

Glial Tümörlerin Anjiogenezi

Angiogenesis of Glial Tumors

ÖZ

Anjiogenez solid, tümör gelişimi için temel bir önem taşır. Anjiogenez mekanizmasının tam olarak aydınlatılabilmesi, damarlaşmanın en fazla görüldüğü insan neoplazilerinden olan beyin tümörleri için özellikle önemlidir. Bu bilgi, bu tip neoplazilerde klinik davranışın ve izlenebilecek potansiyel tedavinin belirlenmesi açısından gereklidir. Serebrovasküler fizyoloji ve gliom biyolojisinin özgül karakteri anjiogenez mekanizmasında kendini gösterir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Anjiogenez, glial tümör, anjiogenik faktörler

ABSTRACT

Angiogenesis is fundamental to the growth of all solid tumors. Elucidating the critical elements of this process is particularly important for brain tumors, which are among the most highly vascular human neoplasms. This information is essential for clinical behavior and potential treatment of these neoplasms. The unique character of cerebrovascular physiology and glioma biology influence the mechanism of angiogenesis.

KEY WORDS: Angiogenesis, glial tumor, angiogenic factors

Türker KILIÇ¹

Özlem YILDIRIM²

Soner ŞAHİN³

M. Necmettin PAMİR⁴

1,4 Marmara Üniversitesi
Nörolojik Bilimler Enstitüsü, İstanbul

2,3 Marmara Üniversitesi Moleküler
Nöroşirürji Laboratuvarı, İstanbul

Geliş Tarihi: 07.05.2004

Kabul Tarihi: 05.07.2004

Yazışma adresi:

Türker KILIÇ

Marmara Üniversitesi

Nörolojik Bilimler Enstitüsü

PK 53, 34840 Maltepe-İstanbul

E-posta: türkilic@tnn.net

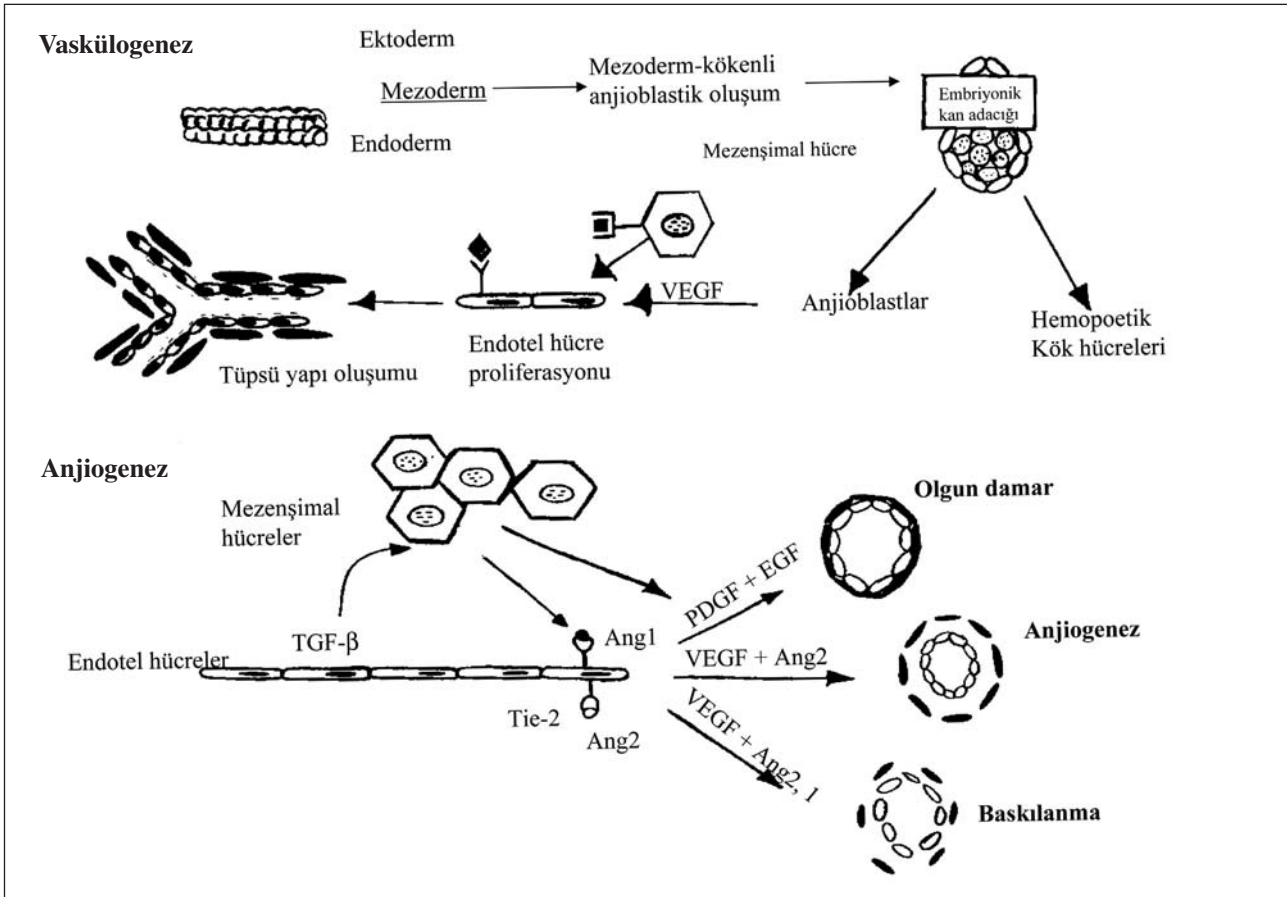
Tel : 0532 514 14 98

Faks : 0216 327 52 49

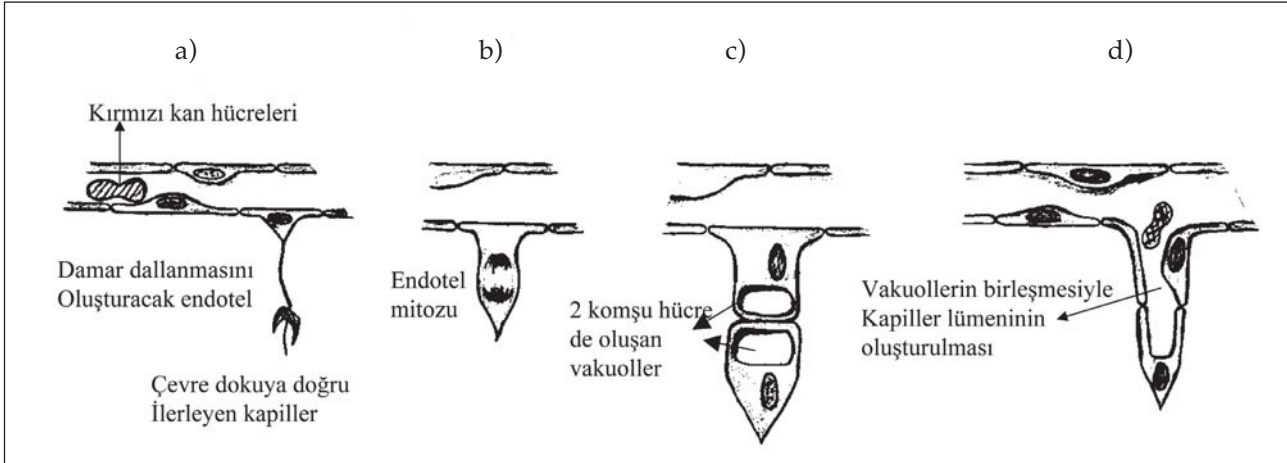
GİRİŞ

Kan damarı oluşumunu ortaya koyan iki mekanizma vardır; vaskülogenez ve anjiogenezi. Vaskülogenez erken embriyogenezde meydana gelir, mezodermden kökenlenen vasküler ağın oluşturulmasını ifade eder (11). Vaskülogenez, pre-vasküler hücreler veya hemangioblastların kan adacıkları olarak kümelenmesi ile başlar (57, 60). Bu kan adacıkları vasküler ağı tanımlayan tüpsü yapıları oluşturacak ilksel kan hücreleri ve endotelyumdan oluşur (16, 52, 57). Anjiogenezi ise vaskülogenezle oluşan damarlardan özgül sinyallerle, kapiller şeklinde yeni damarlar oluşturulması işlemine denir (29) (Şekil 1). Endotel hücrelerinin anjiogenik sinyallere oluşturduğu yanıt dört aşama içerir. Öncelikle endotel hücrelerin ana kapiller veya venülün bazal laminası boyunca ilerleyebilmesi, var olan kan damarını çevreleyen

bazal laminada bir açıklık oluşturulmasını gerektirir; bazal membran ve ekstrasellüler matrisin yıkımı için proteazlar üretilir. İkinci aşama endotel hücrelerinin sinyal kaynağına doğru hareket etmeleridir. Bunu takiben endotel proliferasyonu görülür. Dördüncü ve son basamak ise tüpsü yapı oluşturma işlemidir. Proliferasyon durur, hücreler morfolojilerini değiştirerek bir lümen oluşturacak şekilde birbirlerine sıkıca tutunurlar. Çoğunlukla perisitlerin ve vasküler düz kas hücrelerin endotelyuma katılması ve yeni bazal membranın sentezlenmesi ile anjiogenezi tamamlanır. (Şekil 2) VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), FGF (Fibroblast Growth Factor), EGF (Epidermal Growth Factor) ve PDGF (Platelet Derived Growth Factor) gibi anjiogenik büyüme faktörleri dört aşamanın ortaya konmasını sağlar (Tablo I). Vaskülogenez embriyonik gelişim evresiyle sınırlandırılmışken



Şekil 1: Embriyonik döneme ait bir mekanizma olan vaskülogenez mezoderm kökenli anjioblastik oluşumun ardından, endotel hücre proliferasyonu ile tüpsü yapı oluşturulması aşamalarından meydana gelir. Vasküler gelişim bFGF ve VEGF'leri gerektirir. Anjiogenezi ise var olan kan damarlarından yeni damarların geliştirilmesi işlemidir. Vasküler ağacın ilerlemesi; dallanması için ise VEGF, EGF, PDGF gibi anjiogenik büyüme faktörlerine ve özellikle tie-2 reseptörü ve birbirlerinin antagonistisi olan ligandları Ang-1 ve Ang-2'nin kontrollü aktiviteleri önemlidir.



Şekil 2: a) Yeni kapilleri oluşturacak endotel hücreleri oluşturacağı kapiller veya küçük venülden ileri doğru uzayan oluşum veya psödotopodla tomurcuklanır. Bu aşamada endotel proliferasyonu yoktur. b) Endotel proliferasyonunun dolayısıyla DNA replikasyonunun görüldüğü aşamadır. c) Filizlenme uzayınca genişler, komşu endotellerin vakuolleri birleşerek tüpsü yapı oluşturmak üzere kanallanır. d) Bu oluşum birleşeceği başka bir kapillerle karşılaşırsa devam eder. Bitişik filizlerin uçları birleşir ve yeni filizleri verecek vasküler ilmekler oluşur; böylece mikrodolaşım ağ oluşturulmuş olur.

Tablo I. Anjiogenezin 4 aşaması ve görevli moleküller

Anjiogenik sinyaller	Hipoksi İnflamasyon Anjiogenik büyüme faktörlerinin ekspresyonu
1. Endotel migrasyonu için matriks degradasyonu	MMPler, TIMP, uPA, tPa, PAI
2. Endotel migrasyonu	İntegrinler, PDGFler
3. Endotel proliferasyonu	VEGF, FGF, PDGF, EGF
4. Tüpsü yapının oluşturulması	VEGF, FGF, Angiopoetinler

normal anjiogeneze oldukça sıkı kontrol altında yaşam boyu devam eder (20, 35). Anjiogeneze sadece post-embriyonik doku gelişimi için değil aynı zamanda normal koşullarda karşılaşılan yaralanmalar ve doku hasarlarının iyileştirilmesi için de önemlidir. Ayrıca dişi üreme sisteminde folikül gelişimi, ovülasyon sırasında korpus luteum ve hamilelikte plasenta gelişimi anjiogeneze bağlıdır. Kontrolsüz anjiogeneze ise diyabetik retinopati, ateroskleroz ve solid tümör gelişiminde görülür (54, 73). Bunların dışında serebrovasküler malformasyonlarda da anjiogenik faktörlerin anormal şekilde üretildiği görülmektedir (31, 38).

Glial tümör anjiogenezinin doğası geniş şekilde araştırılmıştır, bu konu tedavi ve rekürrens engellenmesi gibi klinik uygulamalar için, gerekli yaklaşımları içinde barındırmaktadır.

TÜMÖR ANJIOGENEZİ

Solid tümör gelişimi, tümörün proliferatif aktivitesine olduğu kadar anjiogeneze oluşumuna da bağlıdır (19, 76). Tümör gelişimi ve anjiogeneze arasındaki sıkı ilişkiyi ortaya koyan tümör implantasyonu deneylerinde, avasküler neoplastik hücre topluluklarının, en fazla 2-3 milimetre çapına kadar büyüebildikleri; yaklaşık 106 hücreli evreye kadar difüzyonla besin sağlayıp hücre atıkları uzaklaştırılabildikleri görülmüştür. Besinlerin ulaştırılması ve hücre atıklarının uzaklaştırılması için bu büyüklüğün sınır teşkil ettiği gösterilmiştir (19, 21, 42, 68). Yeni mikrovasküler gelişim başlatılmadığı sürece tümör gelişiminin süresiz şekilde değişmeyeceği söylenir. Hücreler oksijensiz kaldıklarında anjiogenik faktörler salgılayarak, yeni kapillerlerin gelişimini teşvik ederler (61, 70, 78). Kan damarları, besin ve oksijen sağlamak için tümör parenkimi içine girer. Oluşturulan damarlar, infiltre olmaya çalışan immün hücrelere giriş rotası, sistemik dolaşıma metastaz yapmaya çalışan tümör hücrelerine de çıkış rotası sağlar (17, 22, 59).

Her dokuda anjiogeneze kapasitesi vardır ve bu mekanizma çok sıkı denetim altındadır; kan damarı oluşumunu denetleyen mekanizmalar neoplastik

Tablo II. Anjiogenezin stimülasyonunda rol oynayan faktörler

Büyüme Faktörleri	VEGF Angiopoietinler Angiogenin a and bFGF (bazik ve asidik Fibroblast büyüme faktörü) EGF (Epidermal büyüme faktörü) PDGF (Platelet kaynaklı büyüme faktörü) SF (Scatter Faktör)
Proteaz ve Proteaz İnhibitörleri	Ura kinaz-tip plazminojen aktivatörü Matriks metalloproteazarı Jelatinaz, A, B Katepsin
Onkogenler	c-myc Ras c-src v-raf c-jun
Sinyal ileti enzimleri	Farnesil transferaz Timidin fosforilaz
Endojen modülatörler	α v β 3 integrin Angiopoietin1 Angiopoietin2 Endotelin Hipoksi NOS (Nitrikoksit sentaz)

hücrelerce bozguna uğratılmıştır (7); negatif regülatörler azalırken pozitif regülatörler artar (6), (Tablo II). Tümör anjiogenezindeki anjiogenezi indükleyici mekanizmaların, tümör hücrelerinin kendileri tarafından aktive edildiği gösterilmiştir (7).

Tümörde oluşturulan mikro damarlar normal damarlara benzemelerine rağmen bazı farklılıklar da içerirler (2). Normal kapiller yataklarıyla yakın ilişki içindeki destekleyici nitelikli perisitler ve vasküler düz kas hücrelerin tümör damarlarında varlıklarıyla ilgili çelişkili bulgular vardır. Konvansiyonel elektron mikroskopisi ve immüno-elektron mikroskopisi, perisitlerin ve vasküler düz kas hücrelerinin endotel hücreleri ile direkt ilişkide olduklarını ve normal beyin dokusuna kıyasla 3-5 kat fazla olduklarını gösterirken (64, 77), immünohistokimyasal çalışmaların sonuçları tersini savunmaktadır (4). Tümör damarlarını çevreleyen perisitlerin ve vasküler düz kas hücrelerinin komşu oldukları endotel hücrelerine VEGF kaynağı oluşturdukları düşünülmektedir. Guo ve ark., U87MG gliom hücrelerinde, PDGF-B over ekspresyonun, hem VEGF ekspresyonu hemde oluşan tümör damarlarına perisitlerin katılımını anlamlı şekilde arttırdığını göstermiştir (27). Bununla

birlikte perisitlerin, anjiogenezin durdurulması ve oluşan yeni damarların olgunlaşması evresinde görev yaptığı bilinen bulgulardandır. Dolayısıyla tümör damarlarını saran perisitler ve vasküler düz kas hücreleriyle — endotel ilişkisinin netleştirilmesi hem tümör anjiogenezinin hem de doğru anti-anjiogenik yaklaşımların geliştirilmesini sağlayacak birçok soruya dikkat çekmektedir (36).

Tümör damarlarını oluşturan endotel hücrenin kendileri sıklıkla normalden daha büyük ve farklı bir yapı sergiler. Endotel hiperplazisi ile ilişkili olduğu düşünülen damar duvar kalınlığındaki artış tümör damarlarının en yaygın özelliğidir (7). Elektron mikroskopisi çalışmalarıyla endotel diziliminde 3 yapısal anormallik belirlenmiştir; açık endotelial boşluklar (inter endotelial bağlantılar ve trans endotelial kanallar), sitoplazmik veziküller (veziküller vakuoler organeller ve kaveola) ve hücrel açıklıklar (72). Tümör kapillerlerine ait bazal membran kompozisyonunda değişikliklere rastlanır; normal damarlara kıyasla daha ince bir tabaka oluşturdukları söylenebilir (64). Bu farklılıklar mikrovasküler geçirgenlikteki artış, kan-beyin bariyerinin bozulması ve hatta metastaz yeteneğinin gelişmesini sağlayan patofizyolojik anormallikleri açıklamaktadır (62, 76).

Onkogen ve tümör baskılayıcı genlerin tümör anjiogenezinin modülasyonundaki rollerine ilişkin çalışmalar kanser araştırmaları için yeni bir alan oluşturmuştur. Birçok onkogen anjiogenezi başlatıcı moleküllerin üretimini teşvik eder (8, 69). Onkogenler sadece anjiogenez stimülatörlerini aktive ederek değil, aynı zamanda anjiogenez inhibitörlerini de baskılayarak dengeyi vaskülerizasyon yönünde bozarlar. Bu mekanizmanın tersi de geçerlidir; anjiogenez de tümör gelişimini arttırır (10). Klinik veriler, damarlanma indeksi ile tümör agresifliği arasında ciddi bir ilişki olduğunu göstermektedir. Birçok tümör tipinde damar sayısı tümör karakterini ortaya koyan önemli bir belirleyicidir (24, 25, 74, 76).

GLİOM ANJİOGENEZİ

Gliyal tümörlerde görülen; lokal nöronal yapılara ve serebrospinal sıvıya invazyon gibi intrakranial basıncı artırıcı ölümcül etkilerin ana mekanizması, anjiogenezin sağladığı hızlı büyümedir. Gliomlardan farklı olarak ekstrakranial tümörlerde, hızlı büyüme yine anjiogenezle direkt ilişkili olan metastaz gelişimi açısından önemlidir (43, 44). Birçok tümör tipinde anjiogenezin sağladığı metastaz yeteneğine rağmen (18, 34); gliyal tümörler çok nadiren merkezi sinir sistemi dışına çıkarlar (45). Gliom dokusunun ototransplantasyonu ile ekstrakranial olarak gelişebileceği gösterilmiş olmasına rağmen (5), gliomlar yalnızca beyin parenkimi veya spinal korda genişleme eğilimindedir (45). Yapılan çalışmalar leptomeningial hücrelerin, özellikle de pia materin etkin bir bariyer görevi gördüğünü ortaya koymuştur (5). Bu bulgular ekstrakranial tümörlerde anjiogenez, metastaz ve prognoz arasında kurulan ilişkinin gliyal tümörler için geçerli olmadığını düşündürmektedir. Dolayısıyla anjiogenezin gliom kliniğini başka hangi yönlerden etkiliyor olabileceğini ortaya koymak önemlidir. Örneğin lokal yayılımcı büyüme yoğun anjiogenezle ortaya konur. Yüksek evreli gliomlarda baskın neovaskülerizasyon ve vasküler endotel proliferasyonu çok sık görülen bir özelliktir. Düşük evreli gliomlarda damarlanma bir dereceye kadardır. Sonuç olarak gliyal tümör hücreleri anjiogenezi ne kadar stimüle etme yeteneğinde ise, o kadar fazla agresif büyüme karakteristiği gösterir denilebilir. Yüksek mikro damar yoğunluğunun hastanın daha kısa yaşam şansı olduğunu gösteren

bağımsız bir prognostik faktör olarak kabul edilmesi gliom hücreleri ve tümör damarlanması arasındaki ilişkiye gösterilen büyük ilginin sebebidir (1).

Gliyal neoplazilerin en şaşırtıcı olanı pilositik astrositomlardır. Göreceli olarak inaktif olan bu tümörler çoğunlukla, glioblastomda görülen glomerüloid vasküler proliferasyona benzer yüksek damarlanma içerirler ve bu tümörlerdeki damarlanma derecesi prognozu değiştirmez (23). Dolayısıyla anjiogenezin gliom prognozu için bağımsız bir haberci olup olmadığı sorusu ortaya çıkar.

Gesundheit ve ark., pilositik astrositomlar ve çocukluk çağı anaplastik astrositomlardaki damar yapısını kıyasladıkları çalışmada, astrositom alt tiplerinin, matürite derecesi, damar büyüklüğü gibi histopatolojik bulgular ve damar morfolojisi açısından anlamlı şekilde birbirinden farklı olduklarını göstermişlerdir. Pilositik astrositomlarda, matür, düzgün şekilli, büyük damarlar gözlenirken, anaplastik astrositomlarda bu bulguların tersine immatür, stabil olmayan daha agresif damarların çoğunlukta olduğu gözlenmiştir (26).

Gliom damarlanması tümör morbiditesine katkıda bulunan patofizyolojik anormallikler içerir. Çoğu tümör damarının, normal stromal hücreleri içermemesine rağmen, gliom neovaskülerizasyonunun, perisitleri ve vasküler düz kas hücrelerini içerir (77). Düz kas hücreleri için mitojenik olan endotelin ve anjiogenik bir molekül olan TGF- β (Transforming Growth Factor- β) çeşitli astrositik tümörlerde eksprese olur ve ekspresyon seviyesi tümörün damarlanma miktarı ve malinitesi ile ilişkilidir (65). Düz kas hücrelerinin proliferasyonu glomerüloid yapıyla ilişkili aşırı damarlanma için önemli olabilir (28).

Astrositomların çeşitli alt gruplarında yapılan bir çalışmada vasküler endotel proliferasyonun prognostik olarak anlamlı olduğu fakat anaplazi derecesi ve nekroz için bu ilişkinin geçerli olmadığı gösterilmiştir (24). Bir başka çalışma ise glioblastomdaki nekrozun, neovaskülerizasyonu gösteren güçlü bir prognostik faktör olduğunu ortaya koymuştur (51). Brem ve arkadaşları astrositom derecelendirilmesinde damar proliferasyonu, endotelial hiperplazi ve endotelial sitolojinin tümör evresi ile ilişkili olduğunu; yüksek skorun düşük yaşam süresi ile bağlantılı olduğunu bulmuşlardır (9).

Bu bulgular, gliom agresifliği ve anjiogenez ilişkisinde kapiller yoğunluktan çok, damar yapısı, endotelial hiperplazi ve sitolojinin etkin rol oynadığını gösterir niteliktedir.

Neovaskülerizasyonun eksikliği tümör gelişimini ciddi şekilde sınırlandırır. Ancak anjiogenik aktivitenin tümör hücresi popülasyonunda artışa neden olduğu söylenemez; dolayısıyla anjiogenez her zaman malignite ile ilişkili değildir (23). Bir başka değişle malignite için anjiogenez gereklidir ancak; anjiogenik aktivite her zaman maligniteyi işaret etmez. Glial neoplazilerdeki anjiogenezin öneminin açık şekilde ortaya konulabilmesi için daha kompleks ve ayrıntılı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

GLİOM ANJİOGENEZİNDE MOLEKÜLER MEKANİZMALAR

Gliomlarda indüklenen anjiogenez klasik anjiogenezdir; normal vasküler gelişim için gerekli olan moleküller gliom vaskülerizasyonunda da rol oynar. Gliom mikro damarlarındaki birçok karakteristik özellik vazoaktif moleküllerin anormal ekspresyonu ile ilgilidir. Yüksek anjiogenik aktivite pro-anjiogenik büyüme faktörleri ve onların reseptörlerinin anormal ekspresyonu sonucudur. Bu sinyal ileti sisteminin bölgesel ekspresyon şekli ile gliom anjiogenezinin bölgesel heterojenliği ilişkilidir (54, 71).

VEGF ve VEGFR Ailesi

Endotel hücrelerine özgün bir mitojen olan VEGF ailesi, beyinde görülen hem fizyolojik hem de patolojik anjiogenezde major rol oynar (48). Endotel hücreleri üzerinde eksprese olan VEGFR-1 (flt-1), VEGFR-2 (flk-1/KDR), VEGFR-3 (flk-4) transmembran trozin kinaz reseptörlerine bağlanarak endotel aktivasyonuna, vasküler geçirgenliğe ve anjiogenezin artmasına yol açar (52, 53, 54). VEGF ekspresyon seviyesi gliom malignite derecesi ile direkt ilişkilidir; glioblastom dokusunda VEGF 50 kat fazla eksprese edilir (75). VEGF m-RNAsını üreten hücrelerin özellikle nekrotik alanlarla ilişkili olması hipoksinin, glioblastom anjiogenezini regüle ettiğini düşündürmektedir. Hipoksi, glioblastom hücrelerinde VEGF ligandının; tümör endoteliumunda da VEGF reseptörlerinin ekspresyonunu artırır. Bu durum tümör anjiogenezinde VEGF'in parakrin mekanizmasını işaret eder (32, 55). Transgenik fare modelinde

neoplastik astrositlerin, tümör gelişiminin çok erken evrelerinde fazla miktarda VEGF transkripsiyonu yaptığı, VEGF reseptör ekspresyonunun insan gliomunda tariflendiği şekilde olduğu gösterilmiştir. Aynı modelde neoplastik astrositlerin flt-1 reseptörlerini de eksprese ediyor oluşu tümör gelişiminde VEGF otokrin mekanizmasının varlığını gösterir (13). Ancak, diğer bazı tümörlerde gözlenen otokrin fonksiyona rağmen glial tümör hücrelerinde görülen aktif VEGF reseptörlerinin ve eksprese ettikleri VEGF ligandının oluşturduğu otokrin stimülasyonun gliom hücreleri üzerindeki tümör proliferasyonuna etkisi azdır (49).

Gliomlarda görülen vasküler geçirgenlik, kan-beyin bariyerinin ortadan kalkması ve ödem oluşumu, VEGF ekspresyonu ile ilişkilidir (67). Peritümoral ödem dolayısıyla artan intrakranial basınç ve normalde olması gereken oto-regülasyonun glial tümörlerde olmaması sonucu oluşan iskemi, neovasküler yapıları spontan kanamalara açık kılar ve sonuçta klinik olarak hızla kötüye gidişe neden olur (46).

Tümör anjiogenezinde fonksiyonel olduğu gösterilen büyüme faktörlerinden bFGF, EGF, TGF- α ve PDGF-BB, VEGF salgısını artırır (15). VEGF ve reseptörlerinin anjiogenez mekanizmasındaki öneminin anlaşılması ile anti-anjiogenik çalışmaların bir kısmı bu yolağı durdurmayı hedeflemiştir; anti-VEGF antikoları, antisens-VEGF, çözünür VEGF reseptörleri ve düşük molekül ağırlıklı VEGF reseptör inhibitörlerinin neovaskülerizasyonu durdurmada başarılı olduğu görülmüştür. VEGF ve VEGF reseptörlerine karşı geliştirilen antikoların faz 2/3 klinik denemeleri yapılmaktadır (14).

Angiopietin-Tie Sinyal İleti Sistemi

Endotel hücrelerine özgün olduğu gösterilen diğer ligand-reseptör sistemi, angiopietin-tie sistemidir. Bu aileye ait dört üye tanımlanmıştır, Angiopietin-1 - 4. Angiopietin-1, tie-2'nin fizyolojik ligandıdır. Gelişen endoteliuma perisitlerin ve vasküler düz kas hücrelerinin katılımını, kan damarlarının olgunlaşmasını sağlar (47). Ligandı henüz belirlenmemiş olmakla beraber tie-1 vasküler bütünlüğün ve devamlılığının sağlanması için önemlidir. Malignant melanomların, meningiom ve gliomların kapillerlerinde eksprese edilir (32). Angiopietin-2, angiopietin-1'in doğal antagonistidir; damarların devamlılığını engeller ve endotel apoptozunu teşvik eder. Gliom gelişimi gibi

patolojik durumlarda aşırı ekspresyonu görülür. Angiopoietin-2'nin ekspresyonundaki artış ve tie-2 reseptörünün inhibe edilmesinin tümör anjiogenezi için gerekli olduğu görülmüştür. Gliom endotelinde tie-2 aşırı sentezlenir, glioblastom mikro damarlarında yüksek seviyede angiopoietin-2 mRNA'sı görülür; geniş ve olgun damarlarda ise çok miktarda damar destek hücresi ve azalmış angiopoietin-2 ekspresyonu gözlenir (66).

FGF Ailesi (FGF-1 ve FGF-2)

FGFler izole edilen ilk anjiogenik faktörlerdir ve gliom anjiogenezinde etkindirler. Normal beyin dokusuna göre gliom dokusunda FGF-1 ekspresyonu çok daha fazladır (63). U87MG gliom hücre serilerinde yüksek seviyede FGF-2 mRNA'sı ve proteinine rastlanmıştır (50). FGF-2 ekspresyonu endotel aktivitesi ile ilişkilidir; endotel hücrelerinde proliferasyonu, proteaz üretimini, kemotaksi ve tüpsü yapı oluşumunu FGF-tirozin kinaz reseptörlerini stimüle ederek teşvik eder (12). Artan bulgular FGFler ile VEGFlerin ortaklaşa bir etki ortaya koyduğunu; FGF-2'nin VEGF ve VEGFR-2 ekspresyonunu arttırdığını göstermektedir (54, 58). Sonuç olarak, FGFler endotel aktivitesinin modülasyonu ve VEGF ekspresyonunu teşvik ederek iki yolla anjiogeneze katkıda bulunurlar.

EGF Sinyali

EGF mikro vasküler endotel hücre proliferasyonunu stimüle eder (40). Özellikle tümör örneklerinde ve astrositom hücre serilerinde eksprese edilir. GBMlerin %50'sinde EGFR amplifikasyonu olduğu ve düşük dereceli astrositoma oranla çok daha fazla eksprese edildiği görülmüştür (37). Glial hücre kültürlerinde EGFR amplifikasyonun, PTEN (10q23.3 de kodlanan tümör baskılayıcı gen) inaktivasyonu ile birlikte VEGF gen ekspresyonu anlamlı oranda arttırdığı gözlenmiştir (56).

PDGF Ligand ve Reseptörleri

Glial tümörlerde PDGF ligand ve reseptörleri parakrin ve otokrin mekanizmalarla tümör gelişimini ve anjiogenezi artırır. Yüksek vaskülerizasyon gösteren GBMler PDGF-A ve B zincirlerini, PDGFR-a ve b ve alt birimlerini eksprese eder. PDGF ligandları ve reseptörleri mezenkimal orijinli tümörlerde ve nöral krest tümörlerinde özellikle fazla eksprese edilir (33, 39). PDGF

reseptörleri çok yaygın ve farklı hücre tipinde eksprese olurken; makrovasküler endotel hücrelerinin proliferasyonuna etki etmez. Fakat yeni oluşan kapiller tüp endotel hücrelerinin farklı fenotipleri farklı PDGF yanıtları oluşturur. Özellikle PDGF-B'nin, PDGFR-b eksprese eden vasküler endotel hücrelerde tüpsü yapı oluşumunu teşvik ettiği in vitro olarak gösterilmiştir (3). Hipoksi, endotel hücrelerinde ve mono nükleer fagositlerde PDGF-B zincirinin ekspresyonunu artırır (41). Sıçan beynindeki kapiller endotel hücrelerinin PDGF verilmesiyle hücre hareketliliklerinin arttığı görülmüştür (30). Bu bulgular PDGF'in anjiogeneze direkt olarak katıldığını gösterir niteliktedir.

KAYNAKLAR

1. Abdufrauf SI, Edvardsen K, Ho K.L, XY Yang, Rock JP, and Rosenblum ML; Vascular endothelial growth factor expression and vascular density as prognostic markers of survival in patients with low- grade astrocytoma. J Neurosurg 88:513-520, 1998
2. Amore PA, Thompson RW: Mechanisms of angiogenesis. Annu Rev Physiol 49:453-464, 1987
3. Battegay EJ, Rupp J, Ireula Arispe L, Sage EH, Pech M: PDGF-BB modulates endothelial proliferation and angiogenesis in vitro via PDGF beta-receptors. J Cell Biol 125: 917-928, 1994
4. Benjamin LE, Golijenin D, Itin A, Pode D, Keshet E: Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor withdrawal. J Clin Invest 103: 159-165, 1999
5. Bjerkvig R, Lund J, Edvardsen K. Tumor cell invasion and angiogenesis in the central nervous system. Curr Opin Oncol 9: 223-229, 1997
6. Black PMcL. Meningiomas. Neurosurgery 32: 643-657, 1993
7. Blood CH, Zetter BR. Tumor interactions with the vasculature: angiogenesis and tumor metastasis. Biochem Biophys Acta 1032: 89-118, 1990
8. Bouck N, Stellmach V, Hsu SC: How tumors become angiogenic. Adv Cancer Res 69:135-174,1996
9. Brem S. The role of vascular proliferation in the growth of brain tumors. Clin Neurosurg 23:440-453, 1976
10. Cavallaro U, Christofori G. Molecular mechanisms of tumor angiogenesis and tumor progression. J Neuro-Onc 50: 63-70,2000
11. Coffin JD, Poole TJ. Embryonic vascular development: immunohistochemical identification of the origin and subsequent morphogenesis of the major vessel primordia in quail embryos. Development 102:735-748, 1988
12. Christofori G: The role of fibroblast growth factors in tumor progression and angiogenesis. In: Bicinell R, Lewis C, Ferrera N (eds) Tumor angiogenesis. Oxford Oxford: University Press, 1996
13. D'Angelo MG, Afanasieva T, Aguzzi Adriano: Angiogenesis in transgenic models of multistep carcinogenesis. J Neuro-Onc 50: 89-98,2000
14. Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, Zimmerman J, and Lydon NB: Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr Abl positive cells. Nat. Med. 2:561-566,1996

15. Dunn IF, Heese O, Black PMcL: Growth factors in glioma angiogenesis: FGFs, PDGF, EGF, and TGFs. *J Neuro-Onc* 50:121-137,2000
16. Flamme I, Baranowski A, W Risau: A new model of vasculogenesis and angiogenesis in vitro as compared with vascular growth in the avian area vasculosa. *Anat Rec* 23 7:49-57, 1993
17. Folkman J: Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 285:1182-1186,1971
18. Folkman J: Tumor angiogenesis: a possible control point in tumor growth. *Ann Intern Med* 82:96-100, 1975
19. Folkman J: What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 82:4-6, 1990
20. Folkman J: Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1:27-31, 1995
21. Folkman J, Cole P, Zimmerman S: Tumor behavior in isolated perfused organs: in vitro growth and metastases of biopsy material in rabbit thyroid and canine intestinal segment. *Ann Surg* 1 64:491-502, 1966
22. Folkman J, Hochberg M: Self-regulation of growth in three dimensions. *J Exp Med* 138:745-753, 1973
23. Fulchiero A, Winston K, Leviton A, Gilles FH. Secular trends of cerebellar gliomas in children. *J Natl Cancer Inst* 58:839-843, 1977
24. Fulling KH, Garcia DM: Anaplastic astrocytoma of the adult cerebrum. Prognostic value of histological features. *Cancer* 55:928-931, 1985
25. Gasparini G Harris AL: Clinical importance of the determination of tumor angiogenesis in breast carcinoma: much more than a new prognostic tool. *J Clin Oncol* 13:765-782, 1995
26. Gesundheit B, Klement G, Senger C, Kerbel R, Kieran M, Baruchel S, Becker L: Differences in vasculature between pilositic and anaplastic astrocytomas of childhood. *Med Pediatr Oncol*;41:516-526, 2003
27. Guo P, Hu B, Gu W, Xu L, Wang D, Huang HJS, Cavenee WK, Cheng SY. PDGF -B enhances glioma angiogenesis by stimulating VEGF expression in tumor endothelia and by promoting pericyte recruitment. *Am.J.Pathol.* 162: 4, 2003
28. Haddad SF, Moore SA, Schelper RL, Goeken JA Vascular smooth muscle hyperplasia underlies the formation of glomeruloid vascular structures of glioblastoma multiforme. *J Neuropathol Exp Neurol* 5 1:488-492,1992
29. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the switch during tumorigenesis. *Cell* 86:353-364,1996
30. Hart CE, Bailey M, Curtis DA, Osborn S, Raines EW, Ross R, Forstrom JW: Purification of PDGF-AB and PDGF-BB from human platelet extracts and identification of all three PDGF dimers in human platelets. *Biochemistry* 29: 166-172, 1990
31. Hashimoto T, Emala CW, Joshi S, Mesa-Tejeda R, Quick CM, Feng L, Libow A, Marchuk DA, Young WL: Abnormal Pattern of Tie-2 and Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Expression in Human Cerebral Arteriovenous Malformations. *Neurosurgery* 47: 910-91 8, 2000
32. Hatva E, Kaipainen A, Mentula P, Jaaskelainen J, Paetau A, Haltia M, Alitalo K: Expression endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases and growth factors in human brain tumors. *Am J Pathol* 146:368-378, 1995
33. Heldin C: Structural and functional studies on platelet-derived growth factor. *EMBO* 3 11: 4251-4259, 1992
34. Horak ER, Leek R, Klenk N, LeJeune S, Smith K, Stuart N, Greenall M, Stepniwska K, Harris AL: Angiogenesis, assessed by platelet/endothelial cell adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastases and survival in breast cancer. *Lancet* 340:1120-1124, 1992
35. Hudlicka O, Brown M, Egginton: S Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. *Physiol Rey* 72:369-417, 1992
36. Jain KR, Booth MF: What brings pericytes to tumor vessels? *J Clin Invest* 112: 1134-1136,2003
37. Kanno H, Chiba Y, Kyuma Y, Hayashi A, Abe H, Takada H, Kim I, Yamamoto I. Urinary epidermal growth factor in patient with gliomas: significance of the factor as a glial tumor marker. *J Neurosurg* 79(3): 408-413, 1993
38. Kılıç T, Pamir MN, Kullu S, Eren F, Özek MM, Black PMcL: Expression of structural proteins and angiogenic factors in cerebrovascular anomalies. *Neurosurgery* 46:1179-1192,2000
39. Kılıç, T, Alberta, JA, Zdunek, PR, Acar M, Iannarelli P, O'Reilly T, Buchdunger E, Black PM, and Stiles CD: Intracranial inhibition of platelet-derived growth factor-mediated glioblastoma cell growth by an orally active kinase inhibitor of the 2- Phenylaminopyrimidine class. *Cancer Res* 60:5143-5150,2000
40. Klein S, Roghani M, Rifkin DB: Fibroblast growth factors as angiogenesis factors: New insights into their mechanism of action. In: Goldberg ID, Rosen EM (ed): Regulation of Angiogenesis, Birkhauser Verlag Basel 159-192, 1997
41. Kuwabare K, Ogawa S, Matsumoto M, Koga S, Clauss M, Pinsky DJ, Lyn P, Leavy J, Witte L, Silvestein J, Furie MB, Torcia G, Cozzolino F, Kamada T, Stern DM: Hypoxia-mediated induction of asidic/basic fibroblast growth and platelet derived growth in mononuclear phogocytes stimulates growth of hypoxic endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 4606-4616, 1995
42. Leon SP, Folkerth RD, Black PM. Microvessel density is a prognostic indicator for patients with astroglial brain tumors. *Cancer* 77: 362-372, 1996
43. Lien WM and Ackerman NB. The blood supply of experimental liver metastases. A microcirculatory study of the normal and tumor vessels of the liver with the use of perfused silicone rubber. *Surgery* 68: 334-340, 1970
44. Liotto LA, Steeg PS, Stetler S: Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 64: 327-336, 1991
45. Liwnicz BH, Rubinstein LJ: The pathways of extraneural spread in metastasizing gliomas: a report of three cases and critical review of literature. *Hum Pathol* 10: 453-467, 1979
46. Liwnicz BH, Wu SZ, Tew JM. The relationship between the capillary structure and hemorage in gliomas. *J Neurosurg* 66: 536-541, 1987
47. Maisonpierre P, Suri C, Jones P, Bartunkova S, McClain J, Aldrich T, Papadopoulos N, Daly T, Davis S, Sato T, Yoncopoulos G; Angiopoietin-2, annatural antogonist for Tie-2 that distrupts in vivo angiogenesis. *Science* 277: 55-60,1997
48. Machein MR, Plate KH: VEGF in brain tumors. *J Neuro-Oncol* 50: 109-120, 2000
49. Mentlein R, Forstreuter F, Mehdorn HM, Held-Feindt J: Functional significance of vascular endothelial growth factor receptor expression on human glioma cells. *J Neuro-Onc.* 67: 9-18, 2004
50. Murphy PR, Sato R, Sato Y, Friesen HG: Fibroblast growth factor messenger ribonucleic acid expression in a human astrocytoma cell line: regulation by serum and cell density. *Mol Endocrinol* 2: 591-598, 1988
51. Nelson JS, Tsukuda Y, Scoenfeld D, Fulling K, Lamarche J Peress N: Necrosis as a prognostic criterion in malignant supratentorial, astrocytic gliomas. *Cancer* 52: 550-554,1983
52. Noden DM: Embryonic origins and assembly of blood vessels. *Am Rev Respir Dis* 140: 1097-1103, 1989
53. Pardanaud L, Yassine F, Dieterlen: Relationship between vasculogenesis, angiogenesis and haemopoiesis during avian ontogeny. *Development* 105: 473-485, 1989

54. Pepper MS, Mandriota SJ. Regulation of vascular endothelial growth factor receptor-2 (flk-1) expression in endothelial cells. *Exp Cell Res* 241: 414-425, 1998
55. Plate KH, Breier G, Weich HA, W Risau. Vascular endothelial growth factor is a potential tumor angiogenesis factor in human gliomas in vivo. *Nature* 359: 845-848, 1992
56. Pore N, Liu S, Haas-Kogan DA, O'Rourke DM, Maity A: PTEN mutation and epidermal growth factor receptor activation regulate VEGF mRNA expression in human glioblastoma cells by transactivating the proximal VEGF promoter. *Cancer Res.* 63: 236-241, 2003
57. Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 11: 73-91, 1995
58. Seghezzi G, Patel S, Ren CJ, Gualandris A, Pintucci G, Robbins ES, Shapiro RL, Galloway AC, Rifkin DB, Mignatti P: Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) induces vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in the endothelial cells of forming capillaries. An autocrine mechanism contributing to angiogenesis. *J Cell Biol* 141: 1659-1673, 1983
59. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF: Tumor cells secrete avascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 219: 983-985, 1983
60. Shalaby F, Rssant J, Yamaguchi TP, Gertsenstein M, Wu XF, Breitman ML, Schuh AC: Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1 deficient mice. *Nature* 376: 62-66, 1995
61. Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia angiogenesis. *Nature* 359:843-845, 1992
62. Srivastava A, Laidler P, Davies RP, Horgan K, and Hughes LE. The prognostic significance of tumor vascularity in intermediate-thickness (0.76-4.0 mm thick) skin melanoma. A quantitative histologic study. *Am J Pathol* 133: 419-423, 1988
63. Stefanik DF, Rizkalla LR, Soi A, Goldblatt SA, Rizkalla WM: Acidic and basic fibroblast growth factors are present in glioblastoma multiform. *Cancer Res* 51: 5760-5765, 1991
64. Stewart PA, Hayakawa K, Hayakawa E, Farrel CL, Dei Maestro RF. A quantitative study of blood-brain barrier permeability multi structure in a new rat glioma model. *Acta Neuropathol (Berl)* 67: 97-102, 1985
65. Stiles JD, Ostrow PT, Balos LL, Greenberg SJ, Plunkett R, Grand W, Heffner RR: Correlation of endothelin-1 and transforming growth factor beta 1 with malignancy and vascularity in human gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 56:435-439,1997
66. Stratmann A, Risau W, Plate KH: Cell type specific expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 suggest a role in glioblastoma angiogenesis. *Am J Pathol* 153: 1459-1466, 1998
67. Strugar J, Rothbart D, Harrington W, Criscuolo GR: Vascular permeability factor in brain metastasis: Correlation with vasogenic brain edema and tumor angiogenesis. *J Neurosurg* 81: 560-566,1994
68. Tannock IF: Population kinetics of carcinoma cells, capillary endothelial cells, and fibroblasts in a transplanted mouse mammary tumor. *Cancer Res* 30:2470-2476, 1970
69. Theurillot JP, Hainfeller J, Maddalena A: Weissenberger J, Aguzzi A. Early induction of angiogenetic signals in gliomas of GFAP-v-src transgenic mice. *Am J Pathol* 154: 5 8-590, 1999
70. Thompson WD, Shiach KJ, Fraser RA, Macintosh LC, JG Simpson: Tumors acquire their vasculature by vessel incorporation, not vessel in growth. *J Pathol* 151:323-332, 1987
71. Vajkoczy P, Schilling L, Ullrich A, Schmicdeck P, Menger MD: Characterization of angiogenesis and microcirculation of high-grade glioma: an intravital multifuorescence microscopic approach in the athymic nude mouse. *J Cereb Blood Flow Metab* 18: 510-520, 1998
72. Vick NA, Bigner DD. Microvascular abnormalities in virally induced canine brain tumors. Structural bases for altered blood-brain barrier function. *J Neurol Sci* 17: 29-39, 1972
73. Waggener JD, Beggs JL: Vasculature of neural neoplasms. *Adv Neurol* 15: 27-49, 1976
74. Wakui S, Furusato M, Itoh T, Sasaki H, Akiyama A, Kinoshita, Asano K, Tokuda T, Aizawa S, S Ushigome: Tumor angiogenesis in prostatic carcinoma with and without bone marrow metastasis: a morphometric study. *J Pathol* 168:257-262,1992
75. Weindel K, Moringlane JR, Marme D, Weich HA: Detection and quantification of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor in brain tumor tissue and cyst fluid: the key to angiogenesis? *Neurosurgery* 35: 439, 1994
76. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J: Tumor angiogenesis and metastasis- correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 324:1-8, 1991
77. Wesseling P, Schlingemann RO, Rietveld FJ, Link M, Burger PC, Ruitter DJ: Early and extensive contribution of pericytes/vascular smooth muscle cells to microvascular proliferation in glioblastoma multiform: an immuno-light and immuno-electron microscopic study. *J Neuropathol Exp Neurol* 54:304-310,1995
78. Ziche M, Gullino PM: Angiogenesis and neoplastic progression in vitro. *J Natl Cancer Inst* 69:483-487, 1982