

# SUPRATENTORİYAL ASTROSİTOMLARDA MİKRO (KÜÇÜK) DAMAR YOĞUNLUĞU

Dr. Melek ÖZKAL ÜSTÜN\*, Dr. Gülten DİNİZ\*, Dr. Gönül GÜVENÇ\*\*, Dr. Gülten ÇENGEL\*, Dr. İsmail AKKOL\*\*

**ÖZET:** Astrositomlarda mikro damar proliferasyonu ile prognoz arasındaki ilişki araştırma konusudur. Astrositomlarda, kollajen damar duvarına sınırlı olduğundan, Gordon ve Sweet retikulum boyama yöntemi damar duvarını belirginleştirmek için uygulandı. On beş astrositom, 10 anaplastik astrositom ve 20 glioblastom olgusunda mikro damar sayısı, damarların en yoğun bulunduğu alanda 3 adet X400 büyütme alanı sayılarak bulundu. Ortalama mikro damar sayısı astrositomlarda 9.9, anaplastik astrositomlarda 25.5 ve glioblastomda 34.2 idi ( $p<0.01$ ). Mikro damar sayısı ile, subjektif olarak 1 ile 4 arasında değerler verilen damar derecesi arasında korelasyon bulundu ( $p<0.01$ ,  $r=0.7$ ). Hasta yaşıyla ( $p=0.04$ ,  $r=0.3$ ), nekroz yoğunluğuyla ( $p<0.01$ ,  $r=0.4$ ) mikro damar sayısı arasında zayıf korelasyon izlendi. Sonuçta retikulum boyama yöntemi ile saptadığımız mikro damar sayısının daha önceki çalışmalar ile uyumlu olduğu ve bu sayı ile prognostik önemi olan yaş, grade ve nekroz arasında anlamlı ilişki bulunduğu görüldü.

**ANAHTAR KELİMELEER:** astrositom, anjiogenezis, prognoz

**SUMMARY:** MICROVESSEL DENSITY IN SUPRATENTORIAL ASTROCYTOMAS: The relationship between microvessel proliferation and prognosis is a subject of research. Collagen is located only in vessel wall, in astrocytomas Gordon and Sweet reticulum staining system was used in order to highlight microvessel wall. Microvessel count was determined by counting the highest number of microvessels in three areas of the highest vascular density at X400 magnification in 15 astrocytomas, 10 anaplastic astrocytomas and 20 glioblastomas. The mean microvessel count was 9.9 in astrocytomas, 25.5 in anaplastic astrocytomas and 34.2 in glioblastomas ( $p<0.01$ ). There was a correlation between microvessel count and microvessel density, graded subjectively 1 to 4 ( $p<0.01$ ,  $r=0.7$ ). There was also a weak correlation between microvessel count and patient's age ( $p=0.04$ ,  $r=0.3$ ) and intensity of necrosis ( $p<0.01$ ,  $r=0.4$ ). Our results showed that microvessel count determined by reticulum staining was consistent with the results in the literature and signified correlation with patient's age, tumor's grade and intensity of necrosis.

**KEY WORDS:** Astrocytoma, angiogenesis, prognosis

## GİRİŞ

Erişkinlerde primer beyin tümörlerinin %60'ını oluşturan glial tümörlerin en büyük alt grubu diffuz astrositomlardır. Düşük dereceli astrositomdan anaplastik astrositoma (AA) ve glioblastoma (GB) doğru artan derece ile sağkalım süresi azalmaktadır (1). Astrositomlarda prognoz, histolojik derecenin yanı sıra hasta yaşı ve cinsiyeti, tümörün lokalizasyonu, rezeksiyonun genişliği ve hastanın ameliyat öncesi Karnofsky skoru ile yakından ilişkilidir. Astrositomlarda histolojik derecelendirme en önemli prognostik faktörlerden biri olmakla birlikte, bazı tümörlerin davranışının derece (grade) ile uyumlu olmadığı dikkat çekmektedir (2). Astrositomların derecelendirilmesinde sitolojik atipi, hücre yoğunluğu, mitotik aktivite ve nekroz yanı sıra damarsal değişiklikler ve glomeruloid oluşum da değerli bir bulgudur. Astrositomlarda tümör içi damar yoğunluğunun sağkalım süresi, nüks ve diğer bilinen prognostik faktörler ile ilişkisini inceleyen çalışmalar son yıllarda literatürde yer almıştır (3,4,5,6,7). 1998 yılında Weseling ve ark.ları tarafından yapılan çalışmada, astrositomlarda tip IV kollajenin damar duvarlarına sınırlı olmasına dayanılarak immunhistokimyasal olarak Tip IV kollajen ile damarlar belirlenmiş ve sayılmıştır (5). Pleomorfik ksantostrositom dışında astrositomlarda, retikülün tipik olarak damar duvarlarına sınırlıdır. Bu çalışmada ise, immunhistokimya ile karşılaştırıldığında daha az sensitif olması beklenen ancak daha ucuz ve kolay uygulanma avantajı olan retikulum histokimyasal boyama yöntemi ile astrositomlarda tümör içi damar yoğunluğunun değerlendirilmesi amaçlanmış ve elde edilen veriler bilinen prognostik faktörler ile karşılaştırılmıştır.

## MATERYEL VE METOD

1994-98 yılları arasında tanı alan 45 adet supratentoryal diffuz astrositom olgusu seçildi. Takip dosyası olan hastala-

rın yaş, cinsiyet, operasyon raporuna göre rezeksiyon genişliği, nüks varlığı ya da yokluğu ve sağkalım süreleri kaydedildi.

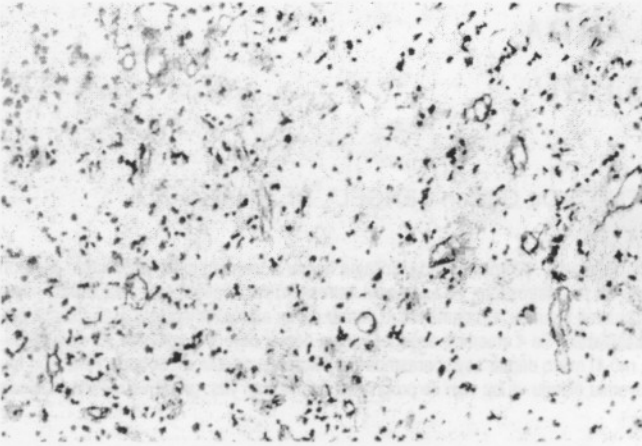
Dünya Sağlık Örgütü'nün 1993 sınıflamasına göre değerlendirilen olguların 15'i astrositom, 10'u anaplastik astrositom ve 20'si GB olarak değerlendirildi. Çalışmaya alınan 20 GB olgusunun 8'i nüks GB olgularıydı. Her bir olgu için varsa nekroz ve gemistositlerin kapladığı alan %5'den az (+), %5-50 arası (++) ve %50'den fazla (+++) olmak üzere subjektif olarak değerlendirildi. Klinik veriler bilinmeden her olgu için, HE boyalı preparatlardan X40 ve X100 büyütmelemede tarama yapılarak, en fazla damar bulunduran (hot spot) birer tane preparat seçildi. Hot spot alanlarının, tümörün çevre beyin dokusuna geçiş alanları olmamasına özellikle dikkat edildi. Bu preparatlara, Gordon ve Sweet retikulum boyama yöntemi uygulandıktan sonra tümör içi damar sayısının saptanması ışık mikroskopunda iki uzman patolog tarafından eş zamanlı olarak yapıldı. Sayım işlemi X40 objektif lens ve X10 oküler lens ile yapıldı. Vasküler profiller, çevre dokudan siyah boyanan segmentler olarak ayırt edildi. Lümen ve eritrosit görme şartı aranmadı. Glomeruloid vasküler yapılarda tek tek lümen saymak mümkün olmadığı için herbiri bir damar sayıldı. Damar yoğunluğunun en fazla olduğu alan, küçük büyütmede bulunduktan sonra X40 objektif lens ile ardışık 3 alanda damar sayılarak (toplam alan 0,5655 mm<sup>2</sup>) her bir olgu için mikro-damar sayısı saptandı. Sayım işlemi yapılan preparatlar Weidner'in (8) tanımladığı subjektif yöntemeye uygun olarak ikinci kez değerlendirildi. Bu değerlendirmede, en fazla damar bulunduran alanlar X10 objektif lens ve X10 oküler lens ile tarandı ve 1'den 4'e kadar değer alacak şekilde skorlandı. Yüksek dereceli tümörlerde izlenen ve böbrek glomerül yumağına benzediği için glomeruloid adı verilen kompleks vasküler yapılar tek tek lümenleri izlenmese de yüksek oranda damarlanmaya işaret ettiği için derece 3 ya da 4 olarak değerlendirildi.

İstatistik:Damar sayısı ve damar skoru arasındaki ilişki Spearman korelasyon testi ve varyans analizi sonrası Tukey's HSD testi ile değerlendirildi. Damar sayısı ile hasta ya-

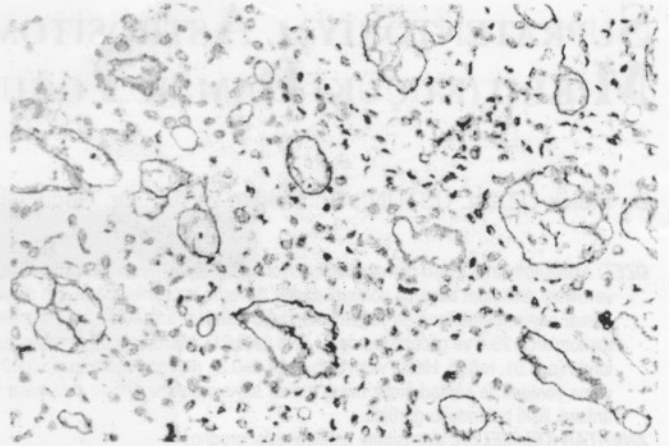
\* İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Patoloji Bölümü

\*\* İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Beyin Cerrahisi Bölümü

Bu çalışma XIV. Ulusal Patoloji Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.



Resim 1: Anaplastik astrositom olgusunda retikulum boyası ile belirginleştirilen damarlar (x200).



Resim 2: Glioblastom olgusunda "glomeruloid" oluşumlar ve küçük damarlar (x200).

şı, tümördeki nekroz ve gemistosit oranı arasındaki ilişki için Spearman korelasyon testi kullanıldı. Primer ve nüks GB'lar da damar sayısındaki fark Mann Whitney U- Wilcoxon Runk Sum W testi ile değerlendirildi.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 45 olgunun 21'i (%46) kadın, 24'ü (%54) erkekti. Yaş ortalaması 47+/-14.85 (15-67) yaşı. Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre olguların 15'i astrositom, 10'u AA ve 20'si GB olarak değerlendirildi. 19 olgu gross total, 19 olgu subtotal, 4 olgu lobektomi ile tedavi edilmiş 3 olgudan ise yalnızca biopsi alınmıştı. 10 olgunun radyoterapi aldığı, takibi olan 10 olguda yaşam süresinin ortalama 10.6 ay (1-33) olduğu saptandı.

Mikro damar sayısı astrositomlarda ortalama 9.92+/-4.79 (4-21), AA'larda 25.50+/-9.32 (8-39) (Resim 1), GB'da

34.25+/-18.46 (14-78) (Resim 2) olarak bulundu. Subjektif olarak belirlenen damarlanma skoru 9 olguda derece 1, 10 olguda derece 2, 18 olguda derece 3 ve 8 olguda derece 4 olarak bulundu. Çalışılan tüm olgularda mikro damar sayısı ile damar skoru arasında güçlü korelasyon vardı ( $r=0.72$ ,  $p<0.01$ ). Histopatolojik derecede artma ile birlikte damar sayısının da artma eğiliminde olduğu ve farkın özellikle astrositom ile AA ve GM arasında belirgin olduğu dikkati çekti. 18 GB olgusunun 5'inde (+), 6'sında (++) ve 7'sinde (+++) oranında nekroz izlendi. Tüm olgularda gemistositlerin oranına bakıldığında 23'ünde (+), 16'sında (++) ve 6'sında (+++) oranında gemistosit hücre popülasyonu görüldü. Tümör içindeki gemistositlerin oranı ile tümör derecesi arasında istatistiksel ilişki saptanmadı. Hasta yaşı ve GB'larda nekroz oranı ile mikro damar sayısı arasında zayıf korelasyon izlenirken (sırasıyla  $p=0.04$ ,  $r=0.3$  ve  $p<0.01$ ,  $r=0.4$ ) gemistosit oranı ile damar sayısı arasında ilişki bulunmadı. Nüks eden (31.50+/-19.69) ve primer tanı alan GBM (36.08+/-17.34) olgularının mikro damar sayılarına bakıldığında istatistiksel fark olmadığı görüldü.

## TARTIŞMA

Tümör içi yeni damar oluşumunun yoğunluğu ile tümörün histolojik derecesi ve kötü prognoz arasında ilişki olabileceğini ilk ifade eden Brem ve arkadaşları olmuştur (9). Bunu melanom, meme, akciğer, prostat, baş-boyun, rektum, testis, mesane ve yumuşak doku tümörlerinde tümör içi damar sayısını kantitatif belirleme amaçlı çalışmalar izlemiştir. Solid tümör gelişiminin tümör hücrelerinin yanısıra, konak dokunun özellikle de yeni kan damarlarının gelişimine bağlı olduğu direkt ve indirekt bulgular ile gösterilmiştir. Tümör içindeki damarlanma perfüzyonu sağlamanın yanısıra, endotelden salınan büyüme faktörleri ile çoğalmayı ve kollajenaz, ürokinaz gibi maddeler ile de invazyonu kolaylaştırıcı etkiler yapar. Bu nedenle antianjiyogenik tedavinin etkili bir antikanser tedavi şekli olabileceği düşünülmektedir (10)

Mikro damar tanımı içine, tümör içindeki kapillerler ve küçük venüller girmektedir. Tümör içindeki küçük damarların dansitesi ile eski ve yeni damarlar ayırt edilemez, aktif proliferasyonun derecesi ile korele değildir. Yine de anjiyogenezin indirekt bir bulgusu olan tümör içi küçük damar sayısının, epitelyal ve melanositik tümörlerde artmış metastaz riski ile meme kansinomlarında ise yaşam süresi ile iliş-

TABLO. HASTALAR ve TÜMÖRLER İLE İLGİLİ ÖZELLİKLER

| Özellikler            | Hasta sayısı | %  |
|-----------------------|--------------|----|
| Total hasta sayısı    |              | 45 |
| Cinsiyet              |              |    |
| Kadın                 | 21           | 46 |
| Erkek                 | 24           | 54 |
| Yaş, yıl              |              |    |
| Medyan                | 47           |    |
| Alt-üst sınır         | 15-67        |    |
| Operasyon             |              |    |
| Gros total            | 19           | 42 |
| Subtotal              | 19           | 42 |
| Lobektomi             | 4            | 9  |
| Biopsi                | 3            | 7  |
| Mikro-damar sayısı    |              |    |
| Astrositom            |              |    |
| Medyan                | 9.92         |    |
| Alt-üst sınır         | 4-21         |    |
| Anaplastik astrositom |              |    |
| Medyan                | 25.50        |    |
| Alt-üst sınır         | 8-39         |    |
| Glioblastom           |              |    |
| Medyan                | 34.25        |    |
| Alt-üst sınır         | 14-78        |    |



kili olduğu bilinmektedir (8,11). Astrositomlar söz konusu olduğunda çalışmalar tümör içi küçük damar sayısı ile operasyon sonrası yaşam süresi arasındaki ilişki üzerinde yoğunlaşmış ve tümörün histolojik derecesinden bağımsız bir parametre olup olmadığı araştırılmıştır (3,4,5,6,7). Sınırlı sayıdaki çalışmalardan biri olan Leon ve ark.larının çalışmasında, Faktör-VIII ile ilişkili antijen kullanılmıştır. X200 ve X400 büyütmelelerde sayılan tümör içi küçük damar sayısının postoperatif yaşam süresi için anlamlı bir parametre olduğunu ve bu sayının hasta yaşı ve tümör histolojisi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, damar yoğunluğu ile histolojik derece ve hasta yaşı arasındaki korelasyonun, farklı yaşlardaki hastalarda izlenen biyolojik farklılıkların tümörlerin damar yoğunluğu ile ilişkili indirekt bulgusu olabileceği yorumu yapılmıştır (3). Aktaş ve Canda tarafından yine Faktör-VIII ile ilişkili antijen kullanılarak yapılan çalışmada, damar yüzey dansitesi hem sağkalım hem de diferansiyasyon ile ilgili bulunurken damar sayısı yalnız diferansiyasyon ile ilgili bulunmuştur (4). Glial tümörlerin histolojik incelemesinde, özellikle GB'da, tümör içi heterojenite değerlendirmenin etkinliğini kısıtlayan en önemli faktördür. Bu çalışmada biopsi ile değerlendirilen olgu sayısının yalnızca 3 olmasının, heterojenitenin küçük damar sayısına yansımaları da en aza indirdiği düşünülmüştür. Yine doku içinde kesite bağlı oluşan boşlukların damar sayısını etkilemesinin, X40 büyütme ile sayım yapılarak minimuma indirilmesi amaçlanmıştır. Tip IV Kollajen'in astrositik tümörlerde yalnızca damar duvarlarına sınırlı olmasından yola çıkarak (5) Wesseling ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, angiogenik hot spotun oldukça vasküler olan gri cevherin invaze olduğu alanlarla karışması ve yanlış sonuçlar elde edilmesi olasılığına dikkat çekilmiştir. Görüntü analizi kullanılan bu çalışmada A ve AA'a ait bazı alanların, normal beyin dokusundan daha az sayıda damara sahip olduğu ve bu alanlarda damarlar arası tümör dokusunun gevşek dizilim gösterdiğine dikkat çekilmiştir (5). Bu çalışmada, damar sayısı açısından astrositom ve anaplastik astrositomlar arasında anlamlı fark görülmesinin, bu iki grubu ayırt etmek için yalnızca mitoz kriterini kullanan Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasının kullanımına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Sayım yapılan alan mm2 olarak düzeltilindiğinde, bizim elde ettiğimiz değerler literatürdeki diğer çalışmalara göre, beklendiği gibi, düşüktü (3,4,5). Faktör-VIII ile ilişkili antijen kullanılarak yapılan bir çalışmada X200 büyütme ile ortalama damar sayıları astrositomlarda 14.5, AA'larda 42.3 ve GBM'lerde 50.2 olarak bulunmuştur. Bu değerler bizim retikülün boyama yöntemi ile bulduğumuz değerlere en yakın olanlarıdır (6). Faktör-VIII gibi endoteli belirleyen antijenler daha spesifik olmakla birlikte, Hall ve ark.ları herhangi bir bo-

yanmayı damar olarak saymak için lümen varlığını ön koşul saymışlar, tek boyanan hücrelerin sıklıkla vasküler orjinli olmadığını belirtmişlerdir (12).

Bu çalışmada, küçük damar yoğunluğunun astrositomlarda anjiogenezin bir ölçüsü olarak önemli olduğu görüşü desteklenmiştir. Retikulum boyama yöntemi ile histolojik derecelendirme, nekroz gibi parametrelerle uyumlu sonuçlar elde edilmesi bu yöntemin daha düşük birimlerde tümör içi mikro damar yoğunluğunu yansıtan bir yöntem olduğunu düşündürmüştü, ancak operasyon sonrası takibi olan olgu sayımızın azlığı nedeni ile, histolojik derecelendirmeden bağımsız bir prognostik faktör olup olmadığı araştırılamamıştır. Tümör içi mikro damar yoğunluğu histolojik derecelendirme yapılan gruplar arasında iç içe geçen değerlerin oluşu nedeniyle, tanı ve histolojik derecelendirme amacıyla glomeruloid varlığı gibi kullanılabilir bir yöntem değildir.

Nekroz oranındaki artış ile damar sayısındaki artış arasında zayıf da olsa korelasyon olması, paradoksal görünmektedir. GB'un damar sayısı ortalaması, A ve AA'a göre yüksek de olsa bu çok sayıda bir kısmı da glomeruloid tipte olan damarların perfüzyona çok fazla katkı sağlamadığını düşündürmektedir. Bu açıdan, GB'lar antianjiogenik tedavi için uygun adaylar olarak görünmemektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Russel DS, Rubinstein LJ. Pathology of Tumors of the Nervous System. Baltimore:Williams and Wilkins, 1989.
2. Salzman M, Scholtz H, Kaplan RS, Kulik S. Long-term survival in patients with malignant astrocytoma. Neurosurg 1994; 34: 213-220.
3. Leon SP, Folkerth RD, Black PM. Microvessel density is a prognostic indicator for patients with astroglial brain tumors Cancer 1996; 77: 362-372.
4. Aktaş S, Canda MŞ. Astrositomlarda damar proliferasyonunun morfolo-  
jik ölçümüyle CD44 ve fibronektinin immun dokümaniyasal belirlenmesinin prognostik önemi (70 olgu) Türkiye Ekopatoloji Dergisi 1997; 3: 113-121.
5. Wesseling P, Van Der Laak JAVM, Link M, et al. Quantitative analysis of microvascular changes in diffuse astrocytic neoplasms with increasing grade of malignancy Hum Pathol 1998; 29: 352-358.
6. Assimakopoulou M, Sotiropoulou Bonikou G, et al. Microvessel density in brain tumors. Anticancer Res 1997; 17: 4747-4753.
7. Abdulrauf SI, Edvardsen K, Ho KL, et al. Vascular endothelial growth factor expression and vascular density as prognostic markers of survival in patients with low-grade astrocytoma. J Neurosurg 1998; 88(3): 513-520.
8. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis-Correlation in invasive breast carcinoma. N Engl J Med 1991; 324: 1-8.
9. Brem S, Cotran R, Folkman J. Tumor angiogenesis: a quantitative method for histologic grading. J Natl Cancer Inst 1972;48:347-356 (abst)
10. Weidner N, Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. Am J Pathol 1995; 147: 9-18
11. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, et al. Relation of neovascularization to metastasis of non-small-cell lung cancer. Lancet 1992; 340: 145-146.
12. Hall NR, Fish DE, Hunt N, et al. Is the relationship between angiogenesis and metastasis in breast cancer real? Surg Oncol 1992; 1(3): 223-229.