

## OVER NEOPLAZİLERİNDE ANGIOGENESİS VE NEOVASKÜLARİZASYONUN ARAŞTIRILMASI

Dr. Önder Koç<sup>1</sup>, Dr. Sema Zergeroğlu<sup>2</sup>, Dr. Bülent Duran<sup>1</sup>, Dr. Ümmügülsüm Koç<sup>3</sup>,  
Dr. Ata Topçuoğlu<sup>1</sup>, Dr. Melahat Kesim<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi patoloji bölümünde değerlendirilen ve tanı alan 100 adet ovarian neoplazi olgusu kullanılmıştır. İmmünohistokimyasal yöntemle F VIII ve CD 31 primer antikorunu kullanarak over neoplazili olgularda neovaskülarizasyonu göstermeyi planladık.

**Materyal Metot:** Olgular immunhistokimyasal yöntem kullanılarak ve Faktör 8 primer antikorunu ile CD31 primer antikorunu kullanılarak boyandı. Bu vakaların 78 tanesi yüzey epitel kaynaklı tümör, 9 tanesi germ hücreli tümör, 8 tanesi seks kord stromal tümör ve 5 tanesi metastatik krukenberg tümörü idi.

Vakalardan 85 ine lenf nodu diseksiyonu yapılmıştı ve bunlardan 25 olguda lenf nodu metastazı pozitifliği.

Vakaların klinik takiplerinde 10 vakanın eks olduğu gözlemlendi, 8 olguda rekürrens vardı, 11 olgu remisyondaydı.

**Bulgular:** Olgularda Faktör VIII antikorunu ile yapılan immunhistokimyasal işlem sonrası mikrodamar yoğunluğu ile tümör gradeleri arasında anlamlı ilişki bulundu.

Mikrodamar yoğunluğunun tümör tipi ile, lenf nodu pozitifliği ile, tümörün remisyon yada rekürrensi ile anlamlı ilişki göstermediği gözlemlendi.

CD 31 otoantikorunun kullanılmasıyla tespit edilen mikrodamar yoğunluğunda diğer markerda olduğu gibi tümör tipinden bağımsız olduğu gözlemlendi.

**Sonuç:** CD 31 bir angiogenetik marker olarak taşıdığı prognostik önem diğer markere göre oldukça fazlaydı. Yapılan bu çalışma angiogenetik markerların tümör progresyonunun öngörülmesinde kullanılacak önemli ajan olduğunu göstermiştir. Gerekli olan bu markerlerin daha geniş serilerde çalışılmasıdır

**Anahtar Kelimeler:** Ovarian neoplasia, angiogenesis, vascularisation, faktör VIII, CD 31

### ABSTRACT

**Objective:** We aimed to find neovascularization in 100 ovarian neoplasia cases by using immunohistochemical method with primary antibody F VIII and CD 31 in Zekai Tahir Burak Education and Research Hospital,

**Material and Method:** Cases were stained by using immunohistochemical method with FVIII and CD 31. 78 of the cases were epithelial ovarian cancer. 9 of the cases were germ cell tumor followed by 8 cases of sex cord stromal tumor and 5 cases of krukenberg tumor.

Lymph node dissection were performed in 85 of the cases and 25 of them were positive.

During the clinical follow up 10 cases were died, recurrences were seen in 8 cases and remission were found in 11 cases.

**Results:** Immunohistochemical staining of microvessel density by using F VII antibody showed significant relation with tumor grade. But there were no relation with tumor type, lymph node positivity, tumor remission and tumor recurrence.

Immunohistochemical staining of microvessel density by using CD 31 antibody showed no relation with tumor type.

**Conclusion:** CD 31 as an angiogenetic marker showed more prognostic importance than the other marker. This study showed angiogenetic markers are important agents in prediagnosis of tumor progression. Trial series of this markers with more cases

**Key Words:** Ovarian neoplasia, angiogenesis, vascularisation, faktör 8, CD 31

Geliş tarihi: 09/06/2008

Kabul tarihi: 16/06/2008

<sup>1</sup>Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı BOLU

<sup>2</sup>Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü ANKARA

<sup>3</sup>Yozgat Sorgun Devlet Hastanesi Kadın Doğum Bölümü YOZGAT

İletişim: Dr. Önder Koç

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Gököy-14280-BOLU

E-posta: onderkoc1@hotmail.com

## Giriş

Tümör angiogenesisi, tümör dokusu içerisinde ve ya tümör dokusunun gelişimi yönünde yeni damar dokusunun oluşumudur (1). Angiogenesis tümör büyümesi ve metastazı için esansiyeldir ve bizzat tümör tarafından yada konakçı tarafından salgılanan angiogenesis faktörlerince tetiklenir (2). Diğer solid kanserlerde olduğu gibi over tümörlerinin angiogenik potansiyeli tümör mikrodamar yoğunluğu (tumor microvessel density-MVD) ile değerlendirilir, kötü klinik sonuçlar ile direkt korelasyon gösterir ve hastalık progresyonuna katkıda bulunur (3). Kanserın başlangıç, gelişme ve yayılımı sadece neoplastik hücrelerin proliferasyonuna değil, aynı zamanda tümör hücrelerinin içerisinde gelişim gösterdiği benign konak dokularının yanıtına da bağlıdır (1). Kanser araştırmalarında bir biomarker olarak angiogenesisin rolü neovaskularizasyon ve hasta sağkalımı arasındaki ilişkinin tanımlanmasından sonra önem kazanmıştır (4).

Angiogenesis embriyogenesis sırasında gözlenen gelişimsel bir olaydır ve sağlıklı erişkinlerde down reguledir. Erişkinlerde angiogenesisin ilişkili olduğu fizyolojik durumlar menstruasyon siklusundaki over ve endometrium değişiklikleri, patolojik durumlar ise yara iyileşmesi ve tümör büyümesidir (6).

Epithelial over karsinomu kadınlardaki kanser ölümleri arasında dördüncü sıklıktadır (7).

Klinik ve laboratuvar çalışmalarında epithelial ovarian karsinomanın hücresele ve moleküler biyolojisi hakkında kaydedilen gelişmeler hastalarda kanser rekürrensine ve ölüm riskinin yüksekliğine işaret eden yeni biomarkerların gelişimine yol açmıştır (8).

Tümör angiogenesisini gösteren çok sayıdaki endothelial marker arasında ICAM-1 olarak anılan CD31 formalinle fikse parafin doku bloklarının immunohistokimyasal analizinde sıklıkla kullanılır (9). Ek olarak CD31 in serumda saptanan çözünür formu (sCD31) angiogenesisin bir markerı olarak ilgi çekmektedir (10).

Antifaktör VIII ilişkili antijen ise oluşan yeni tümör damarlarını boyayan bir markerdır ve kanserin gelişimi, progresyonu ve disseminasyonu hakkında önemli bilgiler verir (11).

Mikrodamar yoğunluğunun değişen tümör tipine göre farklı eşik değerleri ve malign tümörlerde benign ve borderline tümörlere göre yüksek değerleri

belirtilmiş olmasına karşın aynı tümör içindeki farklı alanlarda yoğunluğun heterojenite göstermesi tekniğin dezavantajlardandır.

Bu çalışmada amacımız çalışma grubuna alınan over karsinomlu hastalarda uygun biomarkerlar ile gösterilebilen angiogenesis ve neovaskularizasyonun varlığının kanserin gelişimin değerlendirilmesinde prognostik bir faktör olarak kullanımının araştırılması, hasta sağkalımı ve tedavi cevabında immunohistokimyasal tekniklerin kullanılarak progresyonun değerlendirilmesidir.

## MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada 5 yıl içinde Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi patoloji bölümünde değerlendirilen ve tanı alan 100 adet ovarian neoplazi olgusu kullanılmıştır. Olguların arşiv lamaları aynı uzman patolog tarafından yeniden değerlendirilerek yüzeyle epitel kökenli tümörler, germ hücreli tümörler, seks kord stromal tümörler ve diğerleri olmak üzere tanıları kontrol edilmiştir. Olgular klinik özellikleri korele edilerek grade, stage, tümör tipi, lenf nodu metastazı, nüks açısından FİGO ve WHO kriterlerine göre sınıflandırılmıştır. Olgulara ait spesmenler formalinle fikse edilip rutin patolojik takipten geçirilmiş ve parafin bloklara gömülmüştür. Bu bloklardan yeniden her olgu için 5 milimikronluk 2 adet boyasız kesit alınarak deparafinize edildikten sonra kesitlerden birisine FVIII primer antikor, diğerine CD31 primer antikor uygulanmak üzere hazırlanmıştır. Metod olarak immunohistokimyasal yöntem seçilmiştir Tümör hücreleri arasındaki mikrodamar yoğunluğu bu yöntemle gösterilmiştir.

(Faktör VIII antikor (Biogenex), CD 31 antikor (PE-CAM biogenex). (Kromogen olarak fast red kullanıldı)

### İmmunohistokimyasal Yöntem

#### Faktör 8 için; POZİTİFLİK DEĞERLENDİRİLMESİ

Her olgu için birer negatif kontrol kullanılmıştır. Pozitif kontrol için daha önce boyanma özelliği saptanmış myometrium preparatı kullanılmıştır.

Işık mikroskopik değerlendirmelerde malign histoloji gösteren alanlarda 100 lük ve 400 lük büyütmelerde oluşmuş ve antikorla positif reaksiyon veren mikrodamar yapıları sayıldı ve bu damar yapıları >10 ise birinci grup, 10< ise ikinci grup şeklinde gruplandırılmıştır.

Sonuçlar stage, grade, yaş, lenf nodu tutulumu ve tümör nüksü açısından karşılaştırmalı olarak yorumlandı.

İstatistiksel analiz için fisher ki-kare ve fisher's exact testleri kullanılmıştır. Faktör 8 in grade, stage, lenf node metastazı ile ilişkisinin değerlendirilmesinde ki-kare testi, tümör grupları, remisyon, rekurrensler ve ekslerle ilişkisinin değerlendirilmesinde fisher exact test kullanılmıştır.

#### *CD31 için; POZİTİFLİK DEĞERLENDİRMESİ*

Her bir olgu için negatif kontrol ve ayrıca pozitif kontrol olarak dokunun tümörsüz alanlarındaki endotel hücreleri seçilmiştir. Işık mikroskopu değerlendirmelerinde 100 lük ve 400 lük büyütmelede boyanan damar hücreleri >10 ve <10 gruplarına ayrılarak sayılıp FVIII antikoru için uygulanan değerlendirme sistemi esas alınarak tablolar oluşturulmuştur. Yaş, grade, stage, tümör nüksü ile CD31 ile boyanan mikrodamarlar ve oluşan neovaskülarizasyon karşılaştırılmıştır.

İstatistiksel analiz için fisher ki-kare ve fisher's exact testleri kullanıldı. CD 31 in grade, stage, lenf node metastazı ile ilişkisinin değerlendirilmesinde ki-kare testi, tümör grupları, remisyon, rekurrensler ve ekslerle ilişkisinin değerlendirilmesinde fisher exact test kullanılmıştır.

## **BULGULAR**

100 Over tümörlü hasta patolojik tümör tiplerine göre sınıflandırıldığı da 78 tanesi yüzey epitelyal kaynaklı, 9 tanesi germ hücre kaynaklı, 8 tanesi seks kord stromal, 5 tanesi metastatik tümördü.

Hastaların yaşları 16 ila 72 arasındaydı. Yaş ortalamaları epitelyal kökenli tümörlerde 57, germ hücreli tümörlerde 34, seks kord stromal tümörlerde 51, metastatik tümörlerde ise 58 olarak gözlemlendi.

Yüzey epitelyal kökenli 78 tümörün 35'i seröz karsinom, 28'i müsinöz karsinom, 5'i berrak hücreli karsinom, 1'i malign brenner tümörü, 9'u endometrioid tümördü.

Germ hücreli tümörlerin 4'ü disgerminom, 1'i imatür teratom, 2'si endodermal sinüs tümörü, 2'si malign teratomdu.

Seks kord stromal kökenli 8 tümörün 2'si sertoli leydig hücreli tümör, 4'ü granülosa hücreli tümör, 1'i luteinize tekoma, 1'i sklerozan stromal tümördü.

Metastatik tümörlerin tamamı krukenberg tümörü idi.

Toplam olarak 78 vakaya tümör gradelemesi yapılabildi. Bunlardan 20'si grade I, 26'sı grade II, 32 tanesi ise grade 3'tü.

Olguların stajelere göre dağılımı yapıldığında 32 olgunun stage I, 20 olgunun stage II, 38 olgunun stage III ve 10 olgunun stage IV olduğu görüldü.

Toplam olguların 85 tanesine lenf diseksiyonu yapıldı ve diseksiyon yapılan olgulardan 25 tanesinde lenf nodu metastazı saptandı. Geri kalan olgularda metastaz gözlenmedi. Bu 25 olgunun 6 tanesi seröz epitelyal tümör, 9 tanesi müsinöz karsinom, 1 tanesi berrak hücreli karsinom, 1'i endometrioid tümör, 2 tanesi disgerminom, 2'si endodermal sinüs tümörü, 2'si malign teratom, 2'si sertoli leydig hücreli tümördü.

Olguların 3 yıllık takibinde 11 olguda remisyon saptandı. Bu olgulardan 6'sı seks kord stromal tümör, 3'ü germ hücreli tümör, 2 olgu epitelyal tümördü.

Olgulardan 8 tanesi takiplerinin 2, yılında rekurrens gösterdi. Bunların 5'i seröz karsinom, 3'ü müsinöz karsinomdu.

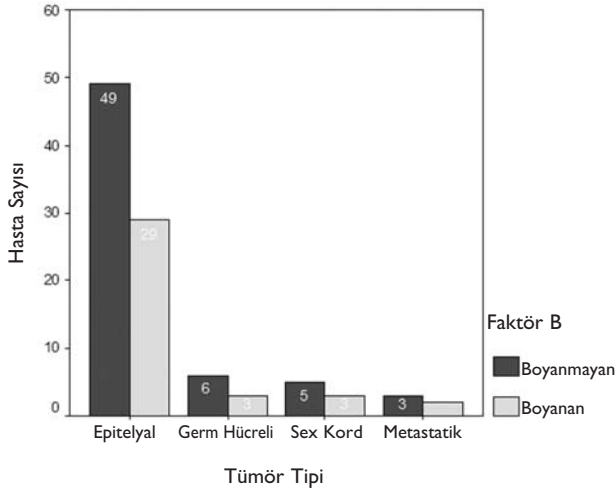
Takiplerde 10 eks vakasının tamamı epitelyal tümördü. Bunların 4'ü seröz karsinom, 5'i müsinöz karsinom, 1'i ise endometrioid tümördü. Malign brenner tümörlü hasta ise kontrollerine gelmediği için son durumu bilinmiyordu.

Faktör VIII markeri ile boyanan epitelyal over tümörü kesitlerinde 35 seröz epitelyal tümörlü hastanın 21'inde sayılan yeni damar sayısı 10 un altında iken, 14'ünde bu sayı 10 un üzerinde idi. 28 müsinöz karsinomun ise 17 sinde sayı 10 un altında, 11 inde 10 un üzerindedir. Yüzey epitel kaynaklı tümörlerde 10 damarın altı 4 olguda, 10 un üstü damarlanma 1 olguda gözlenmiştir. Malign brenner tümörlü tek vakada sayı 10 un altındadır. Endometrioid tümörlerde 6 olguda damarlanma düşük (10 un altı), 3 olguda ise yüksek gözlenmiştir (Şekil 1).

Faktör VIII ile boyanan germ hücre tümörlerinde 6 olguda yeni damar oluşumu düşük gözlenirken, 3 olguda yeni damar oluşumu fazla olarak gözlenmiştir.

Faktör VIII le boyanmada seks kord stromal tümörlerde 5 vakada düşük damarlanma gözlenirken 3 vakada fazla damarlanma vardır.

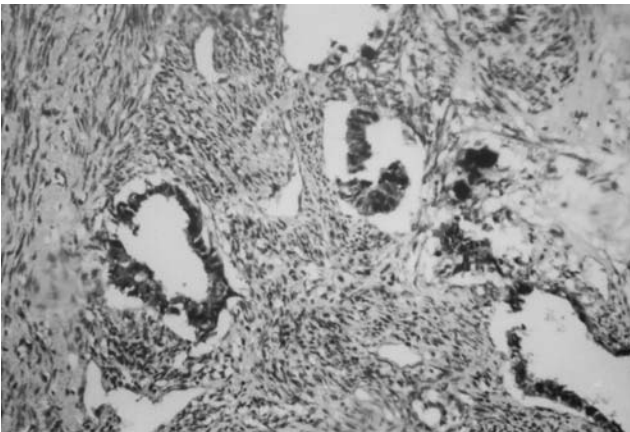
Faktör VIII metastatik tümörlerde ise 3 olguda düşük, 2 olguda yüksek boyama göstermiştir.



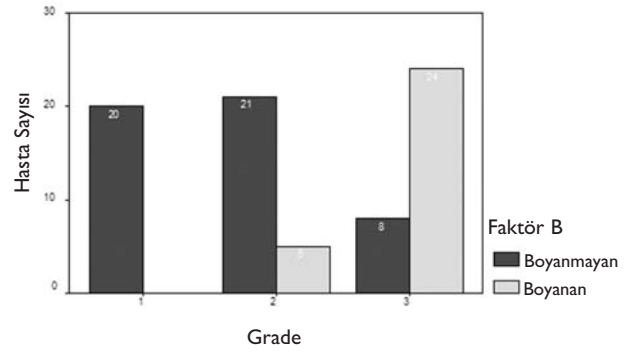
Şekil 1

Sonuç olarak faktör VIII le boyanmada yeni damar oluşumu tümör tipinden bağımsız bulunmuştur. Tümör tipi ile arasındaki ilişkinin P değeri 0,995 olup anlamsız bulunmuştur. Epitelyal kökenli over tümörlerinde % 37, germ hücreli tümörlerde %33, seks kord stromal tümörlerde %37, metastatik tümörlerde %40 oranında 10 yeni damarın üstünde bir neovaskülarizasyon gözlenmiştir.

Faktör VIII ile grade ilişkisi gözönüne alındığında P değeri 0,001 bulunmuş anlamlı bir ilişki göze çarpmıştır. Grade III olarak tanımlanan olguların %75'i yüksek yeni damar yoğunluğu gösterirken, Grade I olarak tanımlanan grubun %100'ü düşük damar yoğunluğu göstermiştir (Şekil 2).



Resim 1–Faktör VIII ile pozitif boyanma gösteren epitelyal tümör



Şekil 2

Faktör VIII ile stage ilişkisinde ise P değeri 0,531 bulunmuş, anlamlı sonuç bulunamamıştır (Şekil 3).

Faktör VIII boyanması ile lenf nodu pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki vardır (P:0.038). Faktör VIII ile remisyon yada recurrens arasında ise anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (P değeri 0,207 ve 0,635).

Faktör VIII değeri ile eksler arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (P: 0.001).

CD 31 ile tümör gradeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (P: 0.257).

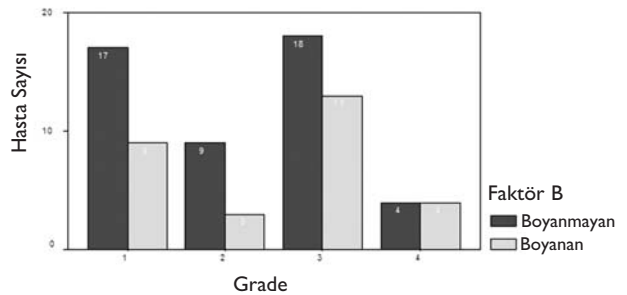
CD 31 ile tümör stage arasında ise 0,001'lık P değeri ile anlamlı bir ilişki vardır. Stage 1 de artmış neovaskülarizasyon %9,4, Stage 2 de sadece %25 iken Stage 3 te %75,7, Stage 4 te ise %100'dür (Şekil 4).

CD 31 ile tümör tipleri arasında anlamlı bir ilişki yoktur (P: 0,822) (Şekil 5).

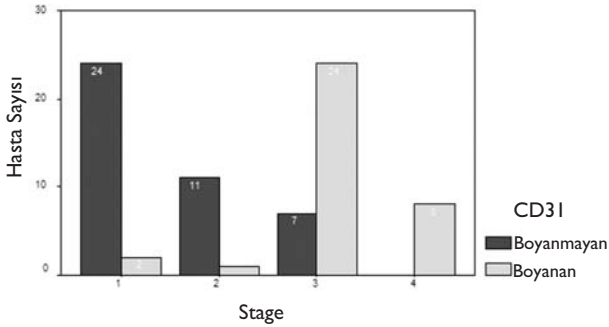
CD 31 ile lenf nodu metastazları arasında anlamlı bir ilişki vardır (P:0,002). Lenf nodu metastazı düşük damar oluşumlu grupta %36 iken, Yüksek neovaskülarizasyonlu grupta %76 dır.

CD 31 ile remisyon arasında anlamlı bir ilişki yoktur (P: 0.098).

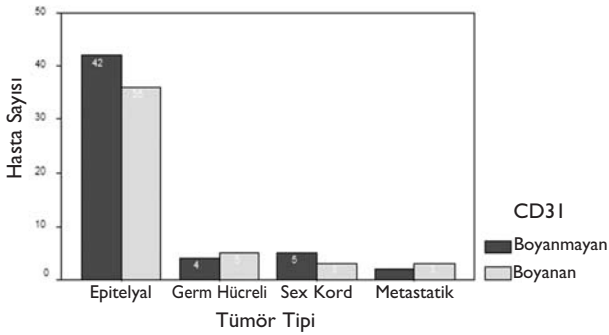
CD 31 ile tümör rekurrensi ile ilişkisinde ise P değeri 0,002 bulunmuş ve ilişki anlamlı olarak yorum-



Şekil 3



Şekil 4



Şekil 5

lanmıştır. Rekürrens olmayan hastalar düşük ve yüksek neovaskülarizasyonlu grupta benzer oranlar gösterirken, rekürrens gösteren hastaların tamamı yüksek neovaskülarizasyon gösteren gruptadır.

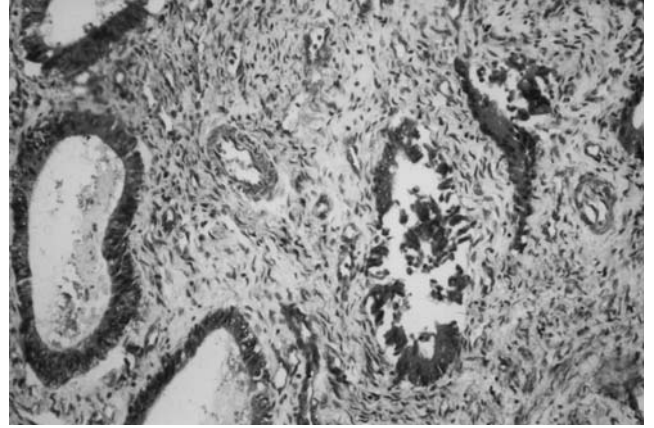
CD 31 ile eks olan hastalar arasında anlamlı bir ilişki gözlenmiştir (P:0.001) Eks olan hastaların tamamı yüksek oranda yeni damar oluşumu gözlenen gruptadır.

## TARTIŞMA

Over karsinomu jinekolojik kanserler arasında en çok mortaliteye yol açan kanser türüdür. Tüm yaşamları süresince her 70 kadından birinde over karsinomu gelişeceği hesaplanmıştır (12).

Kanser araştırmalarında bir biomarker olarak angiogenesisin rolü neovaskülarizasyon ve hasta sağkallığı arasındaki ilişkinin tanımlanmasından sonra önem kazanmıştır (4).

Angiogenesis embryogenesis sırasında gözlenen gelişimsel bir prosestir ve sağlıklı erişkinlerde down reguledir. Erişkinlerde angiogenesisin ilişkili olduğu fizyolojik durumlar menstruasyon siklusu sırasında-



Resim 2—CD 31 ile pozitif boyanan stromal tümör.

ki over ve endometrium değişiklikleri, patolojik durumlar ise yara iyileşmesi ve tümör büyümesidir (6).

Hollingsworth ve arkadaşları tarafından ileri evre over karsinomlarında yapılan çalışmalar yeni damar oluşumunun derecesinin hastanın yaşam süresini etkileyen önemli bir prognostik faktör olduğunu bildirmiştir (13).

Biz bu çalışmada neovaskülarizasyonu Hollingsworth ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada olduğu gibi değerlendirdik.

Abulafia ve ark. ortalama damar yoğunluğu ile yaş, grade, stage arasında bir ilişki olmadığını, neovaskülarizasyon derecesinin prognostik bir faktör olmadığını belirtmiştir. Buna karşın ortalama damar yoğunluğunun omental metastazlar ile hasta yaşam süresi arasında direkt bir ilişkiye dikkat çekmiştir. Bu çalışmada vaka sayılarının hasta yaşam süresi ile bir ilişkiyi göstermek için yetersiz olduğu, 12 erken evre hasta ile yapılan araştırmada mikrodamar yoğunluğu ile ilişki kurulamayacağı düşünülmüştür (14).

Hollingsworth ve ark. ise neovaskülarizasyon derecesini prognostik bir faktör olarak öne sürmüştür (13).

Alvarez ve arkadaşları ise toplam 85,37 erken evre hastada yaptıkları araştırmalarda yeni damar oluşumunun epitelyal ovarian karsinomlarda prognostik bir belirleyici olduğunu bildirmiştir (15).

Bizim çalışmamız da 100 vakalılık toplam seri içinde 52 erken evre (stage I ve II) over kanseri yeterli olgu sayısını içemektedir.

Faktör VIII kullanarak yaptığımız immunohisto kimyasal çalışmada boyanan mikrodamar yoğunluğunun tümör tipinden bağımsız olduğu göze çarpmıştır. Faktör VIII beklenenin tersine epitelyal over kar-

sinomlarında boyamada diğer tümör tiplerinden bir fark göstermemiştir. Faktör VIII ile tümör grade'ı arasında ise anlamlı ilişki göze çarpmıştır. Grade 3 için %75 oranında artmış yeni damar oluşumu saptanırken, grade I in %100'ü düşük damar yoğunluklu olarak gözlenmiştir. Faktör VIII in gösterdiği damar yoğunluğunun eksler ile de anlamlı ilişkiye sahip olduğu gözlenirken tümör stageleri ile anlamlı bir ilişkisi gözlenmemiştir. Ayrıca Faktör VIII ile gösterilen mikrodamar yoğunluğunun tümörün remisyon yada rekurrensi ile bir ilişkisi gözlenmemiştir.

Tüm bu verilerle mikrodamar yoğunluğunun Faktör VIII ile tespitinin ve bu marker in angiogenesisin tespitinde kullanılabilirliği konusu tartışmaya açık bir noktadır. İleriki çalışmalarda F VIII in angiogenetik tanımlayıcı bir antikor olarak kullanılıp kullanılmayacağı daha geniş serilerle ve farklı laboratuvar koşullarında araştırılabilir.

CD 31 ile tümör stageleri arasındaki anlamlı ilişkiye karşın bu antikorda faktör VIII gibi over tümör tiplerinde birbirlerine göre belirgin boyanma farklılığı göstermemiştir.

CD31'in tümör gradeleri ile ilişkisi ise faktör VIII de elde edilen anlamlı ilişkiye zıt olarak anlamsız çıkmış, tüm gradelerde yaklaşık olarak aynı yüzdelerde neovaskülarizasyon gözlenmiştir.

CD 31 ile yapılan immunhistokimyasal boyamada yüksek damar yoğunluklu grupta lenf nodu metastazı yüzde 76 olarak bulunmuşken, düşük damar yoğunluklu grupta metastaz oranı yüzde 36 olarak bulunmuştur.

CD 31'de de F VIII de olduğu gibi remisyondaki hastalar ile boyanan mikrodamar yoğunluğu arasında ilişki gözlenmez iken, CD 31'in rekurrens gösteren hastaların örneklerinin %100'ünü artmış bir damar yoğunluğunu gösterecek şekilde boyadığı göze çarpmıştır.

Bu verilerle yapılacak yorumda CD31 in tümör angiogenesisini gösteren daha kullanışlı bir marker olduğu ama tümör tiplerinden bağımsız olduğu ve belli bir tümör tipine selektif özellik göstermediği söylenebilir.

Sonuç olarak CD 31'in Faktör 8 e göre verdiği daha anlamlı sonuçlar, bu markerın daha geniş vaka serileriyle araştırılması zorunluluğunu ortaya koymuştur.

Bu markerla daha geniş serilerde çalışmalar yapılarak tümör angiogenesisi niteleyen ilave metodlarla korelasyon daha uygun olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Weidner. Tumor angiogenesis: review of current applications in tumor prognostication. *Seminars in diagnostic pathology* 1993; 10 (4): 302-313.
2. Falkman J: How is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue? *Cancer res* 1986; 46: 467-473.
3. Gasparini G, Bonoldi E, Viale G, Verderio P, Boracchi P, Panizzoni GA, Radaelli V, DiBacco A, Guglielmi RB, Bellacqua P: Prognostic and predictive value of tumor angiogenesis in ovarian carcinoma. *Int J Cancer* 1996, 69: 205-211.
4. Elise CK. Angiogenesis in ovarian carcinoma. *Cancer* 1997 Dec 15, 80 (12) : 2257-62.
5. Risau W, Flamme I: vasculogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 11: 73-91, 1995.
6. Darai E, Bringer AT, Combrouze EW, Fauconnier A. CD31 expression in benign, borderline and malignant epithelial ovarian tumors; an immunohistochemical and serological analysis. *Gynecologic Oncology*, 1998, 71, 122-127.
7. Boring CC, Squires TS, Tong T, Montgomery S. *Cancer Statistics*. *Cancer J Clin* 1994; 44: 7-26.
8. Schoel WMJ, Pieber D, Reich O, Lahousen M, Janicek M, Winter R. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in ovarian carcinoma; quantification of endothelial immunoreactivity by image analysis. *Cancer* 1997; 80:2257-62.
9. Deyoung BR, Wick MR, Fitzgibbon JF, Sirgi KF, Swanson PE: CD31 an immunospecific marker for endothelial differentiation in human neoplasm. *Appl Immunohistochem* 1: 97-100,1993.
10. Goldberger A, Middleton KA, Oliver JA, Paddock C, Yan HC, Delisser HM, Aldelda SM, Newman PJ; Biosynthesis and processing of the cell adhesion molecule PECAM-1 includes production of a soluble form. *J Biol Chem* 269: 17183-191,1994.
11. Kohn EC, Liottz LA. Molecular insights into cancer invasion: strategies for prevention and intervention. *Cancer Res* 1995; 55: 1856-62.
12. Ozols RF and Rubin SC. Epithelial ovarian cancer. In : W.J. Hoskins (ed), *Principles and Practice of Gynecologic Oncology*, P. 731 Hagerstown, MD: J B Lippincott Company, 1992.
13. Hollinsworth HC, Elise CK, Steinberg SM, Rothenberg ML, Merino MJ. Tumor angiogenesis in primary and metastatic epithelial and ovarian carcinoma. *Am J Pathol*. 147. 33-41, 1995.
14. Abulafia O, Triest WE and Sherer DM. Angiogenesis in primary and metastatic epithelial ovarian carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 177. 541-547.
15. Alvarez AA., Axelrod JR, Whitaker RS, Isner PD, Bentley RJ et al. Thrombospondin-1 expression in epithelial ovarian carcinoma: association with p53 status, tumor angiogenesis, and survival in platinum-treated patients. *Gynecol Oncol* 2001 Aug;82 (2):273-8.