrü ERKAL³, Ö. Murat AYDIN⁴, N. Engin AYDIN¹

¹ İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Malatya

² İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı, Malatya

³ İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Malatya

⁴ İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Malatya

Relationship Between Angiogenesis and Prognosis in Glial Tumors

✓ **Objective:** Glial tumors constitute about 40-45 % of all intracranial tumors. These tumors, which can occur in all ages, are known to have high mortality and morbidity rates. There are many studies in literature aimed to detect the prognosis and the new modalities of therapy in glial tumors. Recently a new parameter is considered besides other well known prognostic factors: Angiogenesis. In such studies it is reported that CD31 is very specific for endothelial cells. The aim of this study is to investigate the prognostic significance of angiogenesis correlated with the patients age, sex, tumor grade, histological findings and survival by the help of CD31 staining consistency and intensity.

Methods: In this retrospective study, 36 cases of glial tumors from the archives of Inonu University School of Medicine Department of Pathology between 1995 and 2000 were studied. Staining densities for CD31, types and extension of angiogenesis, and comparison of this feature with other known prognostic factors were examined.

Conclusion: Channelled-telangiectatic and solid-glomeruloid types of vascular proliferation were found to have a major role in growth of tumor yielding an increased vascular supply. It is considered that these types of vascular proliferations had roles in different stages of angiogenesis and were important in the progression of these tumors.

Key words: Angiogenesis, CD31, endothelial marker, glial tumor, prognostic factor

J Nervous Sys Surgery 2008; 1(4):229-242

✓ **Amaç:** İntrakranyal tümörlerin yaklaşık % 40-45'ini glial tümörler oluşturur. Her yaş grubunda görülebilen bu tümörlerin mortalite ve morbiditelerinin yüksek olması nedeniyle, özellikle prognos ve yeni tedavi yöntemlerinin saptanmasına yönelik pek çok çalışma mevcuttur. Son zamanlarda yıllardır bilinen prognostik faktörlerin dışında yeni bir parametre üzerinde durulmaya başlanmıştır: Anjiogenez. Bu konuya yönelik çalışmalarda CD31'in endotel hücreleri için çok özgün olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmadaki amaç, CD31 antikoruna boyanma yoğunluğu ve oranı yardımıyla glial tümörlerde yeni gelişen damarların özelliklerinin yaş, cins, tümör histolojik gradı, histolojik özellikler ve sağkalm süresi ile ilişkilendirilerek prognozdeki yerini irdelemektir.

Yöntem: Bu makalede İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na 1995-2000 yılları arasında gelen ve "glial tümör" tanısı alan, immünohistokimyasal incelemeye uygun 36 olguda, CD31 antikoruna kullanılarak damarların boyanma yoğunlukları, damarlanma tipleri, yaygınlıkları ve anjiogenezin bilinen prognostik faktörlerle karşılaştırılması incelendi.

Sonuç: Elde edilen sonuçlar, kanallar oluşturan-telanjektatik ve solid-glomeruloid tip vasküler proliferasyonların, tümör büyümesi ve gelişmesi sırasında tümöral dokunun artan kanlanma ve beslenme gereksinimini karşılamakta temel rol oynadığını düşündürmektedir. Bu bulgular literatürdeki sonuçlar ile beraber değerlendirildiğinde, bu tiplerin anjiogenezin farklı aşamalarında rol oynadığı ve tümörlerin progresyonunda önemli olduğu düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Angiogenesis, CD31, endotelial marker, glial tümör, prognostik faktör

J Nervous Sys Surgery 2008; 1(4):229-242

Kanserinin büyüme ve gelişiminden çeşitli büyüme faktörleri, yeni eklenen genetik bozukluklar, mitoz ve apoptoz sorumlu tutulmaktadır. Normal hücreler gibi tümör hücreleri de damarlar yoluyla ulaşan oksijene, besinlere ve artık maddelerin uzaklaştırılmasına gereksinim duyar. Tümör hücrelerinin metabolik gereksinimlerinin karşılanması büyüme için gereklidir (3,21).

Anjiogenez, daha önce var olan damarlardan yeni damarların oluşması anlamına gelir. Embriogenez, endometrial proliferasyon, yara iyileşmesi gibi fizyolojik olayların yanı sıra diyabetik retinopati örneğinde olduğu gibi retinal neovaskülarizasyonda, hemanjiom, psöriazis, artrit gibi selim hadiselerde, tümörün büyümesinde ve metastaz yapmasında rol alır (2,3,16,21).

İntrakranial tümörlerin % 40-45'ini oluşturan glial tümörlerin mortalite ve morbiditesi yüksektir (14). Beyin tümörlerinin klinik gidişi kişinin savunma sistemi, lezyonun konumu, proliferasyon kapasitesi, infiltrasyonu ve tedaviye direnci gibi pek çok etmene bağlıdır (6,18). Histolojik faktörlerin prognozdeki etkisi belirgin değildir (8,19). Tümörün histolojik gradının ve proliferasyon kapasitesinin glioma prognozunda önemli olduğu kabul edilmektedir (1,8,14).

Glial tümörlerde (glioma) de anjiogenez ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Transforme edici büyüme faktörü-β1 ve endotelin-1 ile yapılan çalışmalarda çeşitli adhezyon molekülleri ve integrinlerin gliomalardaki ekspresyonunda farklılıklar bulunmuştur (20). Çalışmada kullanılan CD31 antikoru tüm damarlardaki endotel hücrelerini boyadığı için tercih edilmiştir (12). Amaç, CD31 antikoru boyanma yoğunluğu ve oranı yardımıyla glial tümörlerde yeni gelişen damarların özelliklerinin yaş, cins, tümör histolojik gradı, histolojik özellikler ve sağkalım süresi ile ilişkilendirilerek prognozdeki yerini irdelemektir.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışma, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı'na 1995-2000 yılları arasında gelen ve "glial tümör" tanısı alan, immünohistokimyasal incelemeye uygun 36 olguyu kapsamaktadır. Mevcut olgulara ait hematoksilen-eosin (H.E.) boyalı parafin kesitler yeniden incelenerek prognostik faktörler açısından değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada değerlendirilen kriterler, bilinen prognostik faktörler olan histolojik grad, hücresellik, nekroz, apoptoz, mitoz, pleomorfizm ve dev hücre varlığının yanı sıra anjiogenez değerlendirebilmek açısından bir endotelial belirteç olan CD31 pozitifliğini kapsamaktadır. Çalışmada merkezi sinir sistemi tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2007 sınıflaması esas alınmıştır.

Anjiogenezin değerlendirilmesinde immünohistokimyasal inceleme için her bir bloktan polilizinli cam üzerine 5'er µm kalınlıkta birer kesit alınmış, alınan kesitler 60 °C'lik etüvde bir saat alıkonduktan sonra 20 dk. süreyle ksilende bekletilerek deparafinize edilmiştir. Lamlar % 10'luk sitrat tampon çözeltisi içinde 90 santigrat derecelik su içinde Benmari yöntemiyle 30 dk. süreyle ısıtılmış, daha sonra yine aynı su içinde 30 dk. soğumaya bırakılmıştır. Kullanıma hazır hale gelen lamlar 5 dk. süreyle % 3'lük hidrojen peroksitte bekletilmiş, tampon çözelti ile yıkanarak primer antikor olan CD31 (DAKO-LSAB) uygulanmıştır. On dk.'lık bekleme süresini takiben tampon çözeltiyle yıkanmıştır. Biotinile link ile 10 dk.'lık muamele sonrası tampon çözelti uygulanmış ve 10 dk. horseradish peroxidaza konjuge streptavidinde (streptavidin-HRP) bekletilmiş, daha sonra 10 dk. kromojende bırakılmıştır. Olguların bir kısmında 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) kromojen, bir kısmında ise 3,3'-diaminobenzidine (DAB) kromojen kullanılmıştır. Distile su ile yıkandıktan sonra karşıt boya olarak kullanılan hematoksilende 1 dk. bekletilmiştir. AEC kromojen kullanılan prepa-

ratlar gliserin jel ile, DAB kromojen kullanılanlar ise ksilenle muamele sonrası balsam ile kapatılmıştır.

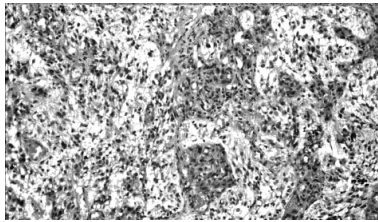
Tümör dokusundaki damarlara ait endotel hücrelerinin CD31 ile boyanma yoğunluğu üç derecede ele alınmıştır:

1. Zayıf boyanma gösterenler
2. Hafif boyanma gösterenler
3. Kuvvetli boyanma gösterenler

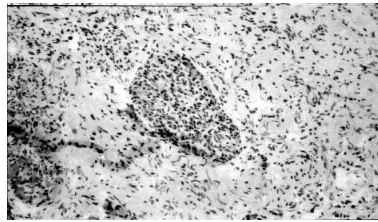
Bu değerlendirme yapılırken normal beyin dokusundaki damarların endotel hücreleri esas alınmıştır. Tümör dokusundaki endotel hücrelerinin normal beyin dokusundaki endotel hücrelerine göre daha az boyandığı durumlar “zayıf”, eşit boyandığı durumlar “hafif” ve daha fazla boyandığı durumlar “kuvvetli” boyanma olarak kabul edilmiştir.

Boyanma gösteren damar yapıları ayrıca üç grupta sınıflandırılmıştır:

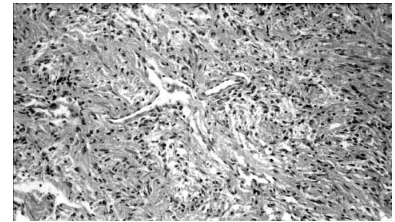
- a) Solid-glomerüloid (Resim 1, 2)
- b) Kanallar-dallar oluşturan (Resim 3, 4)
- c) Kanallar oluşturan-telenjektatik (Resim 5, 6) ⁽²⁰⁾.



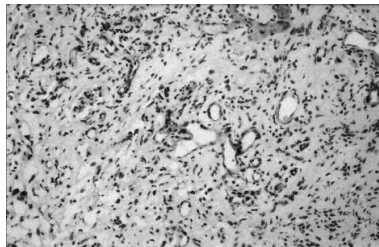
Resim 1. Solid-glomerüloid tipte damar yapısı (H.E X 100).



Resim 2. Solid-glomerüloid tipte damarda boyanma (CD31 X 100).



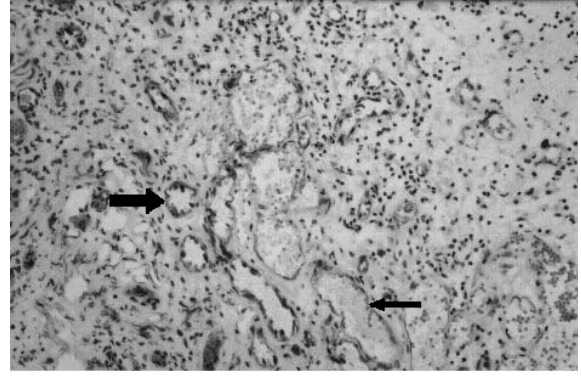
Resim 3. Kanallar-dallar oluşturan tipte damar yapısı (H.E X 100).



Resim 4. Kanallar-dallar oluşturan tipte damarda boyanma (CD31 X 100).



Resim 5. Kanallar oluşturan-telenjektatik tipte damar yapısı (H.E X 40).



Resim 6. Kanallar oluşturan-telenjektatik tipte damar (ince ok) CD31 ile hafif boyanma gösterirken kanallar-dallar oluşturan tipte (kalın ok) kuvvetli boyanma izlenmektedir (CD31 X 100).

Anjiogenez oranının belirlenmesinde ise boyanma gösteren damarların tüm damarlara oranı göz önüne alınmıştır: % 5'ten azında boyanma izlenenler (+), % 5-75 arasındakiler (++), % 75'in üzerinde boyananlar (+++) kabul edilmiştir.

Anjiogenez açısından damarlanma tipi, CD31 boyanma kuvveti ve oranı belirlendikten sonra tümör histolojik gradı ve diğer prognostik parametreler ile karşılaştırılmıştır. Verilerin analizi SPSS programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analizlerde ki-kare ve Kruskal-Wallis hipotez testleri kullanılmıştır.

Table 1. Olgularımızda histolojik gradlara göre damarlanma tiplerinin dağılımı.

	SG				Toplam		KO-T				Toplam		K-DO				Toplam	
	Yok		Var		#	%	Yok		Var		#	%	Yok		Var		#	%
	#	%	#	%			#	%	#	%			#	%	#	%		
Grad II	10	83.3	2	16.7	12	100	8	66.7	4	33.3	12	100	0	0	12	100	12	100
Grad III	5	55.6	4	44.4	9	100	3	33.3	6	66.7	9	100	0	0	9	100	9	100
Grad IV	3	20	12	80	15	100	3	20	12	80	15	100	0	0	15	100	15	100
Toplam	18	50	18	50	36	100	14	38.9	22	61.1	36	100	0	0	36	100	36	100
	p=0.004 $\chi^2=10.84$				p=0.04 $\chi^2=6.27$													

SG= Solid-glomerüloid tipte damarlanma; KO-T= Kanallar oluşturan-telenjektatik tipte damarlanma; K-DO= Kanallar-dallar oluşturan tipte damarlanma

Table 2. Olgularımızda histolojik gradlara göre damarlanma tiplerindeki CD31 boyanma yoğunluğu dağılımı.

	SG CD31 by					Toplam		KO-T CD31 by					Toplam		K-DO CD31 by					Toplam										
	Yok		Zayıf		Hafif	Kuvvetli	#	%	Yok		Zayıf		Hafif	Kuvvetli	#	%	Yok		Zayıf		Hafif	Kuvvetli	#	%						
	#	%	#	%	#	%			#	%	#	%	#	%			#	%	#	%	#	%			#	%				
Grad II	10	83.3	1	8.3	0	0	12	100	12	100	8	66.6	2	16.7	1	8.3	12	100	0	0	6	50	2	16.7	4	33.3	12	100		
Grad III	5	55.6	1	11.1	2	22.2	9	100	9	100	3	33.3	1	11.1	0	0	5	55.6	9	100	0	0	5	55.6	4	44.4	0	0	9	100
Grad IV	3	20	4	26.6	2	13.3	15	100	15	100	3	20	3	20	4	26.7	5	33.3	15	100	0	0	4	26.7	3	20	8	53.3	15	100
Toplam	18	50	6	16.6	4	11.1	36	100	36	100	14	38.9	6	16.7	5	13.9	11	30.5	36	100	0	0	15	41.7	9	25	12	33.3	36	100
	p=0.004 $\chi^2=10.84$					p=0.05 $\chi^2=11.19$					p=0.1 $\chi^2=10.44$																			

SG= Solid-glomerüloid tipte damarlanma; KO-T= Kanallar oluşturan-telenjektatik tipte damarlanma; K-DO= Kanallar-dallar oluşturan tipte damarlanma; by= boyanma yoğunluğu.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 36 hastanın yaşları 3-71 arasında değişmektedir (ortalama 42, medyan 45). Hastaların 22 si (% 61) erkek, 14'ü (% 39) kadın hastalardan oluşmaktadır.

Histolojik grad I olgumuz mevcut değildir. On iki hastada (% 33.3) histolojik grad II tümör, 9 hastada (% 25) histolojik grad III tümör ve 15 hastada (% 41.7) histolojik grad IV tümör saptanmıştır. Histolojik grad I ve II "düşük", histolojik grad III ve IV "yüksek" olarak değerlendirildiğinde, olguların 24'ü (% 66.7) yüksek histolojik gradlı, 12'si (% 33.3) düşük histolojik gradlı tümörlerden oluşmaktadır.

On altı olguda nekroz bulunmuş, 20 olguda ise nekroz izlenmemiştir. Apoptoz sayısı 10 büyük büyütme alanında (BBA) en düşük 2, en yüksek 98'dir. Mitoz sayıları 10 BBA'da 1-48 arasında değişmektedir. On olguda hafif derecede, 14 olguda orta derecede ve 12 olguda ileri derecede

pleomorfizm izlenmiştir. Yedi olguda dev hücre bulunduğu, 29 olguda bulunmadığı görülmüştür.

On dokuz olguda solid-glomerüloid damar yapıları saptanmış, bunların 8'inde kuvvetli, 4'ünde hafif, 7'sinde zayıf boyanma izlenmiştir. Onunda % 5'ten az, 8'inde % 5-75 arasında, 1'inde ise % 75'ten fazla damar yapısı bulunduğu görülmüştür.

Otuz altı olgunun hepsinde kanallar-dallar oluşturan tipte damarlanma izlenmiş, bunların 12'sinde kuvvetli, 9'unda hafif, 15'inde zayıf boyanma görülmüştür. Yedisinde % 5'ten az, 20'sinde % 5-75 arasında, 9'unda % 75'ten fazla damarlanma saptanmıştır.

Yirmi iki olguda kanallar oluşturan-telenjektatik tipte damarlanma görülmüş, 11'inde kuvvetli, 5'inde hafif, 6'sında zayıf boyanma izlenmiştir. Yedisinde % 5'ten az, 10'unda % 5-75 arasında, 5'inde ise % 75'ten fazla damarlanma saptanmıştır.

Solid glomerüloid tipte damar paterni 12 histolojik grad II olgunun 2'sinde (% 16.7), 9 histolojik grad III olgunun 4'ünde (% 44.4), 15 histolojik grad IV olgunun 12'sinde (% 80) saptandı. Tümörün histolojik gradı ile solid-glomerüloid tipte damarlanma arasında istatistiksel anlamlılık mevcuttu ($p=0.004$) (Tablo 1).

Kanallar-dallar oluşturan damar tipi tüm gliomalarda saptandı (% 100) (Tablo 1).

Kanallar oluşturan-telenjiyektatik tipte damarlanma histolojik grad II olguların 4'ünde (4/12) (% 33.3), histolojik grad III olguların 6'sında (6/9) (% 66.7), histolojik grad IV olguların 12'sinde (12/15) (% 80) izlendi. Gliomalarda histolojik grad ile kanallar oluşturan-telenjiyektatik tip arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p=0.04$) (Tablo 1).

Olgular, CD31 ile boyanma kuvveti yönünden değerlendirildiğinde, kanallar-dallar oluşturan damar tipinde histolojik grad II tümörlerin 6'sında zayıf (6/12) (% 50), 2'sinde hafif (2/12) (% 16.7), 4'ünde kuvvetli boyanma izlendi. Histolojik grad III gliomaların 5'inde (5/9) (% 55.6) zayıf, 4'ünde (4/9) (% 44.6) hafif boyanma izlendi. Histolojik grad III tümörlerde kanallar-dallar oluşturan damar tipinde CD31 ile kuvvetli boyanma izlenmedi. Histolojik grad IV gliomalarda 4 olguda zayıf (4/15) (% 26.7), 3 olguda hafif (3/15) (% 20), 8 olguda kuvvetli (8/15) (% 53.3) boyanma izlendi. Bu tip damarlanmada CD31 boyanma yoğunluğu ile histolo-

jik grad arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 2).

Solid-glomerüloid tipte damarlanma gösteren histolojik grad II gliomalarda CD31 boyanma yoğunluğu boyanan 2 olgudan 1'inde zayıf (% 8.3), 1'inde kuvvetli (% 8.3) olarak değerlendirildi. Histolojik grad III olgulardan 1 olguda zayıf (% 11.1), 2 olguda hafif (% 22.2), 1 olguda kuvvetli (% 11.1) boyanma izlendi. CD31 boyanma yoğunluğu histolojik grad IV olgularda 4 olguda zayıf (% 26.7), 2 olguda hafif (% 13.3), 6 olguda kuvvetli (% 40) olarak saptandı. Solid-glomerüloid tip damarlanmada CD31 boyanma yoğunluğu ile glioma histolojik gradı arasında istatistiksel anlamlılık bulundu ($p=0.04$) (Tablo 2).

Kanallar oluşturan-telenjiyektatik tipte damarlanma gösteren histolojik grad II glioma olgularının 2'sinde (% 16.7) zayıf, 1'inde (% 8.3) hafif, 1'inde (% 8.3) kuvvetli boyanma izlendi. Histolojik grad III olguların 1'i (% 11.1) zayıf, 5'i (% 55.6) kuvvetli boyanma gösterdi. Histolojik grad IV olguların 3'ü zayıf (% 20), 4'ü hafif (% 26.7), 5'i kuvvetli (% 33.3) boyanma gösterdi. Kanallar oluşturan-telenjiyektatik tipte damarlanmada CD31 boyanma yoğunluğu ile evre arasında istatistiksel anlamlı ilişki mevcuttu ($p=0.05$) (Tablo 2).

Solid-glomerüloid tipin tümör içi yaygınlığı açısından glioma histolojik gradı ile karşılaştırıldığında histolojik grad II olguların 1'i (% 8.3)

Table 3. Olgularımızda histolojik gradlara göre damarlanma tiplerindeki yaygınlığın dağılımı.

	SG yaygınlığı				Toplam	KO-T yaygınlığı				Toplam	K-DO yaygınlığı				Toplam		
	0		>% 5			0		>% 5			0		<% 5			>% 5	
	#	%	#	%		#	%	#	%		#	%	#	%		#	%
Grad II	10	84.4	0	0	12	100	8	66.7	0	25	3	25	1	8.3	12	100	
Grad III	5	55.6	1	11.1	3	33.3	0	0	4	44.5	9	100	0	0	2	22.2	
Grad IV	3	20	7	46.7	5	33.3	0	0	15	100	3	20	4	26.7	6	40	
Toplam	18	50	8	22.2	9	25	1	2.7	36	100	14	38.9	7	19.4	10	27.8	

$p=0.01$ $\chi^2=16.62$

$p=0.002$ $\chi^2=20.55$

$p=0.5$ $\chi^2=3.45$

SG=Solid-glomerüloid tipte damarlanma; KO-T= Kanallar oluşturan-telenjiyektatik tipte damarlanma; K-DO= Kanallar-dallar oluşturan tipte damarlanma.

% 5-75, 1'i (% 8.3) % 75'ten fazla tümör alanında görüldü. Histolojik grad III olguların 1'inde (% 11.1) % 5'ten az, 3'ünde (% 33.3) % 5-75 alanda solid-glomerüloid damarlanma izlendi. Histolojik grad IV gliomaların 7'sinde (% 46.7) % 5'ten az, 5 olguda (% 33.3) % 5-75 alanda solid-glomerüloid damarlanma saptandı. Bu damar tipinin yaygınlığı ile histolojik grad ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.01$) (Tablo 3).

Kanallar-dallar oluşturan tip damarlanma yaygınlığı ile histolojik grad ilişkisi değerlendirildiğinde histolojik grad II olguların 1'inde (% 8.3) % 5'ten az, 9'unda (% 75) % 5-75 arası, 2'sinde (% 16.7) % 75'ten fazla tümör alanında bu tip damarlanma izlendi. Histolojik grad III gliomalarındaki dağılımda; 2 olguda (% 22.2) % 5'ten az, 5 olguda (% 55.6) % 5-75 arası, 2 olguda (% 22.2) % 75'ten fazla alanda bu tip damarlanma saptandı. Histolojik grad IV olguların 4'ünde (% 26.7) % 5'ten az alanda, 6'sında (% 40) % 5-75 arası, 5'inde (% 33.3) % 75'ten fazla tümör alanında kanallar-dallar oluşturan tip damarlanma izlendi. Bu tip damarlanma yaygınlığı ve tümör histolojik gradı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 3).

Kanallar oluşturan-telenjiektatik tipte histolojik grad II olguların 3'ünde (% 25) % 5-75 tümör alanında, 1'inde (% 8.3) % 75'ten fazla; histolojik grad III olguların 2'sinde (% 22.2) % 5'ten az, 4'ünde (% 44.5) % 75'ten fazla tümör alanında; histolojik grad IV tümörlerin 5'inde (% 33.3) % 5'ten az, 7'sinde (% 46.7) % 5-75 tümör alanında damarlanma izlendi. Bu tip damarlanma yaygınlığı ile tümör histolojik gradı arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.002$) (Tablo 3).

Solid-glomerüloid tipte damarlanması olan ve olmayan olguların ortalama yaşları karşılaştırıldığında belirgin farklılık yoktu. Bu tip damarlanma ile hücreliliği az ve fazla olan olgular

karşılaştırıldığında, hücreliliği fazla olan olgular lehine solid-glomerüloid tipte damarlanma bulundu ($p=0.01$). Nekroz ile solid-glomerüloid tipte damarlanma varlığı karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel ilişki mevcuttu ($p=0.008$). Apoptoz ortalamaları ve mitoz ortalamaları ile solid-glomerüloid tipte damarlanma saptanan olgular ile saptanmayan olgular karşılaştırıldığında, istatistiksel anlamlılık saptandı ($p<0.001$), ($p=0.007$). Pleomorfizm ve dev hücre varlığı yönünden solid-glomerüloid damarlanma saptanan ve saptanmayan olgular arasında belirgin fark gözlenmedi ($p>0.05$).

Kanallar oluşturan-telenjiektatik tipte damarlanma olan ve olmayan olguların ortalama yaşları karşılaştırıldığında belirgin farklılık yoktu ($p>0.05$). Bu tip damarlanma ile olguların hücreliliği karşılaştırıldığında hücreliliği fazla olan olgular lehine kanallar oluşturan-telenjiektatik tipte damarlanma izlendi ($p=0.006$). Nekroz yönünden kanallar oluşturan-telenjiektatik tipte damarlanma karşılaştırıldığında nekroz varlığı lehine anlamlılık mevcuttu ($p=0.13$). Ortalama apoptotik indeks bu tip damarlanma gösteren ve göstermeyen olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.03$). Mitotik indeks, pleomorfizm, dev hücre varlığı yönünden kanallar oluşturan-telenjiektatik tipte damarlanma gösteren ve göstermeyen olgular arasında belirgin farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Kanallar-dallar oluşturan damarlanma tipi tüm olgularda görüldüğü için istatistiksel değerlendirme yapılamadı. Sağkalım sürelerinin ortalama ile damarlanma tipleri arasında belirgin farklılık yoktu ($p>0.05$) (Tablo 4).

Solid-glomerüloid tipte damarlanma görülen olgularda CD31 boyanma yoğunluğu ortalama yaş ile karşılaştırıldığında belirgin farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Bu tip damarlanma ile olguların hücreliliği karşılaştırıldığında yüksek hücrelilik saptanan olgular lehine anlamlılık mevcuttu ($p=0.06$). Apoptoz ortalamaları ve

Table 4. Damarlanma tiplerine göre CD31 boyanma yoğunluğunun Kruskal-Wallis testi ile istatistiksel olarak karşılaştırılmalı sonuçları.

	SG				KO-T				K-DO			
	CD31 by	#	Ortalama	P değeri	CD31 by	#	Ortalama	P değeri	CD31 by	#	Ortalama	P değeri
Yaş	Yok	18	18.89	0.14	Yok	14	20.11	0.54	Yok	0	0	0.74
	Zayıf	16	16.42		Zayıf	6	21.83		Zayıf	15	17.64	
	Hafif	4	28.63		Hafif	5	17.50		Hafif	9	21.78	
	Kuvvetli	8	14.13		Kuvvetli	11	15.09		Kuvvetli	12	17.38	
Hücresellik	Yok	18	14.72	0.06	Yok	14	13.21	0.03	Yok	0	0	0.20
	Zayıf	16	20.83		Zayıf	6	18.00		Zayıf	15	15.00	
	Hafif	4	26.50		Hafif	5	23.10		Hafif	9	22.72	
	Kuvvetli	8	21.25		Kuvvetli	11	23.41		Kuvvetli	12	18.75	
Nekroz	Yok	18	22.50	0.05	Yok	14	21.36	0.26	Yok	0	0	0.03
	Zayıf	16	14.50		Zayıf	6	17.50		Zayıf	15	21.36	
	Hafif	4	17.50		Hafif	5	12.10		Hafif	9	22.50	
	Kuvvetli	8	13.00		Kuvvetli	11	18.32		Kuvvetli	12	13.00	
Apoptoz	Yok	18	12.19	0.005	Yok	14	13.71	0.10	Yok	0	0	0.61
	Zayıf	16	23.67		Zayıf	6	18.75		Zayıf	15	15.64	
	Hafif	4	24.63		Hafif	5	26.10		Hafif	9	20.06	
	Kuvvetli	8	25.75		Kuvvetli	11	21.00		Kuvvetli	12	20.21	
Mitoz	Yok	18	13.86	0.01	Yok	14	14.93	0.23	Yok	0	0	0.62
	Zayıf	16	25.17		Zayıf	6	16.50		Zayıf	15	17.71	
	Hafif	4	14.25		Hafif	5	20.80		Hafif	9	20.44	
	Kuvvetli	8	26.06		Kuvvetli	11	23.09		Kuvvetli	12	17.04	
Pleomorfizm	Yok	18	16.28	0.001	Yok	14	18.50	0.99	Yok	0	0	0.96
	Zayıf	16	19.67		Zayıf	6	17.75		Zayıf	15	17.46	
	Hafif	4	6.00		Hafif	5	18.10		Hafif	9	19.61	
	Kuvvetli	8	28.88		Kuvvetli	11	19.09		Kuvvetli	12	18.96	
Dev hücre	Yok	18	20.00	0.09	Yok	14	18.14	0.99	Yok	0	0	0.99
	Zayıf	16	19.00		Zayıf	6	19.00		Zayıf	15	16.86	
	Hafif	4	22.00		Hafif	5	18.40		Hafif	9	20.00	
	Kuvvetli	8	13.00		Kuvvetli	11	18.73		Kuvvetli	12	19.00	
Sağkalım	Yok	18	16.86	0.30	Yok	14	19.96	0.21	Yok	0	0	0.89
	Zayıf	16	23.08		Zayıf	6	15.83		Zayıf	15	19.75	
	Hafif	4	13.75		Hafif	5	11.60		Hafif	9	18.06	
	Kuvvetli	8	21.13		Kuvvetli	11	21.23		Kuvvetli	12	17.13	

SG=Solid-glomerüloid tipte damarlanma; KO-T= Kanallar oluşturan-telenjektatik tipte damarlanma; K-DO= Kanallar-dallar oluşturan tipte damarlanma; CD31 by= CD31 boyanma yoğunluğu.

mitoz ortalamaları ile solid-glomerüloid damarlanma saptanan ve saptanmayan olgular karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık saptandı (p=0.005), (p=0.01). Nekroz ile solid-glomerüloid tipte damarlanma varlığı karşılaştırıldığında solid-glomerüloid damarlanma saptanan olgular ile nekroz varlığı istatistiksel olarak ilişkiliydi (p=0.05). Pleomorfizm yönünden değerlendirildiğinde solid glomerüloid tipte damar içeren olgularda belirgin pleomorfizm lehine istatistiksel anlamlılık mevcuttu (p=0.001). Dev hücre varlığı yönünden solid-glomerüloid tipte damarlanma gösteren ve göstermeyen olgular arasında

belirgin farklılık saptanmadı (p>0.05) (Tablo 4).

Kanallar oluşturan-telenjektatik tipte damarlanma görülen olgularda CD31 boyanma yoğunluğu hücresellik yönünden değerlendirildiğinde, yüksek hücresellik saptanan olgular lehine anlamlılık mevcuttu (p=0.03). Ortalama yaş, nekroz varlığı, mitotik indeks, pleomorfizm ve dev hücre varlığı yönünden kanallar oluşturan-telenjektatik tip damarlanmada CD31 boyanma yoğunluğu açısından belirgin farklılık saptanmadı (Tablo 4).

Table 5. Damarlanma tiplerinin tümör içi yaygınlığına göre gruplandırıldığında Kruskal-Wallis testi ile istatistiksel olarak karşılaştırılmalı sonuçları.

	SG				KO-T				K-DO			
	Tiy	#	Ortalama	P değeri	Tiy	#	Ortalama	P değeri	Tiy	#	Ortalama	P değeri
Yaş	Yok	18	18.89	0.55	Yok	14	20.11	0.81	Yok	0	0	0.92
	<%5	8	14.38		<%5	7	15.93		<%5	6	16.42	
	%5-75	9	21.61		%5-75	10	17.35		%5-75	20	19.23	
	>%75	1	16.50		>%75	5	19.90		>%75	9	18.72	
Hüresellik	Yok	18	14.72	0.06	Yok	14	13.21	0.04	Yok	0	0	0.21
	<%5	8	24.38		<%5	7	24.07		<%5	6	23.67	
	%5-75	9	22.72		%5-75	10	21.40		%5-75	20	15.90	
	>%75	1	1.50		>%75	5	19.70		>%75	9	19.94	
Nekroz	Yok	18	22.50	0.04	Yok	14	21.36	0.01	Yok	0	0	0.26
	<%5	8	13.00		<%5	7	11.07		<%5	6	20.50	
	%5-75	9	16.50		%5-75	10	15.70		%5-75	20	20.20	
	>%75	1	8.50		>%75	5	26.50		>%75	9	14.50	
Apoptoz	Yok	18	12.19	0.001	Yok	14	13.71	0.02	Yok	0	0	0.39
	<%5	8	27.13		<%5	7	27.14		<%5	6	22.50	
	%5-75	9	24.50		%5-75	10	21.75		%5-75	20	15.82	
	>%75	1	9.00		>%75	5	13.30		>%75	9	21.17	
Mitoz	Yok	18	13.86	0.04	Yok	14	14.93	0.28	Yok	0	0	0.06
	<%5	8	25.63		<%5	7	22.00		<%5	6	26.25	
	%5-75	9	21.56		%5-75	10	22.05		%5-75	20	14.65	
	>%75	1	17.50		>%75	5	16.50		>%75	9	20.67	
Pleomorfizm	Yok	18	16.28	0.29	Yok	14	18.50	0.85	Yok	0	0	0.06
	<%5	8	24.38		<%5	7	18.14		<%5	6	28.33	
	%5-75	9	17.83		%5-75	10	20.25		%5-75	20	15.82	
	>%75	1	17.50		>%75	5	15.50		>%75	9	18.00	
Dev hücre	Yok	18	20.00	0.52	Yok	14	18.14	0.81	Yok	0	0	0.95
	<%5	8	17.50		<%5	7	16.86		<%5	6	19.00	
	%5-75	9	16.00		%5-75	10	20.20		%5-75	20	18.40	
	>%75	1	22.00		>%75	5	18.40		>%75	9	18.00	
Sağkalım	Yok	18	16.86	0.75	Yok	14	19.96	0.63	Yok	0	0	0.97
	<%5	8	20.75		<%5	7	14.43		<%5	6	18.92	
	%5-75	9	19.44		%5-75	10	19.35		%5-75	20	17.95	
	>%75	1	21.50		>%75	5	18.40		>%75	9	19.11	

SG=Solid-glomerüloid tipte damarlanma; KO-T= Kanallar oluşturan-telenjektatik tipte damarlanma; K-DO= Kanallar-dallar oluşturan tipte damarlanma; Tiy= Tümör içi yaygınlık.

Kanallar-dallar oluşturan tipte damarlanma nekroz olan olgularda daha belirgin olarak CD31 ile daha zayıf-hafif boyanma gösterdi (p=0.03). Ortalama yaş, hüresellik, apoptotik indeks, mitotik indeks, pleomorfizm ve dev hücre varlığı yönünden kanallar-dallar oluşturan damarlanma CD31 boyanma yoğunluğu farklı olgular karşılaştırıldığında, istatistiksel anlamlılık saptanmadı (p>0.05) (Tablo 4).

Solid-glomerüloid tipte damarlanmanın tümör içi yaygınlığı, hüreselliği az ve fazla olan olgular ile karşılaştırıldığında, hüreselliği fazla olan

olgularda bu damar tipi daha yaygın olarak saptandı (p=0.06). Nekroz varlığı yönünden karşılaştırıldığında nekroz olan olgularda solid-glomerüloid tipte damarlanmanın tümör içi yaygınlığı daha belirgindi (p=0.04). Apoptotik indeks ve mitotik indeks yönünden bu tip damar yaygınlığı ile istatistiksel ilişki mevcuttu (p=0.001), (p=0.04). Ortalama yaş, pleomorfizm ve dev hücre varlığı yönünden solid glomerüloid tipte damarlanma yaygınlığı arasında belirgin farklılık saptanmadı (p>0.05) (Tablo 5).

Kanallar oluşturan-telenjektatik tipte damarla-

rın tümör içi yaygınlığı ile hüresellik karşılaştırıldığında hüreselliği fazla olan olgular lehine anlamlılık saptandı ($p=0.04$). Nekroz varlığı ile bu tip damarın tümör içi yaygınlığı karşılaştırıldığında, nekroz olan olgularda daha yoğun boyanma mevcuttu ($p=0.01$). Apoptotik indeks ile kanallar oluşturan-telenjiyektatik tipte damarların tümör içi yaygınlığı istatistiksel olarak ilişkiliydi ($p=0.02$). Ortalama yaş, mitotik indeks, pleomorfizm ve dev hücre varlığı yönünden kanallar oluşturan-telenjiyektatik tipte damarların tümör içi yaygınlığında olgular arasında belirgin fark gözlenmedi ($p>0.05$) (Tablo 5).

Kanallar-dallar oluşturan tipte damarlanmanın tümör içi yaygınlığı ile ortalama yaş, hüresellik, nekroz varlığı, apoptotik indeks, mitotik indeks, pleomorfizm ve dev hücre varlığı karşılaştırıldığında olgular arasında belirgin farklılık yoktu ($p>0.05$) (Tablo 5).

Bir yıldan az ve fazla yaşayan olgular arasında tüm damarlanma tiplerinin CD31 boyanma yoğunluğu ve yaygınlığı yönünden belirgin farklılık belirlenmedi ($p>0.05$).

Yaş ve sağ kalım arasındaki ilişki yönünden 40 yaş altında 13 hastada (13/16) (% 81.25) 1 yıldan fazla sağ kalım, 3 hastada (3/15) (% 18.75) 1 yıldan önce ölüm mevcuttu. 40 yaş üzerindeki 8 hastada (8/20) (% 40) 1 yıldan fazla sağ kalım, 12 hastada (12/20) (% 60) 1 yıldan önce ölüm mevcuttu. Yaş ve sağ kalım arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ($p=0.005$).

Tümör histolojik gradı ile hasta sağkalımı karşılaştırıldığında histolojik grad ile sağkalım arasında istatistiksel anlamlılık bulundu ($p=0.01$).

Tümör nekrozu olan ve olmayan olgularda sağ kalım süresi arasında istatistiksel anlamlılık mevcuttu ($p=0.02$).

Apoptotik indeks 50 ve altı, 51-100 arası ve 100'ün üstü olarak gruplandırıldığında histolojik grad II

olguların tümünde (% 100) apoptotik indeks 50'nin altında saptandı. Histolojik grad III olguların 4'ünde (% 44.4) 50'nin altında, 5 olguda (% 55.6) 51-100 arasında apoptoz mevcuttu. Apoptotik indeksi 100'ün üstünde olan olguların tümü histolojik grad IV olgulardı (4 olgu); 2 olguda (% 13.3) 50'den az, 9 olguda (% 60) 51-100 apoptoz saptandı. Apoptotik indeks ve tümör histolojik gradları arasında istatistiksel anlamlılık mevcuttu ($p>0.001$).

Solid-glomerüloid ve kanallar oluşturan-telenjiyektatik tipte damarlanma varlığı ve yokluğu ile apoptoz arasında belirgin anlamlılık belirlendi ($p=0.04$), ($p=0.03$).

Apoptotik indeks ile sağkalım süresi 1 yıldan uzun olan ve olmayan olgular arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

SONUÇLAR

Olgularımızda 40 yaş altında 1 yıldan fazla sağ kalım 40 yaş üstü olgulardan anlamlı olarak daha fazla idi. Gliomalarda mitotik indeks ile yaş, tümör histolojik gradı ve sağkalım süresi arasında anlamlı ilişki bulunmadı. Literatürde Ki67/MIB-1 kullanılarak belirlenen proliferasyon indeksi ile yaş ve grad arasında ilişki bulunmuştur⁽⁶⁾. H.E. kesitlerde saptanabilen mitotik indeksin proliferasyon indeksi olarak yeterince hassas olmadığı düşünüldü.

Apoptotik indeks ile tümör histolojik gradı arasında anlamlı ilişki bulundu. Düşük histolojik gradlı gliomalarda 50/10 BBA'dan az apoptoz, yüksek histolojik gradlı gliomalarda 50/10 BBA'dan fazla apoptoz varlığı anlamlı bulundu. Bu, literatürdeki sonuçlar⁽⁹⁾ ile uyumluydu.

Apoptoz ile sağkalım süresi arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Tümör içi koagülasyon nekrozu ile tümör histolojik gradı ve sağkalım süresi arasında anlamlı ilişki mevcuttu. Glioma olgularının tümünde CD31 ile pozitif boyanan damar

yapıları izlendi. Gliomalarda anjiogenez fenotipi olarak üç damarlanma subtipi saptandı. Bunlardan kanallar-dallar oluşturan tip olarak adlandırılan subtip tüm gliomalarda mevcuttu.

Kanallar oluşturan-telenjiektatik ve solid-glomerüloid subtipler ile tümör histolojik gradı arasında anlamlı ilişki bulundu. Kanallar oluşturan-telenjiektatik ve solid-glomerüloid tipteki damarların yaygınlığı da tümör histolojik gradı arttıkça artmaktaydı. Bu damar tiplerinin hem varlığının hem de yaygınlığının yüksek histolojik gradlı tümörlerde artmasının tümör progresyonunda rol oynayabileceği; bu subtiplerin vasküler neogenezin farklı aşamaları olduğunu öne süren literatürdeki ⁽²⁰⁾ bulguları desteklediği düşünüldü.

Kanallar oluşturan-telenjiektatik tipte ve solid-glomerüloid tipte damarlarda CD31 boyanma yoğunluğunun tümör histolojik gradı arttıkça kuvvetlendiği saptandı. Gliomalardaki damarlanma tipi, CD31 boyanma yoğunluğu ve damarların tümör içi yaygınlığı ile hasta sağkalım süresi arasında anlamlı ilişki bulunamadı. Gliomalarda hücrelilik arttıkça artan solid-glomerüloid ve kanallar oluşturan-telenjiektatik tipte damar varlığı, tümör içi yaygınlığı ve CD31 boyanma yoğunluğu belirlendi.

Koagülasyon nekrozu ile solid-glomerüloid tipte damarlanma varlığı; yine bu tip damarla beraber kanallar oluşturan-telenjiektatik tipte damarın tümör içi yaygınlığı arasında istatistiksel ilişki mevcuttu. Damar tiplerinin CD31 ile boyanma yoğunluğu ise nekroz varlığı halinde azalmaktaydı. Boyanma yoğunluğunda azalma tümör içinde nekroza yakın ve uzak alanlarda belirgin fark göstermedi.

Apoptotik indeks ve mitotik indeks solid-glomerüloid tipte damar varlığı, tümör içi yaygınlığı ve CD31 ile boyanma yoğunluğu fazla olan glioma olgularında doğru orantılı olarak daha yüksek saptandı. Kanallar oluşturan-

telenjiektatik tipte damarlanma varlığı ve tümör içi yaygınlığı apoptotik indeks ile benzer ilişki gösterirken mitotik indeks ile anlamlı ilişki mevcut değildi.

Sonuç olarak, gliomalarda tümör histolojik gradı ile korelasyon gösteren CD31 ile boyanan farklı damar tipleri mevcuttur. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar literatürdeki sonuçlar ⁽²⁰⁾ ile beraber değerlendirildiğinde, bu tiplerin anjiogenezin farklı aşamalarında rol oynadığı ve tümörlerin progresyonunda önemi olduğu düşünülmüştür.

TARTIŞMA

Glial tümörler intrakranyal tümörlerin önemli bir kısmını (yaklaşık % 40-45'ini) oluşturur ⁽¹⁵⁾. Her yaş grubunda görülebilen mortalite ve morbiditesi yüksek tümörlerdir. Glial tümörlerde oluşum ve gelişim ile ilgili çalışmalar, bu tümörlerin özelliklerini daha iyi anlamaya, prognozunu ve olası yeni tedavi yollarını belirlemeye yöneliktir. Anjiogenezin de bu anlamda rolünü belirlemeye yönelik pekçok çalışma mevcuttur.

Anjiogenez, çok geniş bir biyolojik ve patolojik olaylar spektrumu içinde yer alır. Embriogenez, endometrial proliferasyon, yara iyileşmesi, retinal neovaskülarizasyon (diyabetik retinopatide olduğu gibi), hemanjiom, psöriazis, artrit ve tümör büyümesi bunlardan bazılarıdır. İnsan dokularındaki normal hücrelerde olduğu gibi tümör hücreleri de oksijen, gıda alımı ve artık ürünlerin uzaklaştırılması için damarlara gereksinim duyar. Solid tümörlerin, hızlı gelişim gösteren tümör hücrelerinin metabolik gereksinimlerini karşılayabilmek için damarsal oluşumlarını arttırmaları gerekir ^(3,21). Daha önce var olan damarlardan yeni damarların oluşması anlamına gelen "anjiogenez" işte bu görevi amaçlamaktadır ^(3,10,21). Tümör implantlarının, "beslenmeleri" için gereken yeni gelişmiş kan damarları olmasının birkaç mm.'den daha büyük çapa ulaşacağı bildirilmektedir ⁽¹⁰⁾.

Bazı tümörlerde angiogenezin yalnızca tümör gelişiminde değil, tümör hücrelerinin dolaşıma karışması ve metastaz yapmasında da rol oynadığı düşünülmektedir. Tümör bölgesinde damarların artmasıyla tümör hücrelerinin dolaşıma girmesi kolaylaşır. Ayrıca, yeni oluşan kapiller damarların bazal membranlarının parçalanması da bu bölgelerden tümör hücrelerinin daha fazla penetre olmasını sağlar⁽³⁾. Tüm bu nedenlerle yeni anti-kanser tedavilerinde anjiogenik olay hedeflenmektedir^(10,21).

Sunulan çalışmada, anjiogenezi değerlendirmek için endotelial belirleyici olarak CD31 kullanıldı. Bilindiği gibi endotel hücreleri ve vasküler tümörlerin tanımlanmasında CD31, CD34, vWF ve BNH9 monoklonal antikorları kullanılabilir [2,5,12]. Bu belirleyiciler arasından bir seçim yaparken literatürdeki özgünlük ve duyarlılık çalışmaları gözden geçirildi.

Miettinen ve ark. 60 vasküler tümör ve 300 non-vasküler tümör ile diğer normal dokuları kapsayan çalışmalarında endotel hücreleri ve vasküler tümörlerin tanımlanmasında CD31, CD34, vWF ve BNH9 monoklonal antikoruyla bu belirteçlerin özgünlük ve duyarlılıklarını değerlendirme amacıyla immünohistokimyasal inceleme yapmışlardır. Bu çalışma sonucunda vWF ile boyanmanın yorumunu yapmanın zor olduğunu, çünkü bu antijenin serum ve vücut sıvılarında yaygın olarak bulunduğunu belirtmişlerdir. Bu dağılım nedeniyle eksudasyon, hemoraji veya nekroz alanlarında yaygın zemin boyanması nedeniyle vWF pozitifliğinin bazı olgularda değerlendirilemediğini vurgulamışlardır. Çalışmalarında pek çok adenokarsinom, mezotelyoma ve sinovyal sarkomda saptanan kuvvetli BNH9 reaktivitesinin yanlışlıkla endotelial hücre differansiasyonu olarak yorumlanmaması gerektiğine değinmektedirler. Ayrıca, CD34 pozitifliğinin de dermal fibroblastlar, endoservikal stroma, perivasküler mezenkim hücreleri ve yağ hücrelerinde pozitif olması nedeniyle endotel hücreleri için spesifik olmadığını bildirmektedirler. Sonuç olarak,

CD31'in endotel hücreleri için çok özgün olduğunu belirtmişlerdir⁽¹²⁾.

Glial tümörlü 36 olgunun tümünde CD31 ile pozitif boyanan damar yapıları izlendi. Aroca ve ark. da 30 glioma olgusunun tümünde CD31 pozitifliği saptamıştır⁽²⁾. Tümörlü alanlarda tümörsüz alanlarla karşılaştırıldığında damarlanmanın artışı yanında farklı vasküler paternlerin olduğu gözlenmiştir. Bu damar tipleri Vitolo ve ark.'nın daha önce glioblastoma olgularında yaptığı bir çalışmada tarif ettiği üç damarlanma subtipi ile uyumluydu⁽²⁰⁾. Tüm gliomalarda kanallar-dallar oluşturan damarlanma tipi saptandı. Ancak, diğer damar subtipleri tüm glioma olgularında izlenmedi. Solid-glomerüloid tip ve kanallar oluşturan- telenjektatik tip damarlanmanın daha yüksek gradlı glial tümörlerde daha sıklıkla görüldüğü gözlendi. Bu evre odaklı ilişki istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (solid-glomerüloid tip için $p=0.004$, kanallar oluşturan-telenjektatik tip için $p=0.04$).

Vitolo ve ark. bu gruplar arasında çeşitli adhezyon molekülleri ve integrinlerin ekspresyon farklılıkları olduğunu saptamıştır. Bunun da endotelial proliferasyonların vasküler neogenin farklı aşamaları ile ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir⁽²⁰⁾. Glial tümörlerin düşük histolojik gradlı tümörlerden daha yüksek histolojik gradlı tümörlere progresyon gösterebildiği bilinmektedir. Bu çalışmada saptanan histolojik grad odaklı ilişki, yüksek histolojik gradlı tümörlerde değişen ve artan solid-glomerüloid ve kanallar oluşturan-telenjektatik damar subtiplerinin progresyonda rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bu damar tiplerinin daha yüksek histolojik gradlı tümörlerde saptanması vasküler neogenin daha ileriki aşamasında geliştiklerini desteklemektedir.

Boyanma kuvvetliliği ile histolojik grad ilişkisinde kanallar-dallar oluşturan tipte damarlarda tümör histolojik gradı ile anlamlı ilişki gözlenmezken kanallar oluşturan-telenjektatik tipte ve

solid-glomerüloid tipte histolojik grad arttıkça CD31 ile boyanma daha kuvvetli izlendi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu (kanallar oluşturan-telenjiektatik tip için $p=0.05$, solid-glomerüloid tip için $p=0.04$). Solid-glomerüloid tip damar proliferasyonu sıklıkla glioblastomalarda görülür ve aşırı perisit/düz kas proliferasyonuna bağlı olarak gelişir ^(20,22). Bir çalışmada, yüksek histolojik gradlı gliomalarda hiperplastik damarlarda aşırı düz kas aktin immünoaktivitesi saptanmıştır ⁽²²⁾. Bu olayı da çeşitli büyüme faktörleri tetiklemektedir ⁽¹⁶⁾. Bununla beraber endotelial marker ekspresyonunun yüksek histolojik gradlı gliomalarda bu tür damarlarda daha kuvvetli olması ile ilgili mevcut çalışmadaki sonuçlar, solid-glomerüloid tipte vasküler proliferasyonlarda endotelin de daha fazla indüklendiğini düşündürmektedir.

Bu damarlanma tiplerinin tümör içi yaygınlığı değerlendirildiğinde yine kanallar-dallar oluşturan tip vaskülarizasyon ile histolojik grad arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Ancak, diğer iki subtip vaskülarizasyonda glioma histolojik gradı arttıkça damarlanma miktarında artış olmuştur. (solid-glomerüloid tip için $p= 0.01$, kanallar oluşturan-telenjiektatik tipte $p= 0.002$). Bu sonuç, kanallar-dallar oluşturan damarlanmanın gliomalarda patolojik vaskülogenezde ilk ve temel gelişen vasküler proliferasyon tipi olduğunu ve bu tip damarlanmanın progresyonda değişiklik göstermediği sonucunu desteklemektedir. Sonuçlar kanallar oluşturan-telenjiektatik ve solid-glomerüloid tip vasküler proliferasyonların, tümör büyümesi ve gelişmesi sırasında artan tümöral dokunun kanlanma ve beslenme gereksinimini karşılamakta temel rol oynadığını düşündürmektedir. Glioma histolojik gradı arttıkça daha sık, daha yoğun izlenmeleri tümör gelişiminin fizyopatolojisinde önemli rol oynadıklarını desteklemektedir.

Sunulan çalışmada glioma içinde gelişen damar tipleri, damarların CD31 boyanma yoğunluğu ve damarların tümör içi yaygınlığı ile hasta yaşam

süresi arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p>0.05$).

Sunudaki olgu sayısının kısıtlı olması nedeniyle, dördü histolojik grad sistemi ile bulunan bu sonuçlar, değerlendirmede güvenilirliği arttırmak için “düşük” ve “yüksek histolojik gradlı tümörler” olmak üzere grad I-II ve III-IV tümörler olarak birleştirilerek tekrar değerlendirildi. Sonuç olarak, düşük ve yüksek histolojik grad ile vaskülarizasyon tipleri arasında, dördü histolojik grad sistemi istatistiksel sonuçlarına çok yakın değerler elde edildi.

Tanı anında hasta yaşı, astrositomalar ve oligodendrogliomalarda önemli bir prognostik parametredir ve bu, histolojik grad gibi, diğer prognostik parametrelerin önüne geçebilir. Yapılan çalışmalarda yaşın yaşam süresi üzerinde diğer faktörlerden daha fazla rol oynadığı, ileri yaştaki hastalarda tümörlerde proliferasyon indeksinin daha yüksek saptandığı bildirilmektedir. Proliferasyon indeksi ile histolojik grad arasında da benzer ilişkinin varlığı gösterilmiştir ⁽⁶⁾. Bu çalışmadaki hastalar 40 yaşın altı ve üstü olarak gruplandırıldığında, tanı anında 40 yaşın altında olan olgularda, 1 yıldan fazla sağ kalım 40 yaş üstü olgulardan anlamlı olarak daha fazlaydı ($p=0.005$). Ancak, mitotik indeks ile yaş, tümör histolojik gradı ve sağ kalım süresi arasında anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$). Ki 67/MIB-1 kullanılarak belirlenen proliferasyon indeksi ile yaş ve grad arası ilişkinin bu çalışmada mitotik indeks ile izlenmemesi nedeni ile, gliomalarda H.E. kesitlerde saptanan mitozun proliferasyonu belirlemede yeterince hassas bir yöntem olmadığı düşünüldü. H.E. kesitlerde mitotik indeksle değerlendirilen proliferasyon indeksi ile saptanamayan histolojik grad ilişkisi, apoptotik indeks ile mevcuttu ($p<0.001$). Apoptotik indeks ile histolojik grad arasındaki bulgular, literatürdeki sonuçlar ile uyumluydu. Ellison, astrositomaları kapsayan bir çalışmada H.E’le boyanmış parafin kesitlerdeki apoptotik indeksin artan anaplaziyle birlikte arttığını bildirmektedir ⁽⁷⁾. Nakagawa da

yine, mikst tümör gruplarını kapsayan çalışmada yükselen histolojik grad ile birlikte artan apoptotik indeks bildirmektedir ⁽¹³⁾. Sunulan çalışmada da histolojik grad ile apoptoz arasında benzer ilişki saptandı ve yüksek histolojik gradlı gliomalarda daha yüksek apoptotik indeks izlendi. Düşük histolojik gradlı gliomalarda apoptotik indeks 50/10 BBA'nın altında, yüksek histolojik gradlı tümörlerde 50/10 BBA'nın üstünde bulunmuştur.

Tümörler içindeki mikroçevre (büyüme faktörleri, medyatörler, kofaktörler) intratümöral apoptoz oranını ve yayılımını etkiler. Değişik tümör hücrelerindeki apoptoz oranlarını inceleyen çalışmalarda bu fizyolojik mekanizmayı kontrol eden normal mekanizmalarda bir dizi anormallik saptandığı bildirilmektedir. Özellikle glioma hücrelerinde c-myc proto-onkogeni ekspresyonunun apoptoza eğilim yarattığından söz edilmektedir ⁽⁹⁾.

Leaver ve ark., primer beyin tümörlerinin prognozu kötü olduğu için yeni etkin tedavi yöntemlerinin araştırılmasının büyük olasılıkla nöro-onkolojik incelemenin en önemli amacı olduğu yorumunu getirmektedir. Proapoptotik terapinin daha önceki yaklaşımlardan immünoterapi ve gen terapisine kaydığını belirtmektedirler ⁽⁹⁾.

Daha yaygın hücre ölümü ile karakterize koagülasyon nekrozu içeren yüksek histolojik gradlı supratentoriyal astrositomalarda ortalama yaşam süresi 8 ay, nekroz içermeyenlerde ise 28 aydır. Aksine, Kernohan histolojik grad III ve IV astrositomalarda ortalama yaşam süresi açısından belirgin bir farklılık saptanmamıştır ⁽¹¹⁾. Bu çalışmada bunun aksine, nekroz ile sağkalım arasında belirgin farklılık mevcuttur (p=0.02). Olgularda ortalama yaşam süresi histolojik grad II tümörlerde 26 ay, histolojik grad III tümörlerde 20 ay, histolojik grad IV tümörlerde ise 11 aydır.

Nekroz ile yalnızca solid-glomerüloid tipte

damarlanma tipi korelasyon göstermektedir. Histolojik grad III-anaplastik tümörler ile histolojik grad IV-glioblastoma multiforme olgularını ayırmak için nekroz varlığı kriter olarak gösterilmektedir ^(4,11,17). Solid-glomerüloid tipte damarlanma da yine glioblastomalı olgularda sıklıkla izlenmektedir. Bunun glioma gradından bağımsız bir özellik olmadığı düşünülmüştür.

Nekroz içeren olgularda, solid-glomerüloid ve kanallar-dallar oluşturan tipte CD31 ile boyanma daha zayıf, ancak daha yaygın olarak izlenmektedir. Nekrozlaşan tümörlerde büyüme hızı azalmaktadır. Nekroz gösteren yüksek histolojik gradlı glial tümörlerde angiogenezis artmakla beraber CD31 ekspresyonunun azalmış olarak izlenmesi nekroz gelişen gliomalarda yeni damar yapımının devamlılığının azalacağını düşündürülebilir. Bunun yanında nekrozun damarları da etkilemiş olabileceği, bu nedenle daha zayıf boyanma gösterdiği akla gelebilir. Ancak nekrotik alanlardan uzak bölgelerde de boyanmanın zayıf olması, nekrozun direkt etkisine bağlı olmadığını düşündürmektedir.

Kanallar oluşturan-telenjiektatik ve solid-glomerüloid tip damarların varlığı, CD31 boyanma yoğunluğu ve dağılımı hücresellik ile ilişkilidir. Hücresellik artışı tümör hücrelerinin proliferasyonunun bir sonucudur. Hücresellik glioma progresyonu ile ilişkili olduğu düşünülen kanallar oluşturan-telenjiektatik ve solid-glomerüloid damarlarla ilişkisi, tümör histolojik gradı arttıkça hücresellik de artması ile uyumludur. Bu çalışmada elde edilen bulgular, özellikle düşük histolojik gradlı tümörleri tanımlamada hücresellik güvenilir bir parametre olduğunu desteklemektedir.

Belirgin pleomorfizm, yüksek histolojik gradlı tümörlerde sıklıkla rastlanan bir morfolojik özelliktir. Pleomorfizm yalnızca solid-glomerüloid tipte damarlanma varlığı ile belirgin istatistiksel ilişki göstermektedir. Bunun histolojik graddan bağımsız bir özellik olmadığı düşünülmüştür.

CD31 gibi endotelial belirteçlerle immünohistokimyasal reaksiyonun, tümörün histolojik gradını belirlemede kullanıma geçebilmesi için daha büyük serilerle çalışmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Adams RD, Victor M.** Principles of Neurology, 2nd edition, 1981; Chapter 30, Intracranial Neoplasms, 440-74.
2. **Aroca F, Renaud W, Bartoli C, Bouvier-Labit C and Figarella-Branger D.** Expression of PECAM-1/CD31 isoforms in human brain gliomas, Journal of Neuro-Oncology 1999; 43:19-25.
3. **Baykal Y, Gök F, Gök M, Kocabalkan F.** Anjiogenezis, Sendrom, 2000; 12:30-9.
4. **Bruner JM.** Neuropathology of Malignant Gliomas, Seminars in Oncology, 1994; 21:126-38.
5. **Buckley CD, Doyonnas R, Newton JP, Blystone SD, Brown EJ, Watt SM and Simmons DL.** Identification of $\alpha v\beta 3$ as a heterotypic ligand for CD31/PECAM-1, Journal of Cell Science, 1996; 109:437-45.
6. **Coons SW, Johnson PC, Dennis KP.** The Prognostic Significance of Ki-67 Labeling Indices for Oligodendrogliomas, Neurosurgery 1997; 41:878-85.
7. **Ellison DW, Streart PV, Gatter KC, Weller RO.** Apoptosis in Cerebral Astrocytic Tumors and Its Relationship to Expression of the bcl-2 and p-53 Proteins, Neuropathol Appl Neurobiol 1995; 21:352-61.
8. **Jackson JR, Seed MP, Kirscher CH, et al.** The codependence of angiogenesis and chronic inflammation, FASEB J 1997; 11:457-65.
9. **Leaver HA, Whittle IR, Wharton SB, Ironside JW:** Apoptosis in Human Brain Tumours, British Journal of Neurosurgery, Abingdon, 1998; 12:539-46.
10. **McCance KL, Huether SE.** Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children, 2nd edition, 1994; Chapter 11, Tumor Metastasis in Adults and Cancer in Children, 366-92.
11. **McKeever PE.** Chapter 10, The Brain, Spinal Cord and Meninges in Diagnostic Surgical Pathology (edited by Sternberg SS), vol. 1, 3rd edition, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, 1999; 389-480.
12. **Miettinen M, Lindenmayer AE and Chaubal A.** Endothelial Cell Markers CD31, CD34 and BNH9 Antibody to H- and Y- Antigens-Evaluation of the Diagnosis of Vascular Tumors and Comparison with von Willebrand Factor, Modern Payhology, 1994; 7:82-90.
13. **Nakagawa S, Shiraishi T, Kihara S, Tabuchi K.** Detection of DNA Strand Breaks Associated with Apoptosis in Human Brain Tumors, Virch Arch 1995; 427:175-9.
14. **Niedermayer I, Kolles H, Feiden W.** Histologic and Morphometric Grading of Gliomas, Analyt Quant Cytol Histol, 1997; 19:301-10.
15. **Parisi JE and Scheithauer BW.** In Principles & Practice of Neuropathology (edited by Nelson JS, Parisi JE, Scochet SS), 1993; Chapter 7, Glial tumors, 123-83.
16. **Plate KH.** Mechanisms of Angiogenesis in the Brain, Journal of Neuropathology Experimental Neurology, 1999; 58:313-20.
17. **Rosenblum MK.** In Ackerman's Surgical Pathology (edited by Rosai J), 8th edition, vol.2, Mosby-Year Book, Inc., USA, 1996; Central nervous System (pp. 2227-2346) in Chapter 28, Neuromuscular System (Rosenblum MK, Bilbao JM and Ang LC), 2227-414.
18. **Sadler TW.** Medikal Embriyoloji, 7. baskı, 1996; Bölüm 20, Santral Sinir Sistemi, 358-396.
19. **Schiffer D, Chiò A, Giordana MT, Migheli A, Palma L, Pollo B, Soffiatti R, Tribolo A.** Histologic prognostic factors in ependymoma, Child's Nerv Syst 1991; 7:177-182.
20. **Vitolo D, Paradiso P, Uccini S, Ruco LP and Baroni CD.** Expression of adhesion molecules and extracellular matrix proteins in glioblastomas: relation to angiogenesis and spread, Histopathology 1996; 28:521-8.
21. **Wesseling P, Ruiter DJ and Burger PC:** Angiogenesis in brain tumors; pathobiological and clinical aspects, Review Article, Journal of Neuro-Oncology, 1997; 32:253-65.
22. **Zagzag D, Hooper A, Friedlander DR, Chan W, Holash J, Wiegand SJ, Yancopoulos GD and Grumet M.** In Situ Expression of Angiopoietins in Astrocytomas Identifies Angiopoietin-2 as an Early Marker of Tumor Angiogenesis, Experimental Neurology 1999; 159, 391-400.