

Evre IV küçük hücreli dışı akciğer kanserinde serum vasküler endotelial büyüme faktörü ve Bcl-2 düzeyleri ve aralarındaki ilişki

The levels of serum vascular endothelial growth factor and Bcl-2 and association between them in stage IV non-small cell lung cancer

Esra Ertan YAZAR,¹ Hilal Oğuz SOYDİNÇ,² Aziz YAZAR,³ Akif ÖZGÜL,¹ Faruk TAŞ,³
Vildan YASASEVER,² Hakan ÇAMLICA,⁴ Veyssel YILMAZ¹

¹Yedikule Göğüs Hastalıkları, Tüberküloz ve Göğüs Cerrahi Araştırma ve Uygulama Hastanesi; İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, ²Temel Onkoloji Anabilim Dalı, ³Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, ⁴Preventif Onkoloji Anabilim Dalı

AMAÇ

Tümörlerin çoğunda vasküler endotelial büyüme faktörü (VEBF) angiogenik etkisini Bcl-2 onkoproteinini artırarak göstermektedir. Bu çalışmadaki amacımız evre III ve evre IV hücreli dışı akciğer kanserinde (KHDAK) VEBF ve Bcl-2 düzeylerini ve aralarındaki olası ilişkiyi araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya 28 evre III ve 24 evre IV KHDAK'li hasta ile kontrol grubuna sağlıklı 25 kişi alındı. ELISA yöntemi ile serum VEBF ve Bcl-2 düzeyleri çalışıldı.

BULGULAR

VEBF (pg/ml) düzeyi evre IV (116.7±151.7) ile evre III (116.2±140.6) hastalarda kontrollere (34.5±6.3) göre oldukça yüksek bulundu (p<0.0001). Evre IV ile evre III arasında VEBF açısından bir farklılık saptanmadı. Üç grupta ölçülen Bcl-2 düzeyi farklı değildi (p=0.15). Grupların hiçbirinde VEBF ile Bcl-2 arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (p=0.109).

SONUÇ

Evre IV KHDAK'li hastalarda VEBF düzeyi evre III hastalardan daha yüksek değildi. Evre IV KHDAK'li hastalarda VEBF ile Bcl-2 arasında olası ilişkiyi ortaya çıkarmak için daha fazla angiogenik, antiapoptotik sitokin ve daha fazla hasta ile yapılan çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

Anahtar sözcükler: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri; vasküler endotelial büyüme faktörü; Bcl-2.

OBJECTIVES

In most of the tumors, vascular endothelial growth factor (VEGF) shows its angiogenic effects by increasing the level of the Bcl-2 oncoprotein. The aim of this study was to investigate the serum levels of VEGF and Bcl-2 and the possible association between them in stage III and stage IV non-small cell lung cancer (NSCLC).

METHODS

Twenty eight patients in stage III, 24 patients in stage IV and 25 healthy subjects were enrolled in the study. Serum Bcl-2 and VEGF levels were analyzed by ELISA.

RESULTS

The VEGF (pg/ml) level in stage IV (116.7±151.7) and stage III (116.2±140.6) patients was higher than healthy subjects (34.5±6.3) (p<0.0001). There was no difference between stage III and stage IV patients with respect to VEGF. The Bcl-2 level was not different between the three groups (p=0.15). The correlation test didn't show any significance between VEGF and Bcl-2 in the three groups (p=0.109).

CONCLUSION

The VEGF level in stage IV was not higher than stage III patients. In order to show the possible association between VEGF and Bcl-2 in stage IV patients, we need studies including more patients, angiogenic and antiapoptotic cytokins.

Key words: Non-small cell lung cancer; vascular endothelial growth factor; Bcl-2.

Tüm dünyada küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi içeren değişik tedavi modalitelerine rağmen kanser ölümlerinde birinci sırada yerini almaktadır. Bu nedenle KHDAK'nin değişik biyolojik davranışlarını anlamak, KHDAK'li hastaların tedavilerinin ve sağkalımın daha iyiye götürülmesinde önemi büyük görünmektedir.^[1]

Apoptozis genetik olarak kontrol edilen, morfolojik olarak da kendine has bir ölüm şeklidir. Bu programın bozulmasının enflamatuvar ve dejeneratif hastalıklar ile kanserlerin patogeneğinde rol oynadığı gösterilmiştir.^[2] Bcl-2 onkoproteininin endotelial hücrelerin apoptozise uğramasını önleyerek sağ kalımlarını uzattığı bildirilmiştir.^[3]

Tümör büyümesi, progresyonu ve metastazi için angiogenezis gerekli bir olaydır. Lokal angiogenez yokluğunda tümörler 2 mm'nin ötesine büyüyemezler.^[4] Daha önceki çalışmalarda tümör angiogenezisi ile primer tümörden metastaz oluşma insidansı arasında anlamlı bir korelasyon bildirilmiştir.^[5,6] En önemli angiogenetik faktörlerden birisi olan vasküler endotelial büyüme faktörü'nün (VEBF) bu etkisini Bcl-2 onkoproteinini artırarak yaptığı gösterilmiştir.^[7-9]

Evre I-III KHDAK'li hastalarda VEBF ile Bcl-2 arasında pozitif bir ilişki bildirenlerin yanında ters bir ilişki olduğunu veya herhangi bir ilişki olmadığını bildirenler de bulunmaktadır.^[10-13] Ancak VEBF ile Bcl-2 arasındaki olası ilişki metastatik KHDAK'li hastalarda yeterince araştırılmamıştır. Bu çalışmadaki amacımız, evre IV KHDAK'li hastalarda serum VEBF ve Bcl-2 düzeylerini ve VEBF ile Bcl-2 düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya cerrahi tedavi için uygun olmayan 52 hasta alındı. Evre III grupta 28 hasta ve evre IV grupta 24 hasta bulunmaktaydı. Hastalar Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi ile İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsüne Ocak 2003 ile Nisan 2004 tarihleri arasında başvuran hastalar arasından seçildiler.

Kontrol grubu, bilinen bir malignitesi olmayan, son zamanlarda travma, cerrahi girişim, gebelik veya menstrüasyon geçirmeyen, sigara içen sağlıklı 25 bireyden oluşturuldu.

Tüm hastalardan ve kontrol grubundaki bireylerden sigara içim öyküleri paket/yıl olarak alındı. VEBF ve Bcl-2 düzey ölçümleri için periferik kan örnekleri alındı. Venöz kan örnekleme alınmadan önce hastaların hiçbirine tümöre yönelik cerrahi uygulanmamıştı (mediyastinoskopi hariç) ve hiçbir hasta kemoterapi veya radyoterapi almamıştı.

Tüm hastaların şikayetleri dinlendi, fizik muayeneleri yapıldı ve biyokimyasal testleri değerlendirildikten sonra batın ve toraks bilgisayarlı tomografisi (BT), kraniyal manyetik rezonans görüntüleme (MRG) veya BT, tüm vücut kemik sintigrafisi ve duruma göre mediyastinoskopi veya pozitron emisyon tomografisi (PET) ile evrelendirmeleri yapıldı. Histopatolojik olarak adenokarsinom, epidermoid hücreli karsinom ve hücre tipi tanısı olmayanlar KHDAK olarak sınıflandırıldılar.

VEBF (The BioSource International, Inc., USA) ve Bcl-2 (Chemicon International, USA) serum düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü.

Sıklık dağılımları ve istatistiksel karşılaştırmalar "SPSS 7.5 for Windows" (SPSS Inc., Chicago, USA) ile yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Gruplarda yaş dağılımı homojen olduğundan gruplar arası yaş farkı tek yönlü ANOVA testi ile değerlendirildi. Diğer karşılaştırmalarda ise gruplarda dağılımın geniş bir aralıkta olması nedeniyle parametrik olmayan Mann-Whitney, Kruskal-Wallis ve Spearman korelasyon testleri kullanıldı. p değerinin 0.05'ten küçük olması durumunda istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Evre III, evre IV ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.12$). Sigara içimi (paket/yıl) açısından da gruplar arasında bir fark yoktu ($p=0.071$). Tümör histolojisi evre III ile evre IV gruplarında benzerdi ($p>0.05$) (Tablo 1).

Tablo 1

Gruplarda cinsiyet, yaş ve sigara içimi açısından dağılım

	Evre III (n=28)	Evre IV (n=24)	Kontroller (n=25)
Histoloji			
Epidermoid	12	9	
Adenokanser	6	9	
KHDAK	10	6	
Cinsiyet			
Erkek / Kadın	27/1	21/3	23/2
Yaş (yıl)	60.9±11.2	57.8±10.8	54.6±11.5
Sigara (paket/yıl)	56±27.5	56.4±33.6	40.6±21.9

KHDAK: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri.

Serum VEBF düzeyi evre III grup hastalarda 1162 ± 1406 pg/ml (28.5 ile 570 arasında), evre IV grup hastalarda 116.7 ± 151.7 pg/ml (24.6 ile 610 arasında) ve kontrollerde ise 34.5 ± 6.3 pg/ml (24.5 ile 47 arasında) idi. Evre III ve evre IV gruplarında VEBF düzeyi kontrol grubuna göre oldukça yüksekti ($p < 0.0001$). Kontrol grubunda Bcl-2 düzeyi 85.2 ± 48.2 ng/ml (12.5 ile 144 arasında) evre III 71.9 ± 30.9 ng/ml (35 ile 160.1 arasında) ve evre IV 74.9 ± 55.6 ng/ml (36 ile 320.1 arasında) gruplarına göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlam taşımamaktaydı ($p = 0.15$) (Tablo 2).

Her grup ayrı ayrı incelendiğinde VEBF, Bcl-2 ile sigara içimi arasında herhangi bir anlamlı korelasyon saptanmadı ($p > 0.05$). Tüm gruplar beraber Bcl-2, VEBF ve sigara içimi açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı. VEBF ile Bcl-2 arasında istatistiksel

olarak anlamlı olmayan negatif bir korelasyon saptandı ($r = -0.184$; $p = 0.109$).

Evre III ve evre IV KHDAK'li tüm hastalar 60 yaş altı ve üstü olarak iki gruba ayrılıp VEBF ($p = 0.789$) ve Bcl-2 ($p = 0.811$) açısından karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak bir fark saptanmadı. Sigara içimi (paket/yıl) 60 yaş üstü grupta daha yüksekti ($p = 0.039$). Evre III ve evre IV gruplardaki hastaların histolojik tanılarına göre ayırıp incelendiğinde Bcl-2 ($p = 0.305$) ve VEBF ($p = 0.628$) açısından bir fark görülmedi. KHDAK'li hastalar 50 paket/yıl altı ve üstü olarak iki gruba ayrılıp incelendiğinde VEBF ve Bcl-2 açısından bir fark saptanmadı (Tablo 3).

Evre III grupta dokuz hastada ve evre IV'te yedi hastada malign plevral efüzyon bulunmaktaydı. Plevral efüzyon olanlarla olmayan hastalar VEBF ($p = 0.921$), Bcl-2 ($p = 0.513$) ve sigara içimi ($p = 0.189$) açısından fark saptanmadı (Tablo 3).

TARTIŞMA

Artmış angienez ile dolaşıma geçen tümör hücresi ve dolayısı ile metastazla doğru orantılıdır.^[14] Biz bu çalışmamızda evre III ve evre IV KHDAK'li hastalarda VEBF'yi kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek saptadık. Ancak evre III ile evre IV arasında VEBF düzeyi açısından anlamlı bir fark saptamadık. Ayrıca VEBF ile Bcl-2 arasında da anlamlı bir ilişki saptamadık.

Akciğer kanserinde mortaliteyi azaltmak amacıyla uygulanan kemoterapi ve radyoterapi pek de etkili olmadığından KHDAK'nin biyolojik davranışlarını anlamaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır.^[1,15,16] Masuya ve ark.^[15] evre I-IIIB'de olan 104 KHDAK'li hastada VEBF doku ekspresyonu ile küçük damar yoğunluğu arasında pozitif

Tablo 2

Evre III ve evre IV KHDAK ile kontrollerin serum VEBF ve Bcl-2 düzeyleri

	Evre III	Evre IV	Kontroller	p
VEBF (pg/ml)	116.2±140.6	116.7±151.7	34.5±6.3	<0.0001
Bcl-2 (ng/ml)	71.9±30.9	74.9±55.6	85.2±48.2	0.15

VEBF: Vasküler endotelial büyüme faktörü.

Tablo 3

Evre III ve evre IV KHDAK'li hastalar yaş, plevral efüzyon, tümör histolojisi ve sigara içimine göre ayrıldığında VEBF ve Bcl-2 düzeyleri

	Hasta sayısı	VEBF (pg/ml)	Bcl-2 (ng/ml)	Sigara (p/yıl)
Yaş (yıl)				
<60	29	135.8±167.4	74.8±52.3	49.6±28.4
>60	23	92.1±107.6	71.4±30.3	64.2±30.6
p		0.789	0.811	0.039
Plevral efüzyon				
Var	16	97.3±85.7	82.9±67.4	50.88±28.85
Yok	36	124.9±164.3	69.1±27.7	58.6±30.7
p		0.921	0.513	0.189
Histoloji				
Epidermoid	21*	117.7±153.9	75.4±30.1	56.5±26.9
Adeno	15	134.6±153.2	76.3±69.3	58.7±41.5
KHDAK	16	97.7±129.1	67.8±26.9	53.4±21.9
Sigara (p/yıl)				
<50	26*	113.6±144.4	74.7±31.3	
>50	25	118.7±150.2	72.3±54.9	

VEBF: Vasküler endotelial büyüme faktörü; P/yıl: Paket/yıl; *: Hastaların birinde sigara içme öyküsü bulunmamaktaydı; KHDAK: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri.

bir korelasyon saptamışlar, ancak VEBF ile içilen sigara miktarı, tümör histolojisi ve tümör evresi arasında bir ilişki saptamamışlardır. Aynı çalışmada VEBF'nün kötü prognostik bir durum olan nodal tutulum ile korele olduğu bildirilmiştir.

Toomey ve ark.'nın^[16] yaptığı çalışmada ameliyat edilen KHDAK'li 61 hastanın %85'inde VEBF'nin eksprese olduğu ancak VEBF ile sağ kalım, tümör boyutu, nodal tutulum, içilen sigara miktarı (<50 paket/yıl ve >50 paket/yıl), cinsiyet ve tümör histolojisi arasında bir ilişki bulunamamışlar. Aynı çalışmada tümör dokusundaki küçük damar yoğunluğu ile VEBF ve sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bu sonuçlardan dolayı akciğer kanserinin patogenezi ve metastatik olaylarında neovaskularizasyonun rolü tartışılmaktadır. Öte yandan KHDAK'li hastalarda küçük damar yoğunluğunun bağımsız prognostik faktör olduğunu ve burada neovaskularizasyon için itici gücün VEBF olduğunu gösteren başka çalışmalar da bulunmaktadır.^[17]

Çalışmamızda KHDAK histolojisi ile VEBF veya Bcl-2 arasında bir ilişki saptamadık. Çalışmamızın bu sonucu daha önce yapılan bir kısım çalışmalar ile uyum içerisinde iken, bazı çalışmalarda VEBF'nün KHDAK histolojisi arasında farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir.^[15,16,18] Kojima ve ark.^[18] 132 KHDAK'li evre I hastada VEBF ekspresyonu oranı adenokarsinomda (94 hastanın 65'inde) epidermoid hücreli karsinoma (38 hastanın 14'ünde) göre daha yüksek oranda olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamamışlardır. Adenokanser histolojili hastalarda VEBF ve stromal timidin fosforilaz pozitif olan hastalarda negatif olanlara göre küçük damar yoğunluğunu daha yüksek ve bu hastaların prognozlarının daha kötü olduğu bildirilmiştir.

Literatürde bildirilen çalışmalarda VEBF'nin KHDAK'de ekspresyonu genellikle dokuda immunohistokimyasal tekniklerle yapılmıştır.^[15,18,19] Ancak biz çalışmamızda VEBF düzeylerini periferik venöz kanda çalıştık. Çalışmamıza benzer

şekilde yapılmış bir araştırmada KHDAK'li hastalarda VEBF ve VEBF-C düzeyleri venöz kanda ölçülmüştür.^[20] Bu çalışmada KHDAK'li hastalardaki VEBF ve VEBF-C düzeyleri sağlıklı kontrol ve benign akciğer patolojili hastalara göre daha yüksek saptanmıştır. KHDAK evresi arttıkça VEBF ve VEBF-C düzeylerinin anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir. Ancak bu çalışmadaki metastatik hasta sayısı yetersizdir (sekiz) ve evre III ile evre IV hastalar arasında VEBF açısından bir fark saptanmamıştır.^[20] Serum VEBF düzeyi ile doku ekspresyonu arasında bir korelasyon olup olmadığını araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak Tamura ve ark.^[20] serumda ölçtükleri VEBF ve VEBF-C düzeylerinin lenf nodu metastazı ile korele olduğunu ve bu sonucun daha önce başka çalışmalarda dokuda bakılan VEBF ekspresyonu ile de uyumlu olması nedeniyle serumda VEBF bakılmasının güvenilir bir yöntem olduğunu savunmuşlardır. VEBF salgılanan bir sitokin olduğundan serum düzeyinin ölçülmesi makul olabilir.^[21]

Ameliyat edilebilir evredeki (evre I-III) KHDAK'de genellikle evreler arasında VEBF açısından bir fark gösterilmemiş olmakla birlikte tarayabildiğimiz kadarıyla evre III ile evre IV hastalar arasında fark olup olmadığını araştıran bir çalışmaya rastlayamadık. VEBF'nin angiogenezi artırması yoluyla tümör hücrelerinin damar içine geçişlerini ve metastazı potansiyelize etmesi nedeniyle evre IV grubundaki hastalarda VEBF düzeyini evre III gruba göre daha yüksek beklerdik. Ancak çalışmamızda VEBF düzeyi açısından evre III ile evre IV arasında bir fark saptamadık. Bu durumun muhtemelen tümör heterojenitesinden ve değişik biyolojik özellikler taşıyan hücre subpopulasyonlarından kaynaklanabileceğini veya angiogenezi stimüle eden hücrelerin dolaşımında sağ kalmayıp metastatik zinciri tamamlayamamasına bağlı olabileceğini düşündük.

Diğer tümör türlerinde VEBF'nin oluşturduğu angienez ve endotel hücre sağkalımının artmış Bcl-2 düzeyi ile ilgili olduğunu bildiren çalışmaların^[7,8,22] neticesinde KHDAK'li hastalarda VEBF ile Bcl-2 arasında muhtemel ilişkinin varlığını arayan çalışmalara başlanmıştır. Koukourakis ve ark.^[12] 216 ameliyat edilmiş KHDAK dokusunda

Bcl-2 ekspresyonunun küçük damar yoğunluğu ile ters orantılı olduğunu saptamışlardır. KHDAK'li hastalarda yapılan başka bir çalışmada VEBF'nin yüksek vasküler grad ile pozitif bir ilişki gösterdiği ancak Bcl-2 ve c-erbB-2 onkoprotein ekspresyonları ile bir ilişki göstermediği bildirilmiştir.^[13] Son zamanlarda ileri evre KHDAK'de yapılan bir çalışmada VEBF ile Bcl-2 arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir ilişki saptanmıştır.^[19] Biz de çalışmamızda evre III ve evre IV hastalarda VEBF ile Bcl-2 arasında da bir ilişki saptamadık.

Yapılmış olan deneysel bir çalışmada akciğer adenokarsinom hücrelerinin plevral efüzyon oluşturmasında VEBF'nin sorumlu olduğu gösterilmiştir.^[23] Bu durumda VEBF sadece angiogenesis için değil, vasküler hiperpermeabilityyi uyurarak akciğer kanserinde plevral efüzyon oluşumu için de gerekli olduğu görülmektedir. Ancak bizim çalışmamızda plevral efüzyonu olan toplam 16 hasta saptadık ve plevral efüzyon olanlarla olmayanlar arasında VEBF açısından bir fark saptamadık.

Sonuç olarak bu çalışmada evre III ve evre IV KHDAK'li hastalarda VEBF düzeyini kontrol grubuna göre daha yüksek saptadık. Ancak VEBF düzeyi açısından evre III ve evre IV hasta grupları arasında bir fark saptamadık. Çalışmamızın konusunun daha fazla hasta ile ve daha fazla angiogenik ve antiapoptotik sitokinlerin çalışıldığı bir başka çalışmada araştırılmasının gerektiği görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Ohta M, Tsuchiya R, Shimoyama M, Sawamura K, Mori T, Miyazawa N, et al. Adjuvant chemotherapy for completely resected stage III non-small-cell lung cancer. Results of a randomized prospective study. The Japan Clinical Oncology Group. J Thorac Cardiovasc Surg 1993;106(4):703-8.
2. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science 1995;267(5203):1456-62.
3. Kondo S, Yin D, Aoki T, Takahashi JA, Morimura T, Takeuchi J. bcl-2 gene prevents apoptosis of basic fibroblast growth factor-deprived murine aortic endothelial cells. Exp Cell Res 1994;213(2):428-32.
4. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? J Natl Cancer Inst

- 1990;82(1):4-6.
5. Yano S, Nishioka Y, Goto H, Sone S. Molecular mechanisms of angiogenesis in non-small cell lung cancer, and therapeutics targeting related molecules. *Cancer Sci* 2003;94(6):479-85.
 6. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, Squartini F, Angeletti CA. Relation of neovascularisation to metastasis of non-small-cell lung cancer. *Lancet* 1992;340(8812):145-6.
 7. Dias S, Shmelkov SV, Lam G, Rafii S. VEGF(165) promotes survival of leukemic cells by Hsp90-mediated induction of Bcl-2 expression and apoptosis inhibition. *Blood* 2002;99(7):2532-40.
 8. Beierle EA, Strande LF, Chen MK. VEGF upregulates Bcl-2 expression and is associated with decreased apoptosis in neuroblastoma cells. *J Pediatr Surg* 2002;37(3):467-71.
 9. Nör JE, Christensen J, Liu J, Peters M, Mooney DJ, Strieter RM, et al. Up-Regulation of Bcl-2 in microvascular endothelial cells enhances intratumoral angiogenesis and accelerates tumor growth. *Cancer Res* 2001;61(5):2183-8.
 10. Huang CI, Neuberg D, Johnson BE, Wei JY, Christiani DC. Expression of bcl-2 protein is associated with shorter survival in nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 2003;98(1):135-43.
 11. Higashiyama M, Doi O, Kodama K, Yokouchi H, Nakamori S, Tateishi R. bcl-2 oncoprotein in surgically resected non-small cell lung cancer: possibly favorable prognostic factor in association with low incidence of distant metastasis. *J Surg Oncol* 1997;64(1):48-54.
 12. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, O'Byrne KJ, Cox J, Krammer B, Gatter KC, et al. bcl-2 and c-erbB-2 proteins are involved in the regulation of VEGF and of thymidine phosphorylase angiogenic activity in non-small-cell lung cancer. *Clin Exp Metastasis* 1999;17:545-54.
 13. Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Kakolyris S, Turley H, O'Byrne K, Scott PA, et al. Vascular endothelial growth factor, wild-type p53, and angiogenesis in early operable non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 1998;4(12):3017-24.
 14. Gridelli C, Rossi A, Maione P. New antiangiogenic agents and non-small cell lung cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006;60(1):76-86.
 15. Masuya D, Huang C, Liu D, Kameyama K, Hayashi E, Yamauchi A, et al. The intratumoral expression of vascular endothelial growth factor and interleukin-8 associated with angiogenesis in nonsmall cell lung carcinoma patients. *Cancer* 2001;92(10):2628-38.
 16. Toomey D, Smyth G, Condron C, Kay E, Conroy R, Foley D, et al. Immune function, telomerase, and angiogenesis in patients with primary, operable non-small cell lung carcinoma: tumor size and lymph node status remain the most important prognostic features. *Cancer* 2001;92(10):2648-57.
 17. Fontanini G, Lucchi M, Vignati S, Mussi A, Ciardiello F, De Laurentiis M, et al. Angiogenesis as a prognostic indicator of survival in non-small-cell lung carcinoma: a prospective study. *J Natl Cancer Inst* 1997;89(12):881-6.
 18. Kojima H, Shijubo N, Abe S. Thymidine phosphorylase and vascular endothelial growth factor in patients with Stage I lung adenocarcinoma. *Cancer* 2002;94(4):1083-93.
 19. Ludovini V, Gregorc V, Pistola L, Mihaylova Z, Floriani I, Darwish S, et al. Vascular endothelial growth factor, p53, Rb, Bcl-2 expression and response to chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2004;46(1):77-85.
 20. Tamura M, Ohta Y. Serum vascular endothelial growth factor-C level in patients with primary nonsmall cell lung carcinoma: a possible diagnostic tool for lymph node metastasis. *Cancer* 2003;98(6):1217-22.
 21. Ferrara N. VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors. *Nat Rev Cancer* 2002;2(10):795-803.
 22. Pidgeon GP, Barr MP, Harmey JH, Foley DA, Bouchier-Hayes DJ. Vascular endothelial growth factor (VEGF) upregulates BCL-2 and inhibits apoptosis in human and murine mammary adenocarcinoma cells. *Br J Cancer* 2001;85(2):273-8.
 23. Yano S, Shinohara H, Herbst RS, Kuniyasu H, Bucana CD, Ellis LM, et al. Production of experimental malignant pleural effusions is dependent on invasion of the pleura and expression of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor by human lung cancer cells. *Am J Pathol* 2000;157(6):1893-903.