

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI

MEME KANSERİNDE VEGF-C EKSPRESYONU VE KLİNİK ÖNEMİ

Dr. SİNAN YAVUZ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. SEMRA PAYDAŞ

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Kurulu tarafından “TF2002LTP77” proje numarasıyla desteklenmiştir.

Ayrıca çalışmamın her aşamasında bana yardımcı olan değerli Hocam Prof. Dr. Semra Paydaş’a ve patolojik değerlendirmeleri büyük bir titizlikle yapan Sayın Prof. Dr. Suzan Zorludemir ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Şeyda Erdoğan’a teşekkürlerimi sunarım.

Hastaların tanı ve tedavisinde emeği geçen herkese teşekkürler.

Hastalarımıza da teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO LİSTESİ	iii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
ÖZET VE ANAHTAR SÖZCÜKLER	v
ABSTRACT – KEYWORDS	vi
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Meme Kanseri	3
2.1.1. Epidemiyoloji	3
2.1.2. Etiyoloji	3
2.1.3. Meme Kanserinde Prognostik ve Prediktif Faktörler	4
2.2. Anjiyogenez	7
2.2.1. VEGF-A	14
2.2.2. Lenfanjiyogenez ve VEGF-C	15
GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. İmmünohistokimyasal VEGF-C Boyama Tekniği	22
3.2. İmmünoreaktivitenin Değerlendirilmesi	23
3.3. İstatistiksel İncelemeler	23
BULGULAR	24
TARTIŞMA	32
SONUÇLAR	40
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	45

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 1. Meme kanserinde prognostik ve prediktif faktörler.	5
Tablo 2. Anjiyojenik ve anti-anjiyojenik moleküller.	12
Tablo 3. Meme kanserinde evreleme sistemi (AJCC).	20
Tablo 4. Hastaların klinik ve patolojik özellikleri.	26
Tablo 5. VEGF-C'nin klinik ve patolojik parametreler ile ilişkisi.	27
Tablo 6. VEGF ailesi ile ilgili klinik çalışma sonuçları.	36

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Şekil 1. Anjiyojenik dönüşüm.	9
Şekil 2. Anjiyojenik fenotip belirleyicileri.	11
Şekil 3. VEGF izoformları ve reseptörleri.	15
Şekil 4. VEGF-C ekspresyonu negatif (x 200 büyütme).	30
Şekil 5. VEGF-C ekspresyonu 1(+) (x 200 büyütme).	30
Şekil 6. VEGF-C ekspresyonu 2(+) (x 200 büyütme).	31
Şekil 7. VEGF-C ekspresyonu 3(+) (x 200 büyütme)	31

ÖZET

MEME KANSERİNDE VEGF-C EKSPRESYONU VE KLİNİK ÖNEMİ

Tümör hücrelerinin anjiyojenik fenotipe sahip olmaları halinde klinik davranışları değişir ve agresif seyir gösterirler. İnsan vücudunda tanımlanmış çok sayıda anjiyojenik faktör mevcuttur. Bunların içinde en önemlisi vasküler endotelial büyüme faktörleridir. Lenfanjiyogenez, yakın geçmişten itibaren ayrıntılı olarak incelenmeye başlanmıştır. Özellikle VEGF-C ligandının güçlü lenfanjiyojenik etkiye sahip olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Lenfanjiyogenez, tümörde lenfovasküler invazyon, bölgesel lenf nodlarına metastaz ve uzak organ metastazlarının gelişiminde önemli rol oynayan bir süreçtir. Bu bilgiler ışığında, meme kanserinde lenfanjiyogenезin güçlü bir stimulanı olan VEGF-C ile diğer klasik klinikopatolojik prognostik ve/veya prediktif faktörler arasında bir ilişkinin olup olmadığı araştırıldı. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda 1994 ile 2003 yılları arasında takip ve tedavi edilen ve Patoloji Anabilim Dalı tarafından histopatolojik olarak meme kanseri tanısı konulan olgulardan 217'si çalışmaya dahil edildi. VEGF-C ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirildi. Tümör hücrelerindeki sitoplazmik boyanma derecesi dikkate alındı. Tümör evresi, gradı, aksiller lenf nodu tutulumu, östrojen ve progesteron reseptör durumu, c-erb-B2, lenfovasküler invazyon gibi parametrelerle VEGF-C ilişkisi incelendi. VEGF-C düzeyleri ile hiçbir parametre arasında istatistiksel anlam ifade eden bir ilişki saptanmadı. Bu durum birkaç şekilde açıklanabilir; VEGF-C ekspresyonunu saptamaya yönelik yöntemler arasında bir standardizasyon sağlanamamıştır. VEGF-C ligandının lenfanjiyojenik etkisi, farklı ve nonfonksiyonel VEGFR-3 varyantları olması nedeniyle, her zaman belirgin olmayabilir. Ek olarak, incelediğimiz hasta popülasyonunun heterojen olması ve bazı hastalardaki veri eksikliğinin de sonuçlara olumsuz katkıda bulunmuş olabileceği kanısına varılmıştır. Anjiyogenez/lenfanjiyogenez ve prognoz arasındaki ilişkiyi daha iyi gösterebilmek için, standart hale gelmiş yöntemlere ve daha geniş, homojen hastalardan oluşan gruplarla yapılacak prospektif çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Sözcükler: anjiyogenez, lenfanjiyogenez, meme kanseri, prognoz, VEGF-C

ABSTRACT

VEGF-C EXPRESSION IN BREAST CANCER: CLINICAL IMPORTANCE

The behaviours of tumor cells change when they have angiogenic phenotype and they become more aggressive. It has been found many angiogenic factors in human body. The most important angiogenic molecules are VEGF family. Lymphangiogenesis has been explored in recent years. VEGF-C ligand has strong lymphangiogenic effect and this has been shown many times. Lymphangiogenesis has important role in lymphovascular invasion, metastasis to regional lymph nodes and also the development of distant organ metastasis. In this study VEGF-C, which is an essential stimulant in lymphangiogenesis, has been studied in breast cancer and its prognostic and/or predictive value has been compared with known classic prognostic indicators. Two hundred seventeen patient with breast cancer followed by Medical Oncology Unit of Çukurova University Faculty of Medicine have been included in this research. VEGF-C has been evaluated by immunohistochemistry and cytoplasmic staining was considered for this aim. VEGF-C expression was compared with classical prognostic indicators such as tumor stage and grade, axillary lymph node involvement, estrogen and progesteron receptor status, c-erb-B2 expression and lymphovascular invasion. There was not a statistically important association between VEGF-C expression and other prognostic indicators. This result can be explained by the lack of standardization among the methods used to determine VEGF-C expression. Lymphangiogenic effect may not be overt due to the different and nonfunctional VEGFR-3 variants. In addition heterogeneity of breast tumors and our study population and also lack of some parameters in some patients may be a contributing factor in this results. To determine the association between angiogenesis, lymphangiogenesis and prognosis, we need better standart methods to show the angiogenesis and also prospective studies covering larger more homogenous patient population.

Keywords: angiogenesis, breast cancer, lymphangiogenesis, prognosis, VEGF-C

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Anjiyogenez yaşamın her döneminde organizmada saptanabilir bir olaydır. Embriyogenezde ve erişkin insanların üreme sistemlerinde normal fizyolojik koşullarda etkin rol oynamaktadır. Malignensi gelişiminde özel önemi olan anjiyogenez, organizma ya da tümör dokusundaki anjiyojenik moleküller ile anti-anjiyojenik moleküller (endostatin, anjiyostatin v.b.) arasındaki denge sonucunda aktive veya inhibe olmaktadır.

Tümör dokusunda anjiyogenez, invazyon ve metastaz yapma yeteneğinin elde edilmesi için mutlaka gerekli olan bir süreçtir. Tümör hücrelerinin anjiyojenik fenotipe sahip olmaları halinde klinik davranışları değişir ve agresif seyir gösterirler, bölgesel lenf nodları ve uzak organlara metastaz yapma yeteneği kazanırlar. Normalde bir tümör 1-2 mm³ boyutun dışına, anjiyogenez oluşmadan çıkamaz. Çünkü oksijenin difüzyon mesafesi kısadır. Karsinogenezin erken evrelerinde, premalign lezyondan malign forma geçiş, daha sonra invazyon ve metastaz yapabilmek için anjiyogenez zorunlu bir ihtiyaçtır. İnsan vücudunda tanımlanmış çok sayıda anjiyojenik faktör mevcuttur. Bunların içerisinde en önemlisi vasküler endotelial büyüme faktör ailesidir (vascular endothelial growth factor- VEGF). Kanserde üzerinde en çok çalışılan anjiyojenik molekül VEGF'dir. Dört alt tipi saflaştırılmıştır; VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C ve VEGF-D. VEGF-A ligandı kendi reseptörüyle (VEGFR-2) kompleks yaparak güçlü bir anjiyojenik etki oluştururken, VEGF-C ligandı VEGFR-3 ile bağlanmak suretiyle güçlü bir lenfanjiyojenik uyarı meydana getirir.

Lenfanjiyogenez, yakın geçmişten itibaren ayrıntılı olarak incelenmeye başlanmıştır. Özellikle VEGF-C ligandının güçlü lenfanjiyojenik etkiye sahip olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Lenfanjiyogenez, tümörde lenfovasküler invazyon, bölgesel lenf nodlarına metastaz ve uzak organ metastazlarının gelişiminde önemli rol oynayan bir süreçtir. Patogenezi konusunda açıklığa kavuşmamış çok faktör olmasına rağmen, tümörde lenfanjiyogenezin varlığı, kötü bir prognostik faktör olarak kabul edilmektedir.

Meme kanserinde de gerek anjiyogenez gerekse lenfanjiyogenez, oldukça ayrıntılı biçimde incelenmiştir. Bazı değerlendirme farklılıklarına rağmen, genel olarak kabul edilen görüş, intratümöral mikrodamar yoğunluğu (microvessel density-MVD),

lenfantik damar yoğunluğu (lymphatic vessel density), VEGF-A/C ekspresyonunun hastaların prognozuna olumsuz katkıda bulunduğu şeklindedir. Çeşitli klinikopatolojik parametreler (HER-2/neu gen ekspresyonu, lenfovasküler invazyon, hastalıksız ve toplam sağkalım oranları gibi) ile VEGF ailesi arasında bazı çalışmalarda istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar saptanmıştır.

Bu çalışmada, meme kanserinde lenfanjiyogenezin güçlü bir stimülanı olan VEGF-C ile diğer klasik klinikopatolojik prognostik ve/veya prediktif faktörler arasında bir ilişkinin olup olmadığı araştırıldı. Bu amaçla meme kanserinde prognostik ve prediktif değeri kanıtlanmış olan tümör evresi, gradı, aksiller lenf nodu tutulumu, östrojen ve progesteron reseptör durumu, c-erb-B2, lenfovasküler invazyon gibi parametrelerle VEGF-C ilişkisi incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meme Kanseri

2.1.1. Epidemiyoloji

Meme kanseri kadın sağlığını tehdit eden en önemli malign hastalıktır. Amerika Birleşik Devletleri'nde (A.B.D.) kadınlar arasında meme kanseri, kanser ölümlerinde ikinci sıradadır. Bir kadının yaşamı boyunca meme kanserine yakalanma olasılığı %13,1'dir. Yine A.B.D.'nde her yıl 183 000 invaziv meme kanseri teşhis edilmekte ve her yıl yaklaşık 41 000 kadın bu nedenle yaşamını yitirmektedir. Meme kanserinden dolayı ölüm oranları son yıllarda giderek azalmaktadır. Erken tanı yöntemlerinin geniş insan popülasyonlarında etkin bir şekilde uygulanması, ölüm oranlarının düşmesinde en önemli nedendir. Ayrıca sistemik tedavide elde edilen hedefe yönelik tedavi seçeneklerindeki başarılı sonuçlar da bu iyileşmeye katkıda bulunmaktadır⁽¹⁾.

2.1.2. Etiyoloji

Meme kanseri için yaş önemli bir risk faktörüdür. Otuz yaş altında mutad değildir. Yaş ilerledilçe insidansı artar. Örneğin 35-39 yaş grubunda 35-39/100.000 iken 55-59 yaş grubunda 296/100.000'ye yükselmektedir. .

Ailede meme kanseri öyküsü bulunması, uzun yıllardır bilinen bir risk faktörüdür. Bununla beraber meme kanseri tanısı almış çoğu hastada aile öyküsü saptanmamıştır. Gerçek herediter yatkınlık %5-10'dur. Anne ya da kız kardeşinde meme kanseri olması, meme kanseri gelişme riskini 1,5-3 kat artırır. Ailedeki meme kanserli kişinin tanı anındaki yaşının yüksek oluşu, herediter yatkınlık olasılığını azaltır. Ailedeki meme kanserli kadın sayısı arttıkça, yakalanma riski de artmaktadır.

Ailesel meme kanseri sendromlarının başında BRCA1 ve BRCA2 tümör süpresör gen mutasyonları yer alır. Bunlardan herhangi birinde mutasyon olması halinde meme kanseri riski artar. Tümör süpresör gen (TSG) mutasyonu olasılığının yüksek olduğu hastaların özellikleri şunlardır:

- a) 45 yaşından önce tanı almak,
- b) Çok sayıda aile bireyinde meme kanseri olması,

- c) Aile bireylerinde özellikle over ve kolon kanseri gibi başka organ kanserlerinin bulunması.

BRCA1 geni 17. kromozomda yer alır. Mutasyonları otozomal dominant geçiş gösterir. BRCA1 mutant formuna sahip bireylerde hayat boyu meme kanseri gelişme olasılığı %50-85 arasındadır. Hastalık erken yaşta görülür. Kadınlarda meme dışında over kanseri riski artarken, erkekte kolon ve prostat kanseri riski artmaktadır. Genel popülasyonda BRCA1 mutasyonu olasılığı 1/500-1/800 iken BRCA2 mutasyonları daha seyrektiler.

Epidemiyolojik çalışmaların birçoğunda tanımlanmış olan önemli bir başka risk faktörü de meme dokusunun östrojene maruziyet süresidir. Erken menarş, geç menopoza, nulliparite, ilk gebelik yaşının yüksekliği bununla ilişkili risk faktörleridir. Postmenopozal kadınlarda ise hormon replasman tedavisi ve obezite, plazma östradiol düzeyini artırarak meme kanseri gelişme riskini artırmaktadır.

Diyetin meme kanseri olasılığını etkilediğini gösteren çalışmalar vardır. Yağ tüketiminin meme kanseri riskini artırdığı iddia edilmektedir. Genç erişkin ve adolesan dönemde fazla kilo alımı özellikle postmenopozal meme kanseri riskini artırabilir. Fiziksel aktivitenin yetersiz oluşu ve bunun sonucunda vücuttaki yağ depolarının artması da bir diğer risk faktörüdür.

Benign meme hastalıklarından proliferatif olanların, teorik olarak meme kanseri gelişme riskini artırdığı söylenmektedir. Son olarak özellikle 15 yaş ve altında Hodgkin lenfoma nedeniyle "mantle" tipi radyoterapi alınması da meme kanseri riskini artırır^(1,2).

2.1.3. Meme Kanseri Prognostik ve Prediktif Faktörler

Malign tümörlerin hemen hepsinde olduğu gibi meme kanserinde de bazı biyolojik parametreler ile hastaların prognozları hakkında bilgi sahibi olmak mümkündür. Böylece yüksek riskli hastalar daha iyi belirlenir. Hasta ve tümöre ait özellikler çerçevesinde hastaya uygun tedavi seçilir. Ayrıca bu parametreler yardımıyla yeni tedavi alternatifleri üretilmeye çalışılır (Tablo 1).

Prognostik faktörlerin belirlenmesindeki amaçlardan biri, adjuvant sistemik veya lokal tedavinin gerekli olduğu hasta grubunu saptamaktır. Prognoz belirlenmesinin bir başka faydası, konvansiyonel tedavi seçenekleriyle başarı sağlanamayacak hasta grubunu tespit ederek bunlara daha agresif tedavi yaklaşımları uygulanmasına olanak

vermektedir. Prediktif faktörler ise uygulanacak tedaviye alınacak olası yanıt hakkında bilgi vericidir. Örnek olarak, östrojen reseptör durumu, anti-hormonal tedavi için güçlü bir prediktif faktördür.

Tablo 1. Meme kanserinde prognostik ve prediktif faktörler.

Tümöre ait	Hastaya ait	Tedaviye ait
Tümör büyüklüğü	Yaş	Zamanlama
Aksiller nod tutulumu	Menopozal durum	Süre
Histolojik tip	Birlikte olan hastalıklar (Diabetes mellitus, hipertansiyon, kalp yetersizliği v.b.)	Kullanılan ilaçlar
Tümör gradı	Tedavi tercihi	Uygulanan şemalar
Mitotik indeks		Kemoterapinin endokrin etkileri
Lenfovasküler invazyon		Cerrahi tedavi şekli
ER (östrojen reseptörü)		
PgR (progesteron reseptörü)		
Her-2/neu		
p53, bcl-2, BRCA1, BRCA2		

Meme kanserinde en iyi tanımlanmış prognostik faktör, metastazlı aksiller lenf nodu sayısıdır:

- a) Lenf nodu sayısı 1-3 arasında ise N_1 ,
- b) Lenf nodu sayısı 4-9 arasında ise N_2 ,
- c) Lenf nodu sayısı ≥ 10 ise N_3 kabul edilmektedir.

Tümör boyutu bir diğer prognostik faktördür. Tümör çapı ile metastazlı aksiller lenf nodu sayısı arasında genellikle pozitif korelasyon vardır. Tümör çapı kendi başına bağımsız bir prognostik faktördür ayrıca tümörün diferansiyasyon derecesi (grade) genelde klinik pratikte prognostik bir faktör olarak kullanılsa da bu konuda tam bir netlik yoktur. Lenfovasküler invazyon ve nekrozun prognostik önemi tartışmalıdır. Genç yaş ki 35 yaş altı olarak kabul edilir, klinik faktörler arasında güçlü bir negatif prognostik faktördür.

Hormon reseptör durumu (ER, PgR) her ne kadar prognostik öneme sahipse de beş yıldan sonra değeri giderek azalır. Bu nedenle hormon reseptör durumu öncelikle endokrin tedavi için prediktif bir faktördür. ER varlığı adjuvant kemoterapi için zayıf bir prediktördür. Kemik iliğinde mikrometastaz varlığı bağımsız bir prognostik faktör değildir.

Tümör hücrelerinin proliferasyon kapasitesini gösteren parametrelerin meme kanserinde prognostik öneme sahip olduğu öne sürülmektedir. Ancak bu konuda fikir birliği yoktur. Bunun nedeni kullanılan yöntemlerin standardizasyonun henüz tam olarak yerleşmemiş olmasıdır. Bu yüzden klinik pratikte rutin olarak kullanılabilir hale gelememişlerdir. Proliferasyon belirleyicilerinin arasında, mitotik indeks, S-faz fraksiyonu, DNA piloidisi, timidin işaretlenme indeksi, PCNA (proliferating cell nuclear antigen), Ki-67 sayılabilir.

Büyüme faktörleri ve bu moleküllerin reseptörlerinin tayini prognostik öneme sahiptir. HER-2/neu geninin translasyonel ürünü, tirozin kinaz aktivitesine sahip membran proteini olup, prediktif öneme sahiptir. HER-2/neu pozitifliği antrasiklin içermeyen kemoterapi rejimlerine ve tamoksifene genellikle direnç ile birlikte.

Diğer prognostik ve prediktif faktörler arasında mutant p53, nm23, katepsin D ve anjiyogenez belirleyicileri (VEGF) yer almaktadır^(1,3).

2.2. Anjiyogenez

Yeni damar oluşumu olarak ifade edilen anjiyogenez iki aşamalı olarak gerçekleşmektedir, vaskülogenez ve anjiyogenez. Vaskülogenez evresi embriyonik yaşamda hemanjiyoblastlardan kapiller pleksusların oluştuğu dönemdir. Parakrin sinyallerle kontrol edilen bir süreçtir. Vasküler endotelial büyüme faktör reseptörü-1 ve 2 (vascular endothelial growth factor receptor-1/2: VEGFR-1/2) aracılığıyla bu süreç işler. Anjiyogenez evresi ise hem embriyonik dönemde hem de erişkin hayatta, varolan damarlardan yenilerinin oluştuğu evredir. Bu aşama vasküler endotelial büyüme faktörü (vascular endothelial growth factor: VEGF) ligandı ile VEGFR-1/2 kompleksleri ile yönetilir. Erişkinlerde fizyolojik olarak üreme organlarında ve yara iyileşmesi sırasında anjiyogenez aktif olarak gerçekleşir. Anjiyogenez aşamaları şu şekilde sayılabilir:

- a) Bazal membran yıkımı,
- b) Endotel hücre migrasyonu,
- c) Ekstrasellüler matriks invazyonu,
- d) Endotel hücre proliferasyonu,
- e) Kapiller lümen (tüp) formasyonu.

Bu şekilde ortaya çıkan yeni damarların olgunlaşması için bazal membran yeniden yapılanması, intersellüler bileşke formasyonu ve periendotelial destek hücrelerinin ki kapiller damarlarda perisit, büyük damarlarda ise miyositlerin yerleşmesi gerekmektedir. Patolojik anjiyogenezde yukarıda belirtilen fizyolojik formdan farklı olarak, yeni oluşan damarların endotel hücreleri ve bazal membranlarının bütünlüğü iyi değildir. Perisitler bulunmaz. Bu nedenle patolojik yeni damarlarda daha fazla ekstrasvazasyon gözlenir. Ayrıca, patolojik yeni damarlarda kıvrımlanma, kör sonlanma ve arteriyo-venöz şantlara sık rastlanır. Anjiyogenezin ekstrasellüler matriks invazyonu aşamasında matriks metalloproteinaz enzimleri aktif rol oynar. Ayrıca serin proteazlar ve kollajenaz enzimleri de bu evrede etkindir. Bu enzimlerin aktivitelerini artıran temel faktör VEGF-A'dır⁽²⁻⁶⁾.

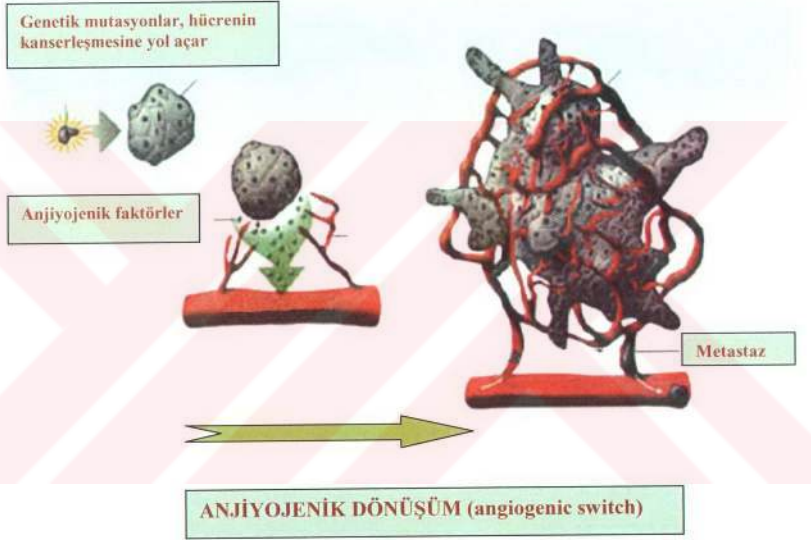
Solid tümörlerin gelişim, invazyon ve metastaz yeteneğine sahip olabilmeleri, anjiyogenez varlığına bağlıdır. Tümör hücresi anjiyojenik fenotipe ulaştığında mikrovasküler gelişim başlar. Endotel büyüme faktörleri bu süreçte rol oynarlar. Bunların arasında en önemlisi VEGF'dir. VEGF normal ve patolojik koşullarda

görülen anjiyogenezde temel indükleyicidir. VEGF 1995’de J. Folkmann tarafından keşfedilmiştir. VEGF sentez ve sekrete eden hücreler, nötrofiller, trombosit ve tümör hücresi ve/veya tümörün stromal hücreleri yani fibroblastlardır. Aminoasit sayılarına göre çeşitli VEGF-A varyantları vardır; 121, 145, 165, 189, 209. Bunların arasında VEGF₁₆₅ baskın olan izoformdur. VEGF ailesinin diğer üyeleri VEGF-B, VEGF-C ve VEGF-D’dir. Yapılan çalışmalarda çeşitli insan tümörlerinde VEGF’nin yoğun olarak üretildiği gösterilmiştir Jinekolojik kanserler, prostat kanseri, kolon kanseri, mesane kanseri, renal hücreli kanser, tiroid kanseri, meme kanseri VEGF için en fazla çalışılan tümörlerdir. Prototip kabul edilen VEGF-A anjiyogenezde önemli rol oynar. VEGF-C ve D kısmen anjiyogenezi indüklerken asıl olarak lenfanjiyogenezi uyarmaktadırlar. VEGF-C ve D bu etkilerini VEGFR-3 (flt-4) üzerinden yapmaktadır. Ayrıca VEGF-C ligandı, VEGFR-2 ile kompleks oluşturduğunda anjiyogenezi de kısmen uyarır⁽⁷⁻⁹⁾.

Tümör hücrelerinin orijin aldıkları bölgede büyümesi ve uzak organlara metastaz yapabilmesi için yeni damar oluşumu şarttır. Deney koşullarında avasküler bir bölgeye implante edilen tümör hücreleri en fazla 1-2 mm’lik çapta kitle oluşturabilir. Çünkü oksijenin difüzyon mesafesi 100-200 mikrondur. Bu yüzden tümör hücresi kapillere daha uzak ise anoksik kalacak ve yaşamını idame ettiremeyecektir. Bu da anjiyogenezin tümörün başlangıç, proliferasyon, invazyon ve metastazında ne kadar önemli bir köşe taşı olduğunu gösteren ciddi bir delildir. Bu hipoteze göre anjiyogenez; karsinogenezin erken evrelerinde başlamaktadır. Meme, serviks ve melanositlere ait premalign lezyonlarda MVD’nin artmış olması bunun önemli bir delilidir. Tümör hücrelerinde ortaya çıkan birtakım genetik değişiklikler sonrası, hücreler anjiyojenik fenotip kazanırlar. Bunun sonucunda tümör hücrelerinden anjiyojenik faktörler (özellikle VEGF ailesi) salınmaya başlar. Anjiyojenik faktörler sadece tümör hücrelerinden salgılanmaz. Ayrıca tümörün stromasındaki fibroblastlar ve tümörü infiltre eden makrofajlar da önemli kaynaklardır. Tümörü infiltre eden makrofajlar (TIM), iki şekilde anjiyojenik faktör üretir:

- a) Tümör ilişkili antijenleri endositoz ile aldığında aktive olur, bu işlevini gerçekleştirir.
- b) Anoksi ve nitrik oksit’e maruziyet. Bu şartlarda yoğun olarak anjiyojenik faktör salgılar.

Tüm bunlardan çıkarılacak sonuç, tümör kaynaklı anjiyojenik faktörler gerekli ancak yeterli değildir. Yapılan çalışmalarda **anjiyojenik geçiş** (angiogenic switch) sürecinin premalign lezyondan in situ karsinoma transformasyon esnasında olduğu şeklindeki görüşler ağır basmaktadır (Şekil 1)^(2-4,10-14).

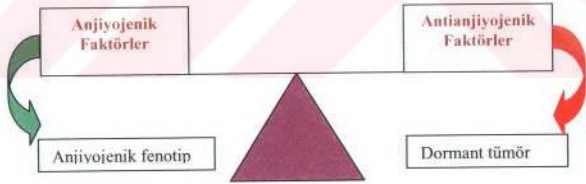


Şekil 1. Anjiyojenik dönüşüm.

Anjiyogenezi tetikleyen en önemli unsur hipoksidir. Hipoksiye maruz kalan tümör hücrelerinden “hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α)” salınımı gerçekleşir. HIF-1 α daha sonra VEGF-A gen ekspresyonunu uyarır ve VEGF-A artar. VEGF-A, önceden var olan endotel hücrelerini mitogeneze zorlar ve migrasyonunu sağlar. Normal şartlarda endotel hücreleri vücudun en sessiz ve stabil hücreleridir. İnkilenme zamanları yüzlerce gün sürer. Oysa bu süreç kemik iliği hücreleri için beş gündür. Ancak anjiyogenez aktif ise endotel hücreleri kemik iliği gibi bölünme kapasitesine sahip olurlar. Vazodilatasyon ve permeabilite artışına yol açar. Değişik proteinazları (kollajenaz, MMP v.b.) aktive ederek ekstrasellüler matriks yıkımına neden olur. Endotel hücrelerinde bcl-2 ekspresyonunu artırarak anti-apoptotik etki gösterir ve endotel hücrelerinin devamlılığını, dış etkenlere direncini artırır. Sonuçta farklı ama yeni küçük damarlar ortaya çıkar. VEGF-A tüm bu etkileri VEGFR-1 ve VEGFR-2 üzerinden gerçekleştirir. Yeni gelişen damarların bütünlüğünün iyi olmaması nedeniyle interstisyel aralığa sıvı ve makromoleküller birlikte sızar. Buna bağlı olarak tümör dokusunda interstisyel sıvı basıncıyla onkotik basınç yükselir. Ayrıca tümör dokularının lenfatik drenajlarının yeterli olmaması da bu duruma katkıda bulunur. Ekstrasellüler matriks jelatinöz hal alır. Bunun sonucunda anti-kanser ilaçların bu bölgelere penetrasyonu güçleşir ve kanser dokusu kendini korumaya almış olur^(2,4,15).

Anjiyogenez sadece tümör hücrelerinin kaynaklandıkları bölgede büyüyerek invazyon yeteneği kazanması için değil aynı zamanda uzak organ metastazı yapabilmesi için de gereklidir. Metastazın başlamasından tamamlanmasına kadar geçen sürede anjiyogenez mutlaka aktif bir süreç olmalıdır. Çünkü, tümör hücrelerinin primer odaktan çıkıp, hedef organa yerleşebilmesi için anjiyogeneze ihtiyaç vardır. Aksi halde sessiz mikrometastaz olarak kalırlar. Gittikleri organda anti-anjiyojenik moleküller etkin ise implantasyon gerçekleşemeyecektir. Özetle, tümörün **anjiyojenik fenotipi** biyolojik davranışının temel belirleyicisidir. Uzun süre klinik olarak sessiz kalan tümörlerde anjiyogenez ve anjiyojenik stimülasyon hafif düzeyde iken, anjiyojenik geçişin hızlı ve yoğun olduğu tümörler kısa zamanda metastatik hastalık olarak kliniğe yansımaktadır. Tümör dokusunda pro-anjiyojenik faktörlerin (özellikle VEGF-A) anti-anjiyojenik faktörlere baskın gelmesi sonucu, klinik olarak sessiz seyreden tümörün agresif davranış özelliği sergilediği gösterilmiştir^(2,4,16).

Anjiyojenik faktörlerin aksine fizyolojik ve patolojik koşullarda salgılanan bazı moleküller anti-anjiyojenik etki göstermektedir. Anti-anjiyojenik faktörler (Tablo 2) olarak adlandırılan bu proteinler gerek normal hücrelerden gerekse tümör hücrelerinden salgılanabilmektedir. Anjiyojenik fenotip, bu iki farklı grup proteinlerin dengesine bağlı olarak belirlenir (Şekil 2). Hangi taraf baskın ise sonucu o belirler. Eğer anjiyojenik faktörler baskın ise tümör anjiyogenez yeteneğine sahip olarak agresif bir davranış sergileyecektir. Tam tersi durumda ise anti-anjiyojenik faktörler egemen olacak ve tümör klinik olarak sessiz ve lokal kalacaktır (cilt, oral mukoza ve serviks tümörlerinde olduğu gibi). İlginç olarak meme, akciğer, kolon v.b. bazı tümörler belirgin ölçüde anti-anjiyojenik faktör salgılayabilmektedir. Bu olgularda primer tümörün lokal tedavi (cerrahi ± radyoterapi) ile vücuttan uzaklaştırılması halinde, kısa süre sonra hastalarda klinik olarak aşikar metastazlar ortaya çıkabilmektedir. Malign melanom gibi bazı tümörlerde ise anti-anjiyojenik protein hiç salgılanmadığı için anjiyojenik faktörler egemendir ve bu hastaların metastaz potansiyelleri çok yüksektir^(2-4,17).



Şekil 2. Anjiyojenik fenotip belirleyicileri.

Anjiyogenezin tümör dokusunda varlığı çeşitli yöntemlerle gösterilebilir. Tümör içi MVD saptamak için öncelikle ışık mikroskopik olarak vaskülarizasyon derecesi belirlenir ve bu amaçla anti-CD31 ekspresyonuna bakılır. Daha sonra endotel hücre belirleyicileri immünohistokimyasal olarak araştırılır. Faktör VIII-R ag, anti-CD31, anti-CD34, anti-CD105, anti-integrin $\alpha_v\beta_3$ antikorları bu amaçla en sık kullanılan monoklonal antikorlardır. Bu belirleyiciler özellikle aktive endotel hücrelerinde pozitif olduğu için anlamlıdır. Dokuda VEGF izomerlerinin immünohistokimyasal yöntemlerle ya da polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve ELISA ile araştırılması da bilgi vericidir^(2,3,8,18).

Tablo 2. Anjiyojenik ve anti-anjiyojenik moleküller.

Anjiyojenik Faktörler	Anti-anjiyojenik Faktörler
VEGF (vascular endothelial growth factor)	<i>Anjiyostatin</i>
aFGF-1 (acidic fibroblast growth factor)	<i>Endostatin</i>
bFGF-2 (basic fibroblast growth factor)	<i>Trombospondin 1</i>
HER-2/neu	<i>İnterferon alfa</i>
TGF-α (Transforming Growth Factor- α)	<i>Troponin I</i>
TGF-β (Transforming Growth Factor- β)	<i>IL-12</i>
PDGF (Platelet Derived Growth Factor)	<i>2 metoksiöstradiol</i>
IGF (Insulin-like Growth Factor)	<i>Anjiyopoietin 2</i>
Anjiyogenin	<i>Retinoik asit</i>
Anjiyopoietin 1	<i>Prolaktin</i>
Leptin	<i>PSA</i> (Prostate specific antigen)
IL-8	<i>Vazostatin</i>
COX-2 (cyclooxygenase-2)	<i>Platelet faktör IV</i>
HGF (Hepatocyte Growth Factor)	<i>Doku metalloproteinaz inhibitörleri</i>
HIF-1α (Hypoxia Inducible Factor-1 α)	
EGF (Epithelial Growth Factor)	

2.2.1. VEGF-A

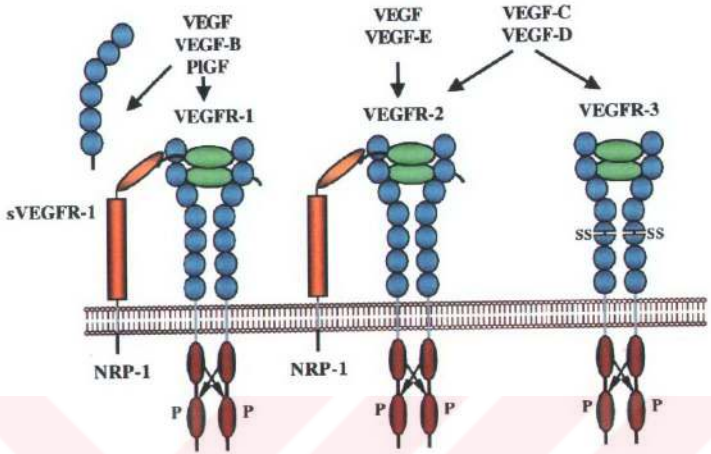
İlk bulunan anjiyojenik faktör bazik fibroblast büyüme faktörü-2 (bFGF-2) olmasına rağmen, 1995 yılında Judah Folkman tarafından VEGF'nin keşfi bu alanda önemli bir dönüm noktası olmuştur. VEGF-A prototip olup, altıncı kromozomda yer alan ve sekiz ekzondan oluşan bir gene sahiptir. Aminoasit sayılarına göre beş varyantı vardır ve VEGF₁₆₅ önde gelen formudur. VEGF için en önemli uyaran hipoksidir. Bunun dışında bazı endojen VEGF aktivatörleri de vardır ki bunlar;

- a) IGF (Insulin-like growth factor),
- b) IL-1 β ,
- c) PGE₂,
- d) EGF (Epithelial growth factor),
- e) KGF (Keratinocyte growth factor),
- f) TGF α/β .

Bu moleküller VEGF-A promotor gen bölgesine bağlanarak gen ekspresyonunu uyarırlar. VEGF-A ligandının bağlandığı iki reseptör mevcuttur;

- a) VEGFR-1,
- b) VEGFR-2 (Şekil 3).

VEGF-A ligandı ile VEGFR-2 kompleksi güçlü anjiyojenik etkiye sahipken, VEGF-A, VEGFR-1 kompleksinin bu etkisi zayıftır. İkinci kompleks daha çok monosit-makrofaj dizininin olgunlaşması üzerine etki eder. Fizyolojik koşullarda gerçekleşen anjiyogenez ve vaskülogenezde asıl rol VEGF-A'ya aittir. VEGF-A endotel hücreleri için “yaşam faktörü”dür. VEGF-A ekstrasellüler matriks yıkımında rol oynayan proteinaz enzimlerin aktivasyonundan da sorumludur. Tüm bu fonksiyonlarını tümör anjiyogenezinde de kullandığı için, anti-anjiyojenik tedavi yaklaşımlarında en önemli hedeflerden biri olmuştur^(2,12,15,19).



Şekil 3. VEGF izoformları ve reseptörleri.

2.2.2. Lenfanjiyogenez ve VEGF-C

İlk bulunan VEGF-A temel olarak VEGFR-2 üzerinden anjiyogenezi uyarırken, daha sonra keşfedilen VEGF-C, VEGFR-3 (flt-4) ile kompleks yaparak lenfanjiyogenezi uyarılmaktadır. VEGF-C, 46 kD ağırlığında olup 419 aminoasitten oluşur. Normal şartlarda kalp, plasenta, kas, over ve ince barsaklarda eksprese olur. VEGF-C geni dördüncü kromozomun uzun kolundadır (4q34). VEGFR-3 embriyonik yaşamda kardiyovasküler sistemin gelişiminde önemli rol oynar. VEGF-C/VEGFR-2 kompleksinin kısmi anjiyojenik etkisi de mevcuttur. Bu özelliği, normal şartlarda lenfatik damardan yoksun fare kornea dokusunda VEGF-C aracılı lenfanjiyogenezin gösterilmesiyle farkedilmiştir. bFGF-2, deneysel çalışmalarda vasküler endotel hücrelerinde ve perivasküler stromal hücrelerden VEGF-C salınımını artırmak suretiyle lenfanjiyogenezi destekleyen bir diğer moleküldür. VEGF-C ligandı için spesifik olan VEGFR-3 sadece lenfatik endotel hücrelerinde bulunur (Şekil 3). Bu özelliği nedeniyle lenfanjiyogenez çalışmalarında kullanılan spesifik bir belirleyici haline gelmiştir. VEGFR-3'e karşı geliştirilen monoklonal antikorlar ile muamele sonrasında

lenfanjiyogenezin inhibe olması, bu reseptörün lenfanjiyogenezde temel düzenleyici olduğunun göstergesidir. VEGF-C kan damarlarına ait endotel hücrelerini uyararak lenfatik yeni damar oluşumunu sağlamaktadır. Buradan anlaşılabacağı gibi, anjiyogenez olmaksızın lenfanjiyogenezin gerçekleşmesi zordur. Buna rağmen halen açıklanamamış birtakım sorular vardır. Lenfanjiyogenezde orijin hangi hücrelerdir? Kan damarlarının endotel hücreleri mi yoksa önceden varolan lenfatik damar endotel hücreleri mi kaynaktır? Konu net değildir ve intratümöral ya da peritümöral lenfatiklerin kaynak olduğunu iddia edenler de vardır^(5,8,10,18,20-22).

Birçok solid tümörde bölgesel lenf nodlarının invazyonu prognoza olumsuz katkıda bulunur ve uzak metastaz habercisidir. Bölgesel lenf nodu tutulumu tedavi stratejilerini etkileyen bir durumdur. Çeşitli tümör tiplerinde yapılan çalışmalarda, VEGF-C ekspresyonu ile lenfatik vasküler invazyon, bölgesel lenf nodu metastazı, uzak metastaz, relapsız sağkalım ve toplam sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler saptanmıştır. Bu özelliği nedeniyle intratümöral VEGF-C ekspresyonu üzerinde çalışılması gereken bir husustur^(6-8,10,23).

Lenfatik damarların endoteli stabil yapıya sahip değildir. İntersellüler bileşkeleri yoktur. Bundan dolayı büyük moleküllerin, hücrelerin, patojenlerin geçişine izin verir. Bazal membranları ya yoktur ya da tam değildir. Tüm bu özellikleri nedeniyle lenfatik damarlar, tümör hücreleri için sistemik dolaşıma katılabilmek adına mükemmel bir yerdır. Tümörün indüklediği lenfanjiyogenez, tümörün yayılması için gereken giriş kapılarının sayısı artırılması olarak nitelenebilir.

VEGF-C, tıpkı VEGF-A gibi, tümör hücrelerinin dışında, tümör stromasındaki fibroblastlar ve tümörü infiltre eden makrofajlardan da salgılanmaktadır. VEGF-C, kimyasal yapı olarak VEGF-A'nın ana yapısından amino ve karboksil gruplarının çıkmasıyla oluşur. İntrasellüler boşlukta gerçekleşen bu süreç sonuçta saf, fonksiyonel VEGF-C üretimiyle sonlanabildiği gib, bazen uygun olmayan tepkimeler nedeniyle, **atipik, nonfonksiyonel bir protein şeklinde de salgılanabilir. Bu ikinci form lenfanjiyogenez üzerine herhangi bir etkiye sahip değildir. Ancak deneysel çalışmalarda kullanılan yöntemlerle VEGF-C 'nin pozitif olarak yorumlanmasına yol açar. Bu yüzden her zaman VEGF-C'nin tümör hücrelerinde yüksek oranda pozitif olması, o tümörün metastaz potansiyelinin de yüksek olduğu anlamına gelmez. Bunun dışında VEGFR-3 homojen bir reseptör değildir. VEGF-C ile**

kompleks yapamayan izoformları da olabilir. VEGFR-3'ün uzun ve kısa olmak üzere iki izoformu vardır. Bu izoformlar VEGF-C ligandı ile birleştğinde farklı sinyal iletiyor olabilir^(10,13,22,24,25).

Lenfanjiyogenez, anjiyogeneze göre daha az bilgi sahibi olunan bir kavramdır. Hala açıklanamayan bazı sorular mevcuttur:

- a) Lenfanjiyogenez anjiyogeneze farklı bir mekanizmayla mı kontrol edilmektedir?
- b) Neden birçok tümörde intratümöral lenfatikler bulunmamakta da bazılarında yoğun olarak dikkati çekmektedir?
- c) İntratümöral lenfatik yokluğu, lenfanjiyogenez süpresyonuna mı bağlı yoksa intratümöral sıvı ve onkotik basıncın yüksekliği nedeniyle basıya ikincil olarak mı görülmektedir?
- d) Anjiyogenez inhibitörleri aynı zamanda lenfanjiyogenezi de inhibe etmekte midir?

Bu sorulara doğru yanıtlar halen bulunamamakla beraber, anjiyostatin ya da endostatin gibi güçlü anti-anjiyojenik maddelerin deneysel ortamlarda lenfanjiyogenezi de inhibe ettikleri gösterilmiştir. Ancak anti-lenfanjiyojenik molekül henüz saflaştırılamamıştır. Açıklanmamış bu kadar soruya rağmen, günümüzde kabul edilen genel görüş, lenfatikten yoksun tümörlerde asıl neden intratümöral basınca bağlı kompresyondan ziyade, belirli tümörlerde lenfanjiyogenez inhibitörlerinin yoğun olarak üretildiği şeklindedir. Buna örnek olarak, lenf nodu metastaz olasılığının bazı yumuşak doku sarkomlarında görülmemesi verilebilir^(12,17).

Tümörde lenfanjiyogenezi laboratuvar ortamında çalışmak zordur. Bunun nedeni, lenfatik endotel hücrelerinin spesifik belirleyicilerinin olmamasıydı. Ancak son zamanlarda VEGFR-3, LYVE-1, CD34 bu amaçla, güvenilir olarak kullanılmaya başlanmıştır. VEGFR-3 ve CD34'ün kan damarlarında da pozitif olması nedeniyle en spesifik belirteç LYVE-1'dir. Bu testler ile lenfatik damar yoğunluğu (lymphatic vessel density – LVD) saptanabilir^(3,8,14,26).

Şu ana kadar çalışılan tüm kanserlerin %50'sinde VEGF-C ekspresyonu artmıştır. Meme ve prostat kanserinde VEGF-C ile lenf nodu metastazı arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Aynı şekilde over kanseri, oral kavite epidermoid

karsinomu, kolorektal kanserler, mide kanseri, mesane kanseri, özefagus kanserinde de aynı bulgular elde edilmiştir^(16,23,25,27-36).

Bu çalışmanın amacı, meme kanserinde VEGF-C ekspresyonunun klinik ve patolojik olarak prognostik ve prediktif önemleri gösterilmiş olan faktörler ile ilişkisini araştırmaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

- a) Hasta Grubu: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda 1994 ile 2003 yılları arasında takip ve tedavi edilen ve Patoloji Anabilim Dalı tarafından histopatolojik olarak meme kanseri tanısı konulan olgulardan klinik ve patolojik verileri elde mevcut olanlardan 217 hasta çalışmaya dahil edildi.
- b) Histolojik fenotip olarak beş hastada in situ karsinom iken 212 hastada invaziv kanser mevcuttu.
- c) Hasta dosyaları ve patoloji kayıtlarından toplanan klinikopatolojik parametreler arasında yaş, tümör tipi, tümör gradı ve boyutu, lenfovasküler invazyon varlığı, aksiller lenf nodu durumu, c-erb-B2, hormon reseptör durumu ve hastalıksız sağkalım süresi yer alıyordu. Olgulara ait biyopsi örnekleri iki patolog tarafından (Dr. Suzan Zorludemir ve Dr. Şeyda Erdoğan) histolojik grad, ER, PgR, c-erb-B2 için yeniden gözden geçirildi.
- d) Hastaların patolojik evrelendirmesi Amerikan Birleşik Kanser Komitesi'nin (American Joint Committee on Cancer Staging System-AJCC-) altıncı baskısında yer alan son evreleme sistemine göre yapıldı⁽³⁷⁾ (Tablo 3).
- e) Menopozal durum, üç farklı evrede ele alındı.
 - En az bir yıldır menstrüel siklüsü olmayan hastalar postmenopozal,
 - Menstrüel siklüs düzensizliklerin başlayıp henüz tamamen ortadan kalkmadığı hastalar perimenopozal,
 - Diğerleri de premenopozal evre olarak kabul edildi.
- f) Hastalıksız sağkalım, baştan metastatik hastalığı olmayan hastalarda, cerrahi tedavinin uygulandığı tarihten ilk nüks hastalığın ortaya çıktığı tarihe kadar geçen süre olarak tanımlandı.
- g) Östrojen ve progesteron reseptör durumu, c-erbB2 ve VEGF-C immünohistokimyasal yöntemlerle belirlendi.
 - ER ve PgR >%10 olan olgular pozitif olarak kabul edildi.
 - c-Erb-B2, gen ürünü olan proteinin membranöz boyanma paternine göre negatif, 1+, 2+ ve 3+ olarak derecelendirildi.

Tablo 3. Meme kanserinde evreleme sistemi (AJCC).

Primer Tümör	
T _x	Değerlendirilemeyen primer tümör
T _o	Primer tümöre ait bulgu yok
T _{is}	İn situ karsinom
T _{is} (DCIS)	Duktal karsinoma in situ
T _{is} (LCIS)	Lobüler karsinoma in situ
T _{is} (Paget)	Meme başının Paget hastalığı (primer başka tümör yok)
T ₁	En büyük çapı ≤ 2 cm tümör
T _{1mic}	En büyük çapı ≤ 0,1 cm tümör
T _{1a}	0,1 cm < Tümör çapı ≤ 0,5 cm
T _{1b}	0,5 cm < Tümör çapı ≤ 1,0 cm
T _{1c}	1 cm < Tümör çapı ≤ 2 cm
T ₂	2 cm < Tümör çapı ≤ 5 cm
T ₃	Tümör çapı > 5 cm
T ₄	Aşağıda belirtilen dokulara direkt yayılımı olan herhangi büyüklükte tümör: A. göğüs duvarı B. cilt
T _{4a}	Pektoralis major kası dışında göğüs duvarına yayılım
T _{4b}	Ödem, "peau d'orange", cilt ülserasyonu, satellit cilt nodülleri
T _{4c}	T _{4a} ve T _{4b}
T _{4d}	İnflamatuvar karsinom
Bölgesel Lenf Nodları	
N _x	Daha önce çıkarıldığı için değerlendirilemeyen nodal tutulum
N ₀	Bölgesel lenf nodu tutulumu yok
N ₁	Hareketli, ipsilateral bölgesel lenf nodu metastazı
N ₂	Komşu dokulara yapışık ipsilateral aksiller lenf nodu metastazı veya aksiller metastaz olmaksızın klinik veya radyolojik olarak (lenfositografi dışında) görülebilen ipsilateral internal mammaryan nodal metastaz
N _{2a}	Komşu dokulara yapışık ipsilateral aksiller lenf nodu metastazı
N _{2b}	Aksiller metastazı olmaksızın klinik veya radyolojik olarak görülebilen ipsilateral internal mammaryan nodal metastaz
N ₃	İpsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı veya klinik ve radyolojik (lenfositografi dışında) olarak görülebilen ipsilateral internal mammaryan lenf nodu metastazı + aksiller lenf nodu metastazı veya supraklaviküler lenf nodu metastazı
N _{3a}	İpsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı + aksiller lenf nodu metastazı
N _{3b}	Klinik ve radyolojik (lenfositografi dışında) olarak görülebilen ipsilateral internal mammaryan lenf nodu metastazı + aksiller lenf nodu metastazı
N _{3c}	Supraklaviküler lenf nodu metastazı

Tablo 3'ün devamı. Meme kanserinde evreleme sistemi (AJCC).

Bölgesel Lenf Nodları (pN)	
pN _x	Değerlendirilemeyen bölgesel lenf nodları
pN ₀	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
pN _{0(i-)}	Bölgesel lenf nodu metastazı yok, İHK(-)*
pN _{0(i+)}	Bölgesel lenf nodu metastazı yok, İHK(+), ancak tümör infiltrasyon alanı ≤ 0,2 mm
pN _{0(mol-)}	Bölgesel lenf nodu metastazı yok, RT-PCR** (-)
pN _{0(mol+)}	Bölgesel lenf nodu metastazı yok, RT-PCR (+)
pN _{1mi}	Mikrometastaz, tümör infiltrasyon alanı > 0,2 mm, ≤ 2,0 mm
pN ₁	1-3 aksiller lenf nodu tutulumu ve/veya klinik veya radyolojik olarak görüntülenemeyen, ancak sentinel biyopside saptanan internal mammaryan lenf nodunda mikrometastaz
pN _{1a}	1-3 aksiller lenf nodu tutulumu
pN _{1b}	Klinik veya radyolojik olarak görüntülenemeyen, ancak sentinel biyopside saptanan internal mammaryan lenf nodunda mikrometastaz
pN _{1c}	1-3 aksiller lenf nodu tutulumu ve klinik veya radyolojik olarak görüntülenemeyen, ancak sentinel biyopside saptanan internal mammaryan lenf nodunda mikrometastaz
pN ₂	4-9 aksiller lenf nodu metastazı veya aksiller tutulum olmaksızın internal mammaryan lenf nodlarında klinik ve radyolojik (lenfosintigrafi dışında) olarak görüntülenebilen tutulum
pN _{2a}	4-9 aksiller lenf nodu metastazı, en küçük tümör infiltrasyon alanı > 2,0 mm
pN _{2b}	Aksiller tutulum olmaksızın internal mammaryan lenf nodlarında klinik ve radyolojik (lenfosintigrafi dışında) olarak görüntülenebilen tutulum
pN ₃	10 veya daha fazla aksiller lenf nodu metastazı veya infraklaviküler lenf nodu metastazı veya klinik ve radyolojik (lenfosintigrafi dışında) olarak belirgin internal mammaryan lenf nodu metastazı + en az 1 aksiller lenf nodu metastazı veya sentinel biyopsi ile tanısı konan mikroskopik internal mammaryan lenf nodu metastazı + 3'den fazla aksiller lenf nodu metastazı
pN _{3a}	10 veya daha fazla aksiller lenf nodu metastazı, en küçük tümör infiltrasyon alanı > 2,0 mm veya infraklaviküler lenf nodu metastazı
pN _{3b}	Klinik ve radyolojik (lenfosintigrafi dışında) olarak belirgin internal mammaryan lenf nodu metastazı + en az 1 aksiller lenf nodu metastazı veya sentinel biyopsi ile tanısı konan mikroskopik internal mammaryan lenf nodu metastazı + 3'den fazla aksiller lenf nodu metastazı
pN _{3c}	Supraklaviküler lenf nodu metastazı
Uzak Metastaz	
M _x	Değerlendirilemeyen uzak metastaz
M ₀	Uzak metastaz yok
M ₁	Uzak metastaz var

Tablo 3'ün devamı. Meme kanserinde evreleme sistemi (AJCC)⁽³⁷⁾.

EVRELER	T	N	M
0	T _{is}	N ₀	M ₀
I	T _{mic}	N ₀	M ₀
	T ₁	N ₀	M ₀
IIA	T ₀	N ₁	M ₀
	T ₁	N ₁	M ₀
	T ₂	N ₀	M ₀
IIB	T ₂	N ₁	M ₀
	T ₃	N ₀	M ₀
IIIA	T ₀	N ₂	M ₀
	T ₁	N ₂	M ₀
	T ₂	N ₂	M ₀
	T ₃	N ₁	M ₀
	T ₃	N ₂	M ₀
IIIB	T ₄	N ₀	M ₀
	T ₄	N ₁	M ₀
	T ₄	N ₂	M ₀
IIIC	T ₁₋₄	N ₀	M ₀
IV	T ₁₋₄	N ₀₋₃	M ₁

*İHK, İmmünohistokimyasal yöntem
 **RT-PCR, "Reverse transcriptase- polymerase chain reaction"
 NOT: 37. kaynaktan alınmıştır.

3.1. İmmünohistokimyasal VEGF-C Boyama Tekniği

İmmünohistokimyasal çalışma için ABC (Avidin Biotin Complex) yöntemi kullanıldı. Yöntem sırasıyla şöyleydi:

a) Deparafinizasyon:

Parafin bloklardan beş mikron kalınlığında alınan kesitler polilizinli özel lamlara alınarak, 60°C'lık etüvde 45 dakika, parafin eriyeinceye kadar tutularak daha sonra ksilol ve alkol serilerinden geçirilmek kaydıyla deparafinize edildi.

b) Fosfat tampon solüsyonunda (Phosphate Buffer Solution-PBS-) beş dakika yıkandı.

Yüzde üçlük "H₂O₂ in methanol"de 30 dakika bekletildi. Tekrar PBS'de yıkandı.

c) EDTA buffer (pH: 8) da, mikrodalgada iki kez beşer dakika "medium (750 W)" konumunda çalıştırıldı.

d) Otuz ile 40 dakika sonra oda ısısına gelince PBS'de beş dakika yıkandı. "A₂-blocking serum" damlatılarak 10 dakika beklenildi.

- c) Doku yıkanmadan, fazla solüsyon dökülerek doku çevresi silindi.
- f) Doku kurumadan 1/50 dilüsyonda hazırlanmış olan anti-VEGF-C antikoru (VEGF-C zymed Rabbit anti-VEGF-C consantre, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) damlatılarak +4°C'de bir gece bekletildi.
- g) Daha sonra PBS'de beş dakika yıkandı.
- h) Doku çevresi silinerek biyotin damlatıldı ve 20 dakika oda ısısında bekletildi.
- i) Sonra beş dakika PBS'de yıkandı.
- j) Doku çevresi silindi ve Avidin damlatılarak 30 dakika oda ısısında muhafaza edildi.
- k) Sonra PBS'de beş dakika yıkandı.
- l) AEC damlatılarak beş ile 20 dakika da mikroskop altında incelenerek boyama alanları kontrol edildi.
- m) Boyanma olduktan sonra dokular çeşme suyunda yıkandı.
- n) Distile sudan geçirilerek Mayer Hematoksilen'de beş dakika zıt boyama yapıldı.
- o) Yine çeşme suyunda beş dakika bekletildi.
- p) Doku çevresi silindi ve gliserin jel ile kapatıldı.

3.2. İmmünoreaktivitenin Değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal yöntemle uygulanan VEGF-C boyanması ışık mikroskopunda değerlendirildi. Tümör hücrelerindeki sitoplazmik boyanma derecesi dikkate alındı:

- a) Bu oran %10'un altında ise negatif,
- b) %10-39 arası 1+,
- c) %40-69 arası 2+,
- d) %70 üstünde ise 3+ olarak kabul edildi.

3.3. İstatistiksel İncelemeler

İstatistiksel analizler SPSS 12 paket programı ile yapılmıştır. Eldeki kategorik verilerin tek değişkenli analizinde Ki-Kare testi kullanılmıştır ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya sekiz erkek (%3,7), 209 kadın (%96,3) meme kanseri dahil edildi.

Hastaların ortalama yaşları $50,05 \pm 11,97$ (aralık 25-85) idi. Hastalara ait demografik ve klinikopatolojik veriler tablo 4’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Menopozal duruma göre:

- a) 108’i (%51,7) premenopozal,
- b) dokuzu (%4,3) perimenopozal ve
- c) 92’si (%44) postmenopozal dönemdeydi.

Hastalar tanılarına göre:

- a) İnvaziv duktal karsinom 180 olgu (%82,9),
- b) İnvaziv lobüler karsinom 22 olgu (%10,1),
- c) İnvaziv duktal ve lobüler (mikst) karsinom sekiz olgu (%3,7)
- d) Duktal karsinoma in situ beş olgu (%2,3)
- e) Medüller karsinom bir olgudan (%0,9) oluşuyordu (Tablo 2).

AJCC TNM klasifikasyonuna göre:

- a) Evre 0 beş hasta (%2,3),
- b) Evre I 25 hasta (%11,5),
- c) Evre IIA 50 hasta (%23),
- d) Evre IIB 47 hasta (%21,7),
- e) Evre IIIA 36 hasta (%16,6),
- f) Evre IIIB 28 hasta (%12,9),
- g) Evre IV 26 hasta (%12) mevcuttu.

Tümör gradı 186 hastada değerlendirilebildi. Buna göre:

- a) Beş hasta (%2,7) grad 1,
- b) 131 hasta (%70,4) grad 2,
- c) 50 hasta (%26,9) grad 3 meme kanseri olarak kabul edildi.

Östrojen reseptörü 210 hastada belirlendi:

- a) 110 hastada (%52,4) ER (+),
- b) 100 hastada (%47,6) ise (-) bulundu.

Progesteron reseptörü 56 hastada değerlendirildi:

- a) 29 hastada (%51,8) PgR (-),
- b) 27 hastada (+) idi.

c-erb-B2 123 hastada değerlendirildi:

- a) 49 hastada (%39,8) negatif,
- b) 28 hastada (%22,8) 1+,
- c) 21 hastada (%17,1) 2+,
- d) 25 hastada (%20,3) 3+ saptandı.

Lenfovasküler invazyon 204 hastada değerlendirildi ve 129 hastada (%63,4) negatif, 75 (%36,6) hastada ise pozitif bulundu.

Tanı anında non-metastatik olan 191 hastanın 146'sında (%76,43) rekürrens saptanmazken, 45 hastada (%23,57) rekürrent hastalık ortaya çıktı.

VEGF-C 217 hastada değerlendirildi:

- a) 37 hastada (%17,1) negatif (Şekil 4),
- b) 180 hastada (82,9) pozitif bulundu.

Pozitif bulunan hastalar arasında:

- a) 28 kişide (%12,9) 1+ (Şekil 5),
- b) 93 kişide (%42,9) 2+ (Şekil 6),
- c) 59 kişide de (%27,2) 3+ (Şekil 7) tespit edildi.

Şekil 4, 5 ve 6'da sırasıyla, 1, 2 ve 3+ VEGF-C pozitifliği görülmektedir.

VEGF-C düzeyleri, klinikopatolojik parametrelerle (grad, yaş, tümör çapı, menopoz statusu, lenf nodu tutulumu, lenfovasküler invazyon, metastaz, ER, PgR, c-erbB2, lenf nodu kapsül invazyonu ve hastaliksız sağkalım) karşılaştırıldığında, hiçbir parametre ile arasında istatistiksel anlam ifade eden bir ilişki saptanamadı (Tablo 5).

Tablo 4. Hastaların klinik ve patolojik özellikleri.

Parametre		Hasta sayısı	(%)
Cins	Kadın	209	96,3
	Erkek	8	3,7
Tanı	IDC	180	82,9
	ILC	22	10,1
	IDC+ILC	8	3,7
	DCIS	5	2,3
	Medüller Ca.	1	0,9
Evre	0	5	2,3
	I	25	11,5
	IIA	50	23
	IIB	47	21,7
	IIIA	36	16,6
	IIIB	28	12,9
	IV	26	12
Grad	1	5	2,7
	2	131	70,4
	3	50	26,9
ER	(+)	100	47,6
	(-)	110	52,4
PgR	(+)	27	48,2
	(-)	29	51,8
c-erbB2	(-)	49	39,8
	1+	28	22,8
	2+	21	17,1
	3+	25	20,3
Menopozal durum	Premenopozal	108	51,7
	Perimenopozal	9	4,3
	Postmenopozal	92	44
Lenfovasküler inv.	(+)	75	36,6
	(-)	129	63,4
Rekürren hastalık	(+)	45	23,6
	(-)	146	76,4

Tablo 5. VEGF-C'nin klinik ve patolojik parametrelerle ilişkisi.

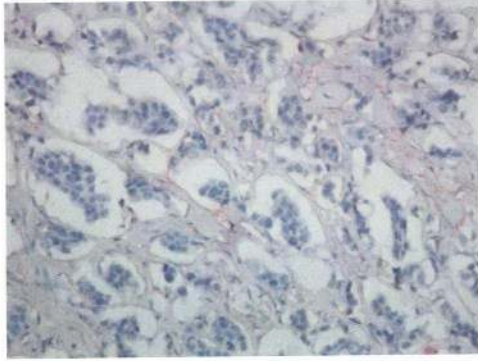
VEGF-C Ekspresyonu-n (%)					
Parametre (n)	Negatif	1(+)	2(+)	3(+)	P-Değeri
Cins					
Erkek (8)	1 (12,5)	2 (25)	5 (62,5)	0	0,311
Kadın (209)	36 (17,2)	26 (12,4)	88 (42,1)	59 (28,2)	
Menopozal status					
Premenopozal (108)	19 (17,6)	12 (11,1)	44 (40,7)	33 (30,6)	0,663
Perimenopozal (9)	1 (11,1)	2 (22,2)	5 (55,6)	1 (11,1)	
Postmenopozal (92)	16 (17,4)	12 (13)	39 (42,4)	25 (27,2)	
Hastaliksız sağkalım					
Tümör çapı					
T _{is} (13)	1 (7,7)	4 (30,8)	4 (30,8)	4 (30,8)	0,460
T ₁ (45)	11 (24,4)	8 (17,8)	16 (35,6)	10 (22,2)	
T ₂ (96)	15 (15,6)	7 (7,3)	45 (46,9)	29 (30,2)	
T ₃ (39)	7 (17,9)	6 (15,4)	16 (41)	10 (25,6)	
T ₄ (13)	3 (23,1)	2 (15,4)	6 (46,2)	2 (15,4)	
Lenf nodu tutulumu					
N ₀ (82)	10 (12,2)	16 (19,5)	36 (43,9)	20 (24,4)	0,515
N ₁ (60)	13 (21,7)	5 (8,3)	23 (38,3)	19 (31,7)	
N ₂ (34)	9 (26,5)	3 (8,8)	14 (41,2)	8 (23,5)	
N ₃ (24)	2 (8,3)	3 (12,5)	12 (50)	7 (29,2)	

Tablo 5'in devamı. VEGF-C'nin klinik ve patolojik parametrelerle ilişkisi.

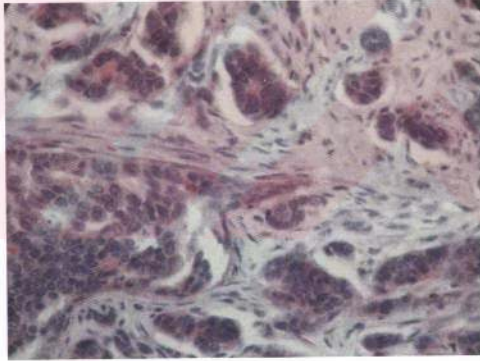
Parametre (n)	VEGF-C Ekspresyonu-n (%)				P-Değeri
	Negatif	1(+)	2(+)	3(+)	
Metastaz varlığı					
M ₀ (191)	31 (16,2)	26 (13,6)	83 (43,5)	51 (26,7)	0,677
M ₁ (26)	6 (23,1)	2 (7,7)	10 (38,5)	8 (30,8)	
Evre					
0 (5)	-	2 (40)	1 (20)	2 (40)	0,807
I (25)	4 (16)	6 (24)	11 (44)	4 (16)	
IIA (50)	9 (18)	6 (2)	20 (40)	15 (30)	
IIB (47)	6 (12,8)	6 (12,8)	21 (44,7)	14 (29,8)	
IIIA (36)	7 (19,4)	2 (5,6)	17 (47,2)	10 (27,8)	
IIIB (28)	5 (17,9)	4 (14,3)	13 (46,4)	6 (21,4)	
IV (26)	6 (23,1)	2 (7,7)	10 (38,5)	8 (30,8)	
Grad					
1 (5)	-	1 (20)	1 (20)	3 (60)	0,387
2 (131)	18 (13,7)	15 (11,5)	64 (48,9)	34 (26)	
3 (50)	12 (24)	7 (14)	18 (36)	13 (26)	
Östrojen reseptör durumu					
Negatif (110)	25 (22,7)	13 (11,8)	45 (40,9)	27 (24,5)	0,177
Pozitif (100)	12 (12)	15 (15)	45 (45)	28 (28)	

Tablo 5'in devamı. VEGF-C'nin klinik ve patolojik parametrelerle ilişkisi.

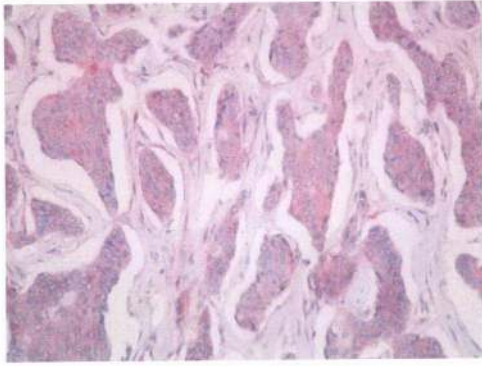
Parametre (n)	Negatif	VEGF-C Ekspresyonu-n (%)			P-Değeri
		1(+)	2(+)	3(+)	
Progesteron reseptör durumu					
Negatif (29)	4 (13,8)	3 (10,3)	14 (48,3)	8 (27,6)	0,815
Pozitif (27)	3 (11,1)	2 (7,4)	13 (48,1)	9 (33,3)	
c-erb-B2					
Negatif (49)	10 (20,4)	3 (6,1)	21 (42,9)	15 (30,6)	0,341
1+ (28)	1 (3,6)	4 (14,3)	15 (53,6)	8 (28,6)	
2+ (21)	3 (14,3)	1 (4,8)	10 (47,6)	7 (33,3)	
3+ (25)	2 (8)	5 (20)	10 (40)	8 (32)	
Lenfovasküler invazyon					
Negatif (129)	16 (12,4)	19 (14,7)	61 (47,3)	33 (25,6)	0,230
Pozitif (75)	19 (25,3)	9 (12)	24 (32)	23 (30,7)	
Lenf nodu kapsül invazyonu					
Negatif (48)	9 (18,8)	6 (12,5)	19 (39,6)	14 (29,2)	0,574
Pozitif (71)	15 (21,1)	5 (7)	32 (45,1)	19 (26,8)	



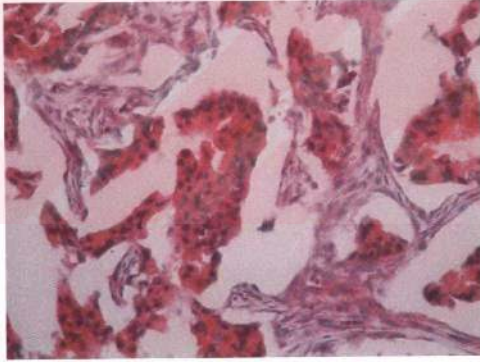
Şekil 4. VEGF-C ekspresyonu negatif (x 200 büyütme)



Şekil 5. VEGF-C ekspresyonu 1(+) (x 200 büyütme)



Şekil 6. VEGF-C ekspresyonu 2(+) (x 200 büyütme)



Şekil 7. VEGF-C ekspresyonu 3(+) (x 200 büyütme)

5. TARTIŞMA

Tümör hücresi, kaynaklandığı dokuda büyüme, sonra invazyon ve metastaz yeteneği kazanabilmek için anjiyogeneze ihtiyaç duyar. Karsinogenezin erken evrelerinde tümör hücreleri anjiyojenik fenotip kazanırsa, progresyon ve metastaz görülebilir. Aksi halde tümör konakçıda varlığını sessizce sürdürecektir. Anjiyojenik geçiş süreci, tümörün biyolojik davranışını belirleyen ve tümör oluşumunun başlangıcında kilit rol üstlenen bir dönüm noktasıdır. Çeşitli mutajenik etkiler sonrası ortaya çıkan c-myc, ras, p53 v.b. bazı genetik değişiklikler bu süreçte rol oynar. Sonuçta anjiyojenik fenotip kazanan neoplastik hücre gelişimini daha rahat ve kontrolsüz olarak sürdürür. Tümör hücresi en sonunda uzak organlara metastaz yaparak konakçının yaşamını tehdit etmeye başlar^(3,4,12,38).

Anjiyogeneze, gerek tümör hücrelerinden gerekse konakçı hücrelerden salgılanan anjiyojenik faktörler tarafından (VEGF-A, bFGF-2 v.b.) regüle edilir. Vücutta buna karşıt olarak endojen anti-anjiyojenik faktörler de mevcuttur. Bazı tümör hücrelerinin kendileri de anti-anjiyojenik protein üretebilir. Karsinogenezin önemli yardımcı ve destekleyicisi olan anjiyogeneze bu iki zıt etkiye sahip proteinler arasındaki net dengeye bağlı olarak gerçekleşir ya da gerçekleşemez⁽²⁾.

Tümör hücreleri, yeni oluşan kan damarları sayesinde, yaşamlarını sürdürmeleri için gereken büyüme faktörleri ve besinlere sahip olurlar. Bunun dışında, tümör içerisinde ya da peritümöral bölgede yeni lenfatik damar gelişimini de indükleyebilmektedirler. Lenfanjiyogeneze olarak adlandırılan bu süreç, anjiyogeneze göre daha az bilinen bir konudur. Anjiyogeneze olduğu gibi, lenfanjiyogenezi uyaran ve tümör ve/veya konakçıdan kaynaklanan lenfanjiyojenik moleküller (VEGF-C) vardır. VEGF-C bugüne kadar gösterilen en önemli ve en güçlü lenfanjiyojenik proteindir. VEGFR-3 ile kompleks oluşturarak intratümöral ya da peritümöral yeni lenfatik damarların oluşmasını sağlar. Oluşan yeni lenfatiklerin endotel hücreleri arasında geniş fenestrasyonlar olmakla beraber, genellikle bazal membrandan da yoksundurlar. Bu özellik lenfatik damar içine ya da damar içinden dışarıya kolayca makromoleküllerin ve hücrelerin geçişine olanak sağlar. Bu özelliği kendi lehine en iyi kullanan ne yazık ki tümör hücresidir. Yeni oluşan lenfatikler tümör hücrelerinin lenfo-

hematojen yayılım ile uzak organlara metastazını başlatması bakımından oldukça önemli bir rol üstlenir.

Bilindiği gibi, solid tümörlerde bölgesel lenf nodlarına metastaz, hastalığın prognozunu, beklenen yaşam süresini olumsuz etkiler. Hem anjiyogenez hem de lenfanjiyogenez, tümörlerin lokal hastalık olmaktan çıkıp, sistemik hale gelebilmeleri için gerekli olan iki temel unsurdur. Bu nedenle tümörlerde bu iki sürecin kantitatif ölçümünün, hastalıkların prognozunun belirlenmesi adına önemli bilgiler vereceği düşünülmektedir. Ayrıca anti-anjiyojenik ve anti-lenfanjiyojenik moleküllerin identifikasyonu ve onların bu süreçlerdeki etkinliğinin değerlendirilmesi, daha sonra yeni hedef tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine ışık tutacaktır. Nitekim bu tür yaklaşımlar deneysel platformdan klinik uygulama düzeyine ulaşmış, faz I/II hatta faz III çalışmalarda umut veren sonuçlar alınmaya başlanmıştır.

Literatürde anjiyogenez ve lenfanjiyogenezin klinik öneminin ortaya net koyulması adına yapılmış olan çok sayıda çalışma vardır. Ancak elde edilen sonuçlar heterojendir. Benzer çalışma düzenine sahip farklı çalışmalarda birbirinin tamamen tersi sonuçlar bildirilmektedir. Bunun altında yatan en önemli neden, metodolojinin standardize edilememesidir. Anjiyogenez ya da lenfanjiyogenez için çok spesifik belirleyicilerin olmayışı, anjiyojenik/lenfanjiyojenik proteinlerin posttranslasyonel olgunlaşma evresindeki değişiklikler sonucu, uyarıcı etkilerinde heterojenitenin ortaya çıkması altta yatan esas neden olabilir. VEGF-C'nin güçlü lenfanjiyojenik etkisinin VEGFR-3 üzerinden gerçekleştiğinin bilinmesine rağmen, bazı çalışmalar göstermiştir ki, uzun ve kısa olmak üzere iki farklı VEGFR-3 izoformu vardır. Birinin lenfanjiyogenezi uyarmadığı düşünülmektedir. Anjiyojenik/lenfanjiyojenik proteinlerin (VEGF-A, VEGF-C v.b.) ve bunların reseptörlerinin (VEGFR-2, VEGFR-3, sırasıyla) kantitasyonu için ELISA, PCR ve immünohistokimya v.b. değişik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin standardizasyonu sağlanmadığı için, farklı klinik çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmektedir^(10,13,22,24,25).

Laboratuvar yöntemlerinin tam olgulaşmaması, endojen moleküllerdeki değişiklikler nedeniyle beklenilenden farklı sonuçlar alınabileceği düşünülse de, yapılmış olan birçok çalışmada anjiyogenez ve lenfanjiyogenezin kötü prognostik faktörler olduğu gösterilmiştir (Tablo 6). Özellikle lenfanjiyogenezin güçlü uyarıcı olan VEGF-C ile ilgili yapılan çalışmalardan bazılarında, tümör hücresinin

sitoplazmasındaki VEGF-C düzeyi, lenfovasküler invazyon, bölgesel lenf nodu ve uzak organ metastazlarıyla pozitif korelasyon gösterirken, hastalıksız ve toplam sağkalım ile negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Meme kanserli hastalarda yapılan VEGF-C çalışmalarının yaklaşık üçte birinde hiçbir klinikopatolojik parametre ile ilişki saptanmamıştır (Tablo 6). Bunun dışında, korelasyon olduğu saptanan parametrelerin içinde en sık hastalıksız ve toplam sağkalım dikkati çekmektedir. Yaş, evre, tümör çapı ve gradı, hormon reseptör durumu, lenf nodu metastazlarının varlığı ile çoğu zaman ilişki bulunamamıştır. Manders ve ark. yaptığı 574 lenf nodu negatif meme kanserli hastayı içeren çalışmada VEGF-A, yaş ve tümör boyutuyla pozitif korelasyon gösterirken, hastalıksız ve toplam sağkalım arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir⁽⁷⁾. Hoar ve ark. 51 meme kanseri olgusunda VEGF-C ile HER-2/neu arasında ciddi pozitif korelasyon bulmuştur. Aynı çalışmada HER-2/neu dışında hiçbir parametre ile ilişki saptanmamıştır. Burada HER-2/neu geninin, VEGF-C gen ekspresyonunu artırdığı şeklinde bir sonuca varılmıştır⁽¹⁶⁾. Benzer sonuçlar Yang ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Bu çalışmada VEGF-C ve VEGF-A ile HER-2/neu arasında pozitif, hastalıksız sağkalım arasında negatif korelasyon dikkati çekmiştir⁽¹¹⁾. Çalışmalardan çıkan sonuç, HER-2/neu anjiyogenezi ve lenfanjiyogenezi regüle eden önemli bir genidir. Diğerlerine benzer şekilde bu çalışmada da VEGF ailesi ile diğer klinikopatolojik parametrelerin hiçbirisi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Kinoshita ve ark. 98 meme kanserli hastada VEGF-C ile lenfovasküler invazyon arasında pozitif, hastalıksız sağkalım arasında negatif korelasyon bulmuşlardır. Bu iki parametre dışında geride kalan, tümör çapı, diferansiyasyon derecesi, aksiller lenf nodu tutulumu, hormon reseptör durumu ile bir korelasyon gösterilememiştir. Bu çalışmada lenfovasküler invazyon ile VEGF-C arasında ilişki olmasına rağmen, araştırmacılar, lenf nodu statusu ile bir ilişkinin olmamasını açıklayamamıştır⁽²⁰⁾.

Gunningham ve ark. 11 kontrol ve 61 invaziv meme kanserinden oluşan çalışma gruplarında VEGF-C ile hiçbir kliniko-patolojik parametre arasında korelasyon gösterememişlerdir. Çalışmacılar bu sonucu, VEGFR-3 izoformlarının arasında lenfanjiyojenik potansiyel bakımından farklılıklar olabileceğini iddia ederek yorumlamışlardır⁽²²⁾.

Nakamura ve ark. 123 invaziv meme kanserinde VEGF-C ekspresyonunu incelediklerinde, VEGF-C ile lenf nodu metastazı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu

göstermişlerdir. Uzun süreli sağkalım üzerinde prognostik öneme sahip olduğunu iddia etmektedirler⁽³⁹⁾.

Williams ve ark. 75 invaziv duktal ve lobüler metastatik meme kanserinde lenfanjiyogenezi incelemişler ve tümör dokusunda yeni lenfatik damar oluşumuna rastlamamışlardır. Araştırmacıların yorumu, yeni lenfatik damarların oluşumundan ziyade daha önceden varolan peritümöral lenfatiklerin invazyonunun, tümör hücrelerinin metastaz potansiyelini belirlediği şeklindedir⁽⁴⁰⁾.

Gasparini ve ark. 260 lenf nodu negatif meme kanserli hastada VEGF ile hastalıksız ve toplam sağkalım arasında negatif korelasyon göstermiştir⁽⁴¹⁾. Aynı sonuçlar Linderholm ve ark.'nın 224 meme kanserli hasta grubunda yapmış olduğu çalışmada da rapor edilmiştir⁽³⁷⁾. Bu son çalışmadaki hasta grubunda özellikle mutant p53 pozitifliği olan olgularda VEGF ekspresyonunun daha yoğun olduğu dikkati çekmiştir. VEGF ile p53 mutasyonunun birlikte gösterilmesinin daha güçlü prognostik değeri olacağı şeklinde yorum yapılmıştır. Yine Linderholm ve ark.'nın yapmış olduğu bir başka çalışmada 362 lenf nodu pozitif meme kanserli hastada VEGF ile metastatik hastalık arasında pozitif, hastalıksız ve toplam sağkalım arasında negatif ilişki bulunmuştur⁽⁴²⁾.

Adams ve ark. meme kanserli hastalarda serumda VEGF düzeyini incelemişler ancak bu protein ile diğer prognostik faktörler arasında hiçbir korelasyon gösterilememiştir⁽⁴³⁾.

Meme kanseri dışında, mide, akciğer, prostat, kolon ve rektum, baş ve boyun bölgesi tümörleriyle epitelyal over kanserlerinde VEGF-A/VEGF-C araştırılmıştır. Bu tümörlerde, meme kanserine göre daha belirgin olan, lenf nodu metastazları ile VEGF-C arasında anlamlı ilişkinin gösterilmesidir. Ayrıca meme kanserinde olduğu gibi, VEGF-A/VEGF-C ile hastalıksız ve toplam sağkalım arasında negatif korelasyonlar tespit edilmiştir^(9,18,23,28,29,31-33,44-47) (Tablo 6).

Tablo 6. VEGF ailesi ile ilgili klinik çalışma sonuçları.

Referanslar ^(x)	Anjiyojenik faktör	Yöntem	Hasta sayısı	Tanı	Sonuç
Manders ve ark., 2002 ⁽⁷⁾	VEGF	ELISA*	574	Meme kanseri	Hastalıklı ve toplam sağkalım ile (-) korelasyon var. Diğer parametreler ile ilişkisi yok.
Molica ve ark., 2002 ⁽⁹⁾	VEGF	ELISA	81	KLL	Hastalıklı sağkalım ile (-) korelasyon Mevcut
Yokoyama ve ark., 2003 ⁽²³⁾ korelasyon	VEGF-D	İHK**	59	Over	Lenf nodu ve periton metastazıyla (+) var. Hastalıklı ve toplam sağkalım ile (-) korelasyon var.
Hoar ve ark., 2003 ⁽¹⁶⁾	VEGF-C	İHK	51	Meme Kanseri	Sadece HER-2/neu ile (+) korelasyon var.
Kinoshita ve ark., 2001 ⁽²⁰⁾	VEGF-C	İHK	98	Meme kanseri	Hastalıklı sağkalım ile (-), lenfovasküler invazyon ile (+) korelasyon var.
Kishimoto ve ark., 2003 ⁽²⁸⁾	VEGF-C	İHK	62	Oral SCC†	Lenf nodu metastazıyla (+) korelasyon var.
Beasley ve ark., 2002 ⁽¹⁸⁾	LYVE-1 CD34 pKi67	İHK	70	Baş-boyun kanserleri	Lenf nodu metastazıyla (+) korelasyon var.

Tablo 6'nın devamı. VEGF ailesi ile ilgili yapılmış olan klinik çalışma sonuçları.

Referanslar ^(x)	Anjiyojenik faktör	Yöntem	Hasta sayısı	Tanı	Sonuç
Gunningham ve ark., 2000 ⁽²²⁾	VEGF-C Flt-4	İHK	61	Meme kanseri	Hiçbir şeyle ilişkisi yok.
Akagi ve ark., 2000 ⁽³¹⁾	VEGF-C	RT-PCR***	99	Kolorektal kanserler	Lenf nodu metastazıyla (+) korelasyon var İnvazyon derinliği ile de (+) korelasyon var
Yonemura ve ark., 2001 ⁽³²⁾	VEGF-C VEGFR-3	RT-PCR İHK	85	Mide kanseri	Lenfatik damar yoğunluğu ile (+) korelasyon var
Ichikura ve ark., 2001 ⁽³³⁾	VEGF VEGF-C	İHK	76	Mide kanseri	Toplam sağkalım ile (-) korelasyon var
De Paola ve ark., 2002 ⁽⁴⁴⁾	VEGF MVD	İHK	242	Meme kanseri	Hiçbir şeyle ilişkisi yok.
Kabashima ve ark., 2001 ⁽⁴⁵⁾	VEGF VEGF-C	İHK	105	Mide kanseri	Lenfovasküler invazyon ile (+) korelasyon var.
Furudoi ve ark., 2002 ⁽²⁹⁾	VEGF-C	İHK	152	Kolorektal kanserler	Lenf nodu metastazıyla (+) korelasyon var Toplam sağkalım ile (-) korelasyon var.
Yang ve ark., 2002 ⁽¹¹⁾	VEGF-A VEGF-C VEGF-D	İHK	107	Meme kanseri	Hastalıklı sağkalım ile (-), HER-2/neu ile (+) korelasyon var.

Tablo 6'nın devamı. VEGF ailesi ile ilgili yapılmış olan klinik çalışma sonuçları.

Referanslar ⁽³⁾	Anjiyojenik faktör	Yöntem	Hasta sayısı	Tanı	Sonuç
Linderholm ve ark., 2001 ⁽³⁸⁾	VEGF p53	İHK LIA§	224	Meme kanseri	Hastalıklı ve toplam sağkalım ile (-) korelasyon var. Mutant p53 varlığı ile (+) korelasyon var.
Linderholm ve ark., 2000 ⁽⁴²⁾	VEGF	ELISA	362	Meme kanseri	Hastalıklı ve toplam sağkalım ile (-) korelasyon var. Metastaz varlığı ile (+) korelasyon var.
Yonemura ve ark., 1999 ⁽⁴⁶⁾	VEGF-C Flt-4	RT-PCR İHK	32	Mide kanseri	Lenf nodu metastazi, lenfovasküler invazyon ile (+), toplam sağkalım ile (-) korelasyon var.
Kajita ve ark., 2001 ⁽⁴⁷⁾	VEGF-C VEGFR-3	İHK	62	KHDAK†	Lenf nodu metastazi, lenfovasküler invazyon ile (+), toplam sağkalım ile (-) korelasyon var.
Gasparini ve ark., 1997 ⁽⁴¹⁾	VEGF	ELISA	260	Meme kanseri	Hastalıklı ve toplam sağkalım ile (-) korelasyon var.

KISALTMALAR

*ELISA, Enzyme linked immunosorbent assay; **İHK, İmmünohistokimyasal yöntem; ***RT-PCR, Reverse transcriptase – polymerase chain reaction; †SCC, Squamous cell carcinoma; ‡KHDAK, Küçük hücreli dışı akciğer kanseri; §LIA, Luminometric immunoassay

Bizim Çalışmamızda toplam 217 meme kanseri olgusunda tümör dokusunda VEGF-C ekspresyonuna immünohistokimyasal yöntem ile bakıldı. Olguların %17,1'inde VEGF-C negatif iken, %82,9'unda değişik derecelerde pozitiflik saptandı (1+ %12,9, 2+ %42,9, 3+ %27,2). Ancak yapılan istatistiksel analizlerde VEGF-C ile hiçbir klinikopatolojik parametre (yaş, tümör çapı ve gradı, cins, evre, lenf nodu tutulumu, lenfovasküler invazyon, hormon reseptör durumu, menopozal status, c-erbB2 ve hastalıksız sağkalım) arasında korelasyon saptanmadı. Yukarda belirtilen literatür verilerinde de dikkati çektiği gibi, her zaman böyle bir ilişkinin varlığı gösterilememektedir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi, VEGF ailesi ile prognostik ve prediktif faktörler arasında korelasyon gösterilemeyen çalışmalar da mevcuttur (Tablo 5). Çalışmaya dahil ettiğimiz olgu sayısı her ne kadar yeterli gibi görünse de, olguların dağılımındaki heterojenite, bazı hastalarda birtakım histopatolojik verilerin elde edilememiş olmasının da sonuçlarımızı etkilemiş olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak çok sayıda araştırmaya rağmen, henüz anjiyogeneze ve lenfanjiyogeneze çalışmalarının metodolojik olarak standardize edilememiş olması ve bu her iki sürecin nasıl ve ne zaman gerçekleştiği konusunda net bilgilerin olmaması, çalıştığımız anjiyojenik/lenfanjiyojenik proteinler hakkında kısıtlı bilgiye sahip oluşumuz, bu şekilde heterojen sonuçlar alınmasına neden olmaktadır. Bu konuda daha geniş ve homojen hasta gruplarında standart ve uygun metodoloji ile yapılacak prospektif klinik çalışmalara gereksinim vardır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada yaşları 25 ile 85 arasında değişen 217 meme kanseri olgusunda immünohistokimyasal yöntem ile VEGF-C incelendi. Amacımız, lenfanjiyogenez belirleyicilerinden biri olan VEGF-C'nin, meme kanserinde bilinen prognostik ve prediktif faktörler ile herhangi bir ilişkisinin olup olmadığını araştırmak idi. Otuz yedi olguda (%17,1) VEGF-C negatif bulunmuşken, 180 olguda (%82,9) VEGF-C pozitif saptandı. Pozitif olguların içinde 28 (%12,9) kişi 1+, 93 (%42,9) kişi 2+, 59 (%27,2) kişi 3+ olarak değerlendirildi. Hastaların ortalama yaşı $50,05 \pm 11,97$ (25-85) idi. Menopozal durumlarına göre 108 (%51,7) hasta premenopozal, dokuz (%4,3) hasta perimenopozal ve 92 (%44) hasta postmenopozal dönemdaydi. AJCC TNM sınıflandırma sistemine göre beş (%2,3) hasta evre 0, 25 (%11,5) hasta evre I, 50 (%23) hasta evre IIA, 47 (%21,7) hasta evre IIB, 36 (%16,6) hasta evre IIIA, 28 (%12,9) hasta evre IIIB ve 26 (%12) hasta evre IV idi. Östrojen reseptörü 210 hastada değerlendirildi; 110 (%52,4) hastada pozitif, 100 (%47,6) hastada ise negatifti. Progesteron reseptörü 56 hastada değerlendirildi; 29 (%51,8) hastada negatif, 27 (%48,2) hastada pozitif bulundu. C-erb-B2 123 hastada incelendi; 49 (%39,8) hastada negatif, 28 (%22,8) hastada 1+, 21 (%17,1) hastada 2+, 25 (%20,3) hastada ise 3+ saptandı.

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda VEGF-C ile cins, yaş, menopozal durum, tümör gradı, lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı, lenf nodu kapsül invazyonu, östrojen ve progesteron reseptör durumu, c-erb-B2 ekspresyonu ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlam ifade eden bir ilişki saptanmadı.

Bu durum birkaç şekilde açıklanabilir:

- a) VEGF-C ekspresyonunu saptamaya yönelik metodlar arasında bir standardizasyon sağlanamamıştır.
- b) VEGF-C ligandının lenfanjiyogenik etkisi, farklı ve nonfonksiyonel VEGFR-3 varyantları olması nedeniyle, her zaman belirgin olmayabilir.
- c) Çalışmaya dahil ettiğimiz hasta grubunun kendi içinde oldukça heterojen olması, her gruba düşen olgu sayısının azlığına neden olmuştur. Bu durum elde edilen sonuçların istatistiksel bir anlam ifade etmesine engel teşkil etmiş olabilir.

Anjiyogenez/lenfanjiyogenez ve prognoz arasındaki ilişkiyi daha iyi gösterebilmek için, standart hale gelmiş yöntemlere ve daha geniş , homojen hastalardan oluşan gruplarla yapılacak prospektif çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

- 1) **Winer EP, Morrow M, Osborne CK, Harris JR.** Malignant Tumors of the Breast. In: *Cancer Principles and Practice of Oncology*. 6th edition, Philadelphia: A Wolters Kluwer Company, **2001**: 1651-1717.
- 2) **Folkman J.** Tumor Angiogenesis. In: *Cancer Medicine*. 5th edition, Canada: BC Decker Inc, **2000**: 132-152.
- 3) **Klijn JGM, Berns EMJJ, Foekens JA.** Prognostic and Predictive Factors and Targets for Therapy in Breast Cancer. In: *Breast Cancer Prognosis, Treatment and Prevention*. New York: Marcel Dekker Inc, **2002**: 93-124.
- 4) **Sledge GW Jr, Miller KD.** Angiogenesis and antiangiogenic therapy. *Curr Probl Cancer*, **2002**; 26(1):1-60.
- 5) **Karkkainen MJ, Petrova TV.** Vascular endothelial growth factor receptors in the regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Oncogene*, **2000**; 19: 5598-5605.
- 6) **Cao Y, Linden P, Farnebo J, Cao R, Eriksson A, Kumar V, Qi JH, Claesson-Welsh L, Alitalo K.** Vascular endothelial growth factor C induces angiogenesis *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1998**; 95: 14389-14394.
- 7) **Manders P, Beex L, Tjan-Heijnen VCG, Geurts-Moespot J, Van Tienoven TH, Foekens JA, Sweep CG.** The prognostic value of vascular endothelial growth factor in 574 node-negative breast cancer patients who did not receive adjuvant systemic therapy. *Br J Cancer*, **2002**; 87: 772-778.
- 8) **Kubo H, Cao R, Brakenheilm E, Makinen T.** Blockade of vascular endothelial growth factor receptor-3 signaling inhibits fibroblast growth factor-2-induced lymphangiogenesis in mouse cornea. *PNAS*, **2002**; 99(13): 8868-8873.
- 9) **Vitelli G, Levato D, Ricciotti A, Digiesi G.** Clinicoprognostic implications of increased serum levels of vascular endothelial growth factor and basic fibroblastic growth factor in early B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Cancer*, **2002**; 86: 31-35.
- 10) **Krishnan J, Kirkin V, Steffen A, Hegen M, Weih D, Tomarev S, Wilting J, Sleeman JP.** Differential *in vivo* and *in vitro* expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D in tumors and its relationship to lymphatic metastasis in immunocompetent rats. *Cancer Res*, **2003**; 63: 713-722.
- 11) **Yang W, Klos K, Yang Y, Smith TL, Shi D, Yu D.** ErbB2 overexpression correlates with increased expression of vascular endothelial growth factors A, C, and D in human breast carcinoma. *Cancer*, **2002**; 94: 2855-2861.
- 12) **Jain RK.** Tumor angiogenesis and accessibility: role of vascular endothelial growth factor. *Semin Oncol*, **2002**; 29(6 Suppl 16):3-9.
- 13) **Barbera-Guillem E, Nyhus JK, Wolford CC, Friece CR, Sampsel JW.** Vascular endothelial growth factor secretion by tumor-infiltrating macrophages essentially supports tumor angiogenesis, and IgG immune complexes potentiate the process. *Cancer Res*, **2002**; 62: 7042-7049.
- 14) **Streit M, Detmar M.** Angiogenesis, lymphangiogenesis, and melanoma metastasis. *Oncogene*, **2003**; 22: 3172-3179.

- 15) **Ferrara N.** Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications. *Semin Oncol*, **2002**; 29(6 Suppl 16):10-4.
- 16) **Hoar FJ, Chaudhri S, Wadley MS, Stonelake PS.** Co-expression of vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) and c-erbB2 in human breast carcinoma. *Eur J Cancer*, **2003**; 39(12):1698-1703.
- 17) **Chang L, Kaipainen A, Folkman J.** Lymphangiogenesis, new mechanisms. *Ann N Y Acad Sci*, **2002**; 979: 111-119.
- 18) **Beasley NJP, Prevo R, Banerji S, Leek RD, Moore J, van Trappen P, Cox G, Harris AL, Jackson DG.** Intratumoral lymphangiogenesis and lymph node metastasis in head and neck cancer. *Cancer Res*, **2002**; 62: 1315-1320.
- 19) **Otani A, Takagi H, Oh H, Koyama S, Ogura Y, Matumura M, Honda Y.** Vascular endothelial growth factor family and receptor expression in human choroidal neovascular membranes. *Microvasc Res*, **2002**; 64: 162-169.
- 20) **Kinoshita J, Kitamura K, Kabashima A, Saeki H, Tanaka S, Sugimachi K.** Clinical significance of vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, **2001**; 66:159-164.
- 21) **Oh SJ, Jeltsch MM, Birkenhager R, McCarthy JEG, Weich HA, Christ B, Alitalo K, Wilting J.** VEGF and VEGF-C: Specific induction of angiogenesis and lymphangiogenesis in the differentiated avian chorioallantoic membrane. *Dev Biol*, **1997**; 188: 96-109.
- 22) **Gunningham SP, Currie MJ, Han C, Robinson BA, Scott PA, Harris AL, Fox SB.** The short form of the alternatively spliced flt-4 but not its ligand vascular endothelial growth factor C is related to lymph node metastasis in human breast cancers. *Clin Cancer Res*, **2000**; 6: 4278-4286.
- 23) **Yokoyama Y, Charnock-Jones DS, Licence D, Yanaihara A, Hastings JM, Holland CM, Emoto M, Umemoto M, Sakamoto T, Sato S, Mizunuma H, Smith SK.** Vascular endothelial growth factor-D is an independent prognostic factor in epithelial ovarian carcinoma. *Br J Cancer*, **2003**; 88: 237-244.
- 24) **Valtola R, Salven P, Heikkila P, Taipale J, Joensuu H, Rehn M, Pihlajaniemi T, Weich H, deWaal R, Alitalo K.** VEGFR-3 and its ligand VEGF-C are associated with angiogenesis in breast cancer. *Am J Pathol*, **1999**; 154: 1381-1390.
- 25) **Matilla MMT, Ruohola JK, Karpanen T, Jackson DG, Alitalo K, Harkonen PL.** VEGF-C induced lymphangiogenesis is associated with lymph node metastasis in orthotopic MCF-7 tumors. *Int J Cancer*, **2002**; 98: 946-951.
- 26) **Karkkainen MJ, Petrova TV.** Vascular endothelial growth factor receptors in the regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Oncogene*, **2000**; 19: 5598-5605.
- 27) **Engel J, Eckel R, Kerr J, Schmidt M, Furstenberger G, Richter R, Sauer H, Senn HJ, Holzner D.** The process of metastasis for breast cancer. *Eur J Cancer*, **2003**; 39(12):1794-806.
- 28) **Kishimoto K, Sasaki A, Yoshihama Y, Mese H, Tsukamoto G, Matsumura T.** Expression of vascular endothelial growth factor-C predicts regional lymph node metastasis in early oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*, **2003**; 39: 391-396.

- 29) **Furudoi A, Tanaka S, Hamura K, Kitadai Y, Yoshihara M, Chayama K, Shimamoto F.** Clinical significance of vascular endothelial growth factor C expression and angiogenesis at the deepest invasive site of advanced colorectal carcinoma. *Oncology*, **2002**; 62: 157-166.
- 30) **Skobe M, Hawighorst T, Jackson DG, Prevo R.** Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis. *Nat Med*, **2001**; 7(2):192-8 (C15).
- 31) **Akagi K, Ikeda Y, Miyazaki M, Abe T, et al.** Vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) expression in human colorectal cancer tissues. *Br J Cancer*, **2000**; 83(7): 887-891.
- 32) **Yonemura Y, Fushida S, Bando E, Kinoshita K.** Lymphangiogenesis and the vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR)-3 in gastric cancer. *Eur J Cancer*, **2001**; 37(7): 918-923.
- 33) **Ichikura T, Tomimatsu S, Ohkura E, Mochizuki H.** Prognostic significance of the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C in gastric carcinoma. *J Surg Oncol*, **2001**; 78(2): 132-137.
- 34) **Tsurusaki T, Kanda S, Sakai H, Kanetake H, Saito Y, Alitalo K, Koji T.** Vascular endothelial growth factor-C expression in human prostatic carcinoma and its relationship to lymph node metastasis. *Br J Cancer*, **1999**; 80(1-2):309-13.
- 35) **Crew JP.** Vascular endothelial growth factor: an important angiogenic mediator in bladder cancer. *Eur Urol*, **1999**; 35(1): 2-8.
- 36) **Kitadai Y, Amioka T, Haruma K, Tanaka S, Yoshihara M, Sumii K, Matsutani N, Yasui W, Chayama K.** Clinicopathological significance of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C in human esophageal squamous cell carcinomas. *Int J Cancer*, **2001**;93(5):662-6.
- 37) **Singletary E, Allred C, Ashley P.** Revision of the American Joint Committee on Cancer Staging System for Breast Cancer. *J Clin Oncol*, **2000**: 3628-36.
- 38) **Linderholm BK, Lindahl T, Holmberg L, Klaar S, Lennerstrand J, Henriksson R, Bergh J.** The expression of vascular endothelial growth factor correlates with mutant p53 and poor prognosis in human breast cancer. *Cancer Res*, **2001**; 61(5): 2256-2260.
- 39) **Nakamura Y, Yasuoka H, Tsujimoto M, Yang Q, Tsukiyama A, Imabun S, Nakahara M, Nakao K, Nakamura M, Mori I, Kakudo K.** Clinicopathological significance of vascular endothelial growth factor-C in breast carcinoma with long-term follow-up. *Mod Pathol*, **2003**; 16(4):309-14 (C4).
- 40) **Williams CS, Leek RD, Robson AM, Banerji S, Prevo R, Harris AL, Jackson DG.** Absence of lymphangiogenesis and intratumoural lymph vessels in human metastatic breast cancer. *J Pathol*, **2003**; 200(2):195-206 (C3).
- 41) **Gasparini G, Toi M, Gion M, Verderio P, Dittadi R, Hanatani M, Matsubara I, Vinante O, Bonoldi E, Boracchi P, Gatti C, Suzuki H, Tominaga T.** Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein in node-negative breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst*, **1997**; 89(2): 139-147.
- 42) **Linderholm B, Grankvist K, Wilking N, Johansson M, Tavelin B, Henriksson R.** Correlation of vascular endothelial growth factor content with recurrences, survival, and first relapse site in primary node-positive breast carcinoma after adjuvant treatment. *J Clin Oncol*, **2000**; 18(7): 1423-1431.

- 43) **Adams J, Carder PJ, Downey S, Forbes MA, MacLennan K, Allgar V, Kaufman S, Hallam S, Bicknell R, Walker JJ, Cairnduff F, Selby PJ, Perren TJ, Lansdown M, Banks RE.** Vascular endothelial growth factor (VEGF) in breast cancer: comparison of plasma, serum, and tissue VEGF and microvessel density and effects of tamoxifen. *Cancer Res*, **2000**; 60(11): 2898-2905.
- 44) **De Paola F, Granato AM, Scarpi E, Monti F, Medri L, Bianchi S, Amadori D, Volpi A.** Vascular endothelial growth factor and prognosis in patients with node-negative breast cancer. *Int J Cancer*, **2002**; 98(2): 228-233.
- 45) **Kabashima A, Maehara Y, Kakeji Y, Sugimachi K.** Overexpression of vascular endothelial growth factor C is related to lymphogenous metastasis in early gastric carcinoma. *Oncology*, **2001**; 60(2): 146-150.
- 46) **Yonemura Y, Endo Y, Fujita H, Fushida S, Ninomiya I, Bandou E, Taniguchi K, Miwa K, Ohoyama S, Sugiyama K, Sasaki T.** Role of vascular endothelial growth factor C expression in the development of lymph node metastasis in gastric cancer. *Clin Cancer Res*, **1999**; 5(7): 1823-1829.
- 47) **Kajita T, Ohta Y, Kimura K, Tamura M, Tanaka Y, Tsunezuka Y, Oda M, Sasaki T, Watanabe G.** The expression of vascular endothelial growth factor C and its receptors in non-small cell lung cancer. *Br J Cancer*, **2001**; 85(2): 255-260.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sinan Yavuz
Doğum Tarih ve Yeri : 21.09.1972 / Ceyhan-ADANA
Medeni Durumu : Evli
Adres : Gazipaşa Mh. Borsa Cd. No:56/1 01140 Seyhan-Adana
Telefon : 0 322 459 46 54
Faks : 0 322 338 61 53
E.mail : siyav@cu.edu.tr
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Varsa Mezuniyet Derecesi : Tıp Fakültesi üçüncülüğü
Görev Yerleri : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.D.
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji B.D.
Dernek Üyelikleri : Türk Tabipler Birliği
Alınan Burslar : -
Yabancı Dil(ler) : İngilizce
Diğer Hususlar : 1)“Ulusal Onkoloji Öğrenci Kongresi”nde en iyi sunum ödülü; Tıp Fakültesi 5. sınıf, 1994
2) Ç.Ü. Rektörlüğü tarafından verilen bilimsel yayın ödülü; 2003