

Meme İnvaziv Duktal Karsinomunda Anjiyogenezin Değerlendirilmesi ve Diğer Prognostik Faktörlerle İlişkisi

The Evaluation of Intratumoral Angiogenesis in Invasive Ductal Breast Carcinoma and Its Relation With the Other Prognostic Factors

Emine Dünder Ülkü Öner Nilüfer Tel
Sare Kabukçuoğlu Kısmet Bildirici

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

Özet: Anjiyogenezis var olan kan damarlarından yeni kan damarlarının gelişimi ile karakterize, tümörün büyümesi ve metastaz için anahtar rolü oynayan oldukça düzenli ve çok basamaklı bir süreçtir. Kaynaklarda yeralan son çalışmaların bir kısmında, anjiyogenezisin bir çok kanser yanısıra meme kanserinde de önemli bir prognostik faktör olduğu vurgulanmaktadır. Bu çalışmada 20 invaziv duktal meme kanseri olgusunda immun dokükimyasal olarak Faktör VIII-related antijen ile tümör içi damar yoğunluğu saptanarak, anjiyogenezisin yaş, histolojik derece, lenf düğümü metastazı, tümör çapı ve tümör hücrelerinin proliferasyon indeksi ile olan ilişkisinin araştırılması amaçlandı. İstatistiksel olarak bu faktörlerden yalnız lenf düğümü metastazı ile ileri derecede önemli bir ilişki bulundu ($p<0.01$).

Key Words: Anjiyogenezis, invaziv duktal meme kanserinin

Summary: Angiogenesis is a highly regulated, multistep process by which new blood vessels are formed from preexisting ones. It is essential for tumor growth and metastasis. In some recent studies, it has been demonstrated to be an important prognostic factor in invasive breast carcinoma. In this study intratumoral microvessel density was examined in 20 invasive ductal carcinoma. The correlations between angiogenesis and age, histologic grade, tumor size, axillary lymph node status were evaluated. Statistically significant association was found between angiogenesis and lymph node metastasis ($p<0.01$)

Anahtar Sözcükler: Angiogenesis, invasive ductal breast carcinoma

Kadınlarda kanser nedenli ölümlerde ilk sırayı alan ve en sık görülen tümör meme kanseridir (1). Klinik ve patolojik çok sayıdaki faktör heterojen yapıdaki bu tümörün prognozunu etkilemektedir. Prognozu etkileyen bu faktörlerin en önemlilerinden biri de lenf düğümü metastazıdır. Ancak lenf düğümü metastazı olmayan

olguların % 30 kadarında tümörün rekürrens göstererek hızlı bir klinik seyir izlemesi, bu tümörün biyolojik davranışını saptamada yeni prognostik parametrelere olan gereksinimi ortaya koymaktadır (2).

Anjiyogenezis, yani var olan kan damarlarından yeni kan damarlarının gelişmesi tümörün büyümesi ve metastaz

oluşumunda anahtar rol oynayan bir faktördür. Primer ya da metastatik bir tümörün 1-2 mm³ den daha çok büyüye-bilmesi için de anjiyogenezis gereklidir (3-5).

Son zamanlarda yapılan pek çok çalışmada, değişik tümör-lerde, anjiyogenezisin bir göstergesi olan tümör içi damar yoğunluğu ile metastaz riski ve yaşam süresi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır (2-19).

Bu çalışmanın amacı 20 invaziv duktal meme kanseri olgu-sunda tümör içi damar yoğunluğunun; yaş, tümör çapı, derece, metastatik lenf düğümü sayısı ve tümör hücrelerinin proliferasyon derecesi gibi ölçütler ile olan ilişkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında invaziv duktal karsinom tanısı alan, mastektomi uygulanmış olgulardan 20'si yeniden gözden geçirildi. Tüm olgularda yaş, primer tümör çapı ve lenf düğümü durumuna ait bilgiler hasta dosyaları ve patoloji raporlarından elde edildi. Diğer ölçütlerden histolojik derece, her olguya ait H+E kesitlerinden en uygunu seçilerek modifiye Bloom Richardson kriterlerine göre saptandı. Aynı blok-tan elde edilen ortalama 5 mikron kalınlığındaki kesitlere immün dokukimyasal olarak tümör içi damar yoğunluğunu saptayabilmek amacıyla Factor VIII related antigen (F VIII/DAKO) ve tümör hücre-lerinin proliferatif aktivitesini saptayabilmek için de Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA/DAKO) uygulandı. İmmün dokukimyasal boyama standart metotla çift boyama üniversal kiti kullanılarak yapıldı.

F VIII immün dokukimyasal boyasının değerlendirilmesi: Tümör içi damar yoğunluğunu saptamak için her olguda küçük büyütme (x10) ile en yoğun boyanma gösteren tümör alanındaki damarlar 20'lik objektif (x200 = 0.74 mm) ile sayıldı. Bu alanda komşu damar yapıları, tümör hücre-leri ve bağ dokusu elemanlarından açıkça ayrılabilen her türlü koyu kahverengi, siyah renkli boyanma lümen yapısı görülme-se de endotelial hücre kümesi olarak kabul edildi.

PCNA immün dokukimyasal boyasının değerlendirilmesi: Bin adet tümör hücresinde, çekirdeğinde kahverengi boyanma bulunanlar, boyanma yoğunluğuna bakılmak-sızın saptanarak PCNA indeksi bulundu. Pozitif hücre oranı % 0-25 arasında ise 1, % 25-75 arasında ise 2, % 75'in üzerinde ise 3 olarak değerlendirildi.

Sonuçlar

Çalışma kapsamına alınan olguların özellikleri ile F VIII ve PCNA immün dokukimyasal boyamalarının sonuçları Tablo I' de görülmektedir.

Olguların ortalama yaşı 47.7 olup, yaş sınırı 29 ile 74 arasında değişmektedir.

Tümör boyutunu belirlemek için en büyük çap baz alınmıştır, tümör çapları 1 ile 12 cm arasında değişmektedir.

Olguların 16'sında (% 80) sayıları 1-31 arasında değişen aksiller lenf düğümü metastazı bulunurken, 4 olguda (% 20) lenf düğümü metastazı saptanmadı.

Olguların 7'si (%35) derece I, 6'sı (%30) derece II, 7'si ise (%35) derece III olarak değerlendirildi.

PCNA indeksi : %0-25.....(1).....12 olgu (%60)
%25-75.....(2).....6 olgu (%30)
%75 üstü.....(3).....2 olgu (%10)

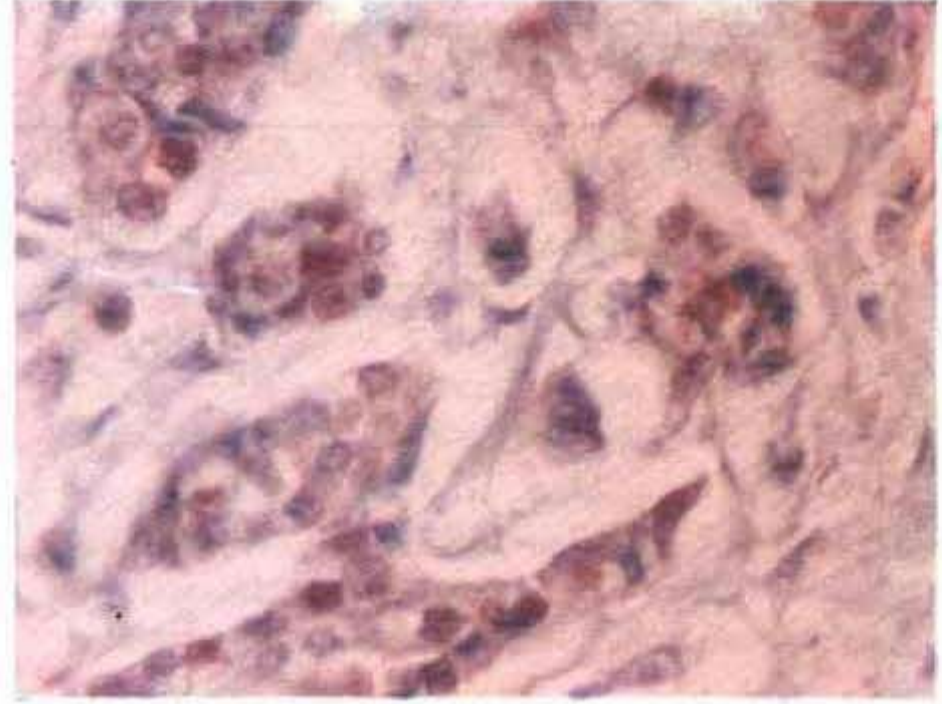
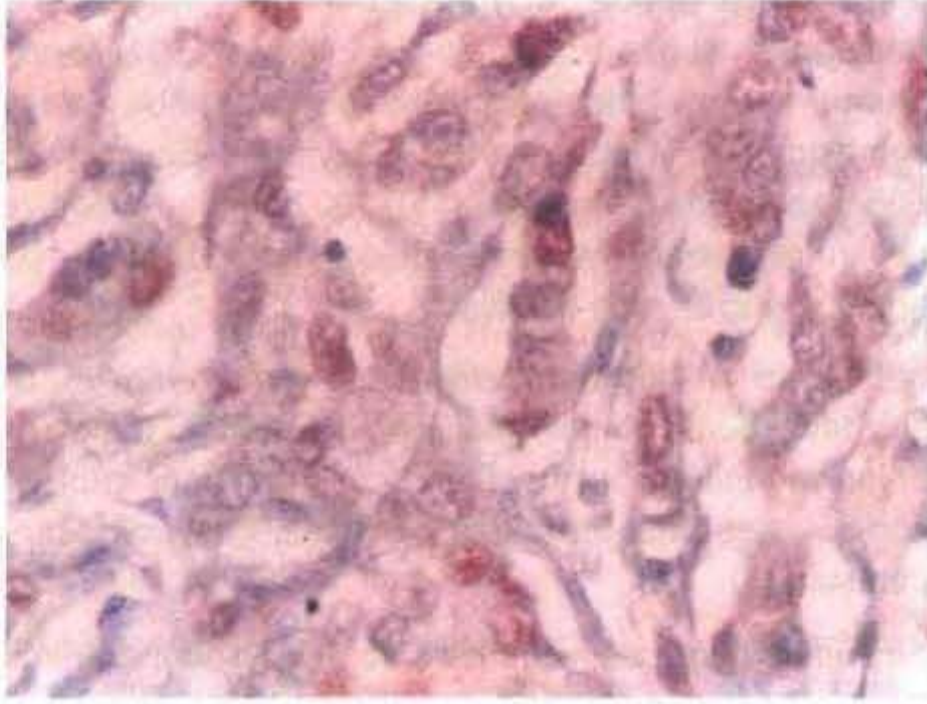
olarak saptandı (Resim 1-4).

Tümör içi damar yoğunluğu 14-108 arasında değişmekte olup, ortalama 47.5 bulundu (Resim 2-5). İstatistiksel değerlendirme Spearman's Pearson korelasyon testi kullanılarak yapıldı. Tümör içi damar yoğunluğu ile yaş, tümör çapı, histolojik derece ve PCNA indeksi arasında anlamlı bir ilişki saptanmazken ($p>0.05$), lenf düğümü metastazı ile önemli düzeyde anlamlı ($p<0.01$) ilişki saptandı.

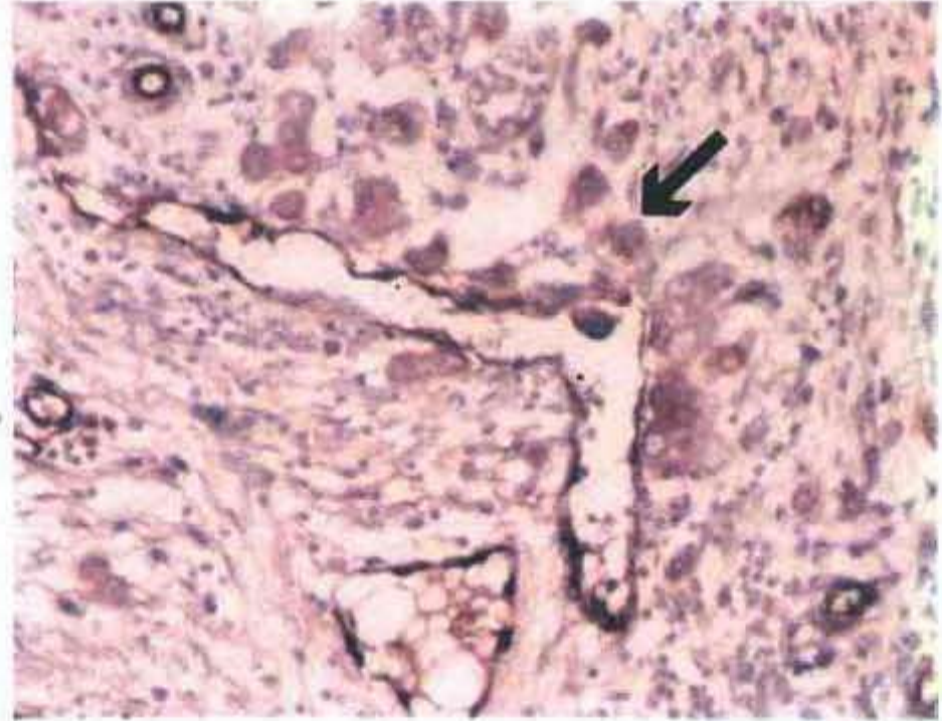
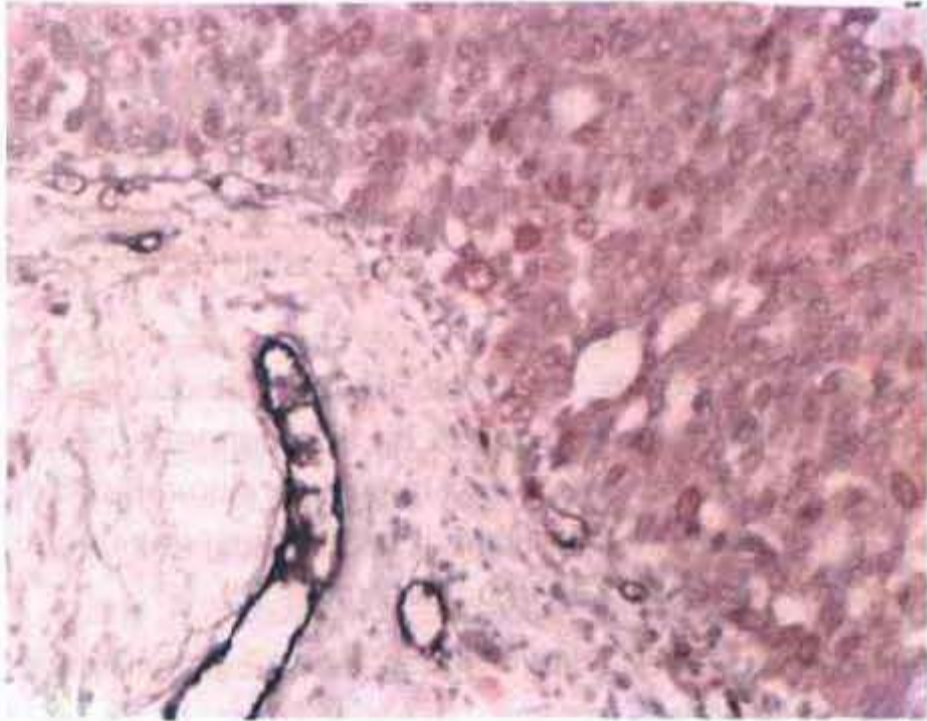
Tartışma

Gelişmiş olan ülkelerde kardiyovasküler hastalıklardan sonra en sık ikinci ölüm nedeni malign tümörlerdir (1). Çağdaş tıpta sağaltım alanındaki tüm gelişmelere karşın prognozları halen oldukça kötü olan bu hastalıklarda, olguların çoğu primer tümörün lokal komplikasyonlarından çok metastazlar nedeniyle yaşamını yitirmektedir (10).

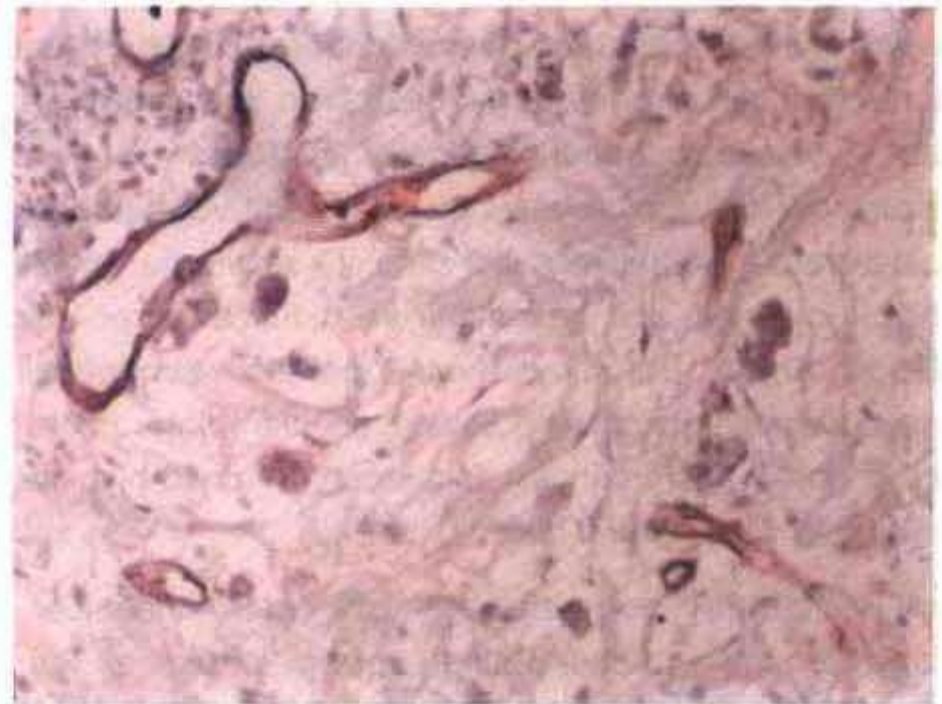
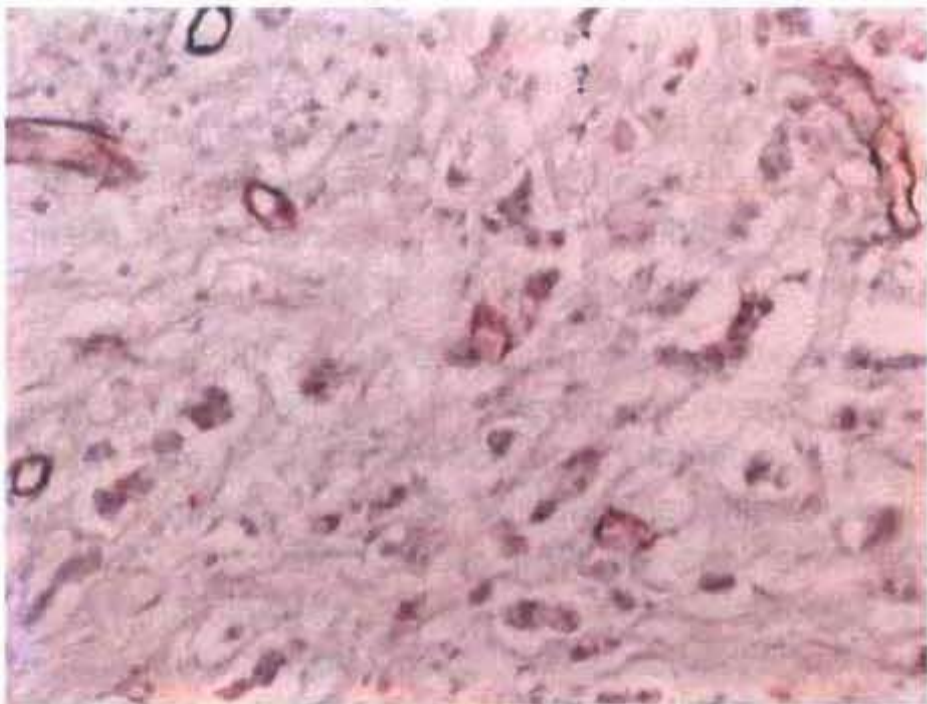
Geçtiğimiz on yıl boyunca yapılan bir çok araştırmanın sonucunda, metastazın moleküler mekanizmaları büyük ölçüde ortaya konmuştur. Ana tümör kitlesinden tümör hücrelerinin kopması, hücre dışı matriksin çözünmesi, tümör hücrelerinin apoptozisinin engellenmesi, hücre dışı matriks içinde hareket edebilme, dolaşımda bulunan immünolojik faktörlerden kaçabilme, endotel hücrelerine yapışma, hedef noktaya gelindiğinde damar dışına çıkabilme ve burada anjiyogenezi uyarabilme gibi basamakların her biri metastaz oluşumunda rol oynayan ve moleküler düzeyde gerçekleşen olaylardır (10).



Resim 1-2. Tümör hücrelerinde PCNA varlığı (PCNAx400)



Resim 3-4. Tümör hücrelerinin nukleusunda kahverengi PCNA boyanması ile stromada F VIII ile siyah renkte boyanmış damarlar (PCNA ve F VIII x200).



Resim 5. Tümör içinde F VIII ile boyanma gösteren damar yapıları (F VIII x80) .

Tablo I. Dizideki olguların özellikleri ile tümör içi damar yoğunluğu ve PCNA indeksleri

BIOPSİ No	YAŞ	DERECE	LENF DÜĞÜMÜ METASTAZI	TÜMÖR ÇAPI	TÜMÖR İÇİ DAMAR YOĞUNLUĞU	PCNA İNDEKSİ
265/96	31	3	1	3.5	56	2
747/96	38	2	8	6	62	1
805/96	44	2	31	12	16	2
2771/96	50	3	11	4	36	3
3338/96	29	2	2	3	42	2
5137/96	58	1	11	7	52	2
6257/96	44	1	-	1	14	1
6785/96	50	1	5	4.5	40	1
5025/97	54	1	2	5.5	38	1
5311/97	48	3	3	2.5	27	2
6718/97	45	1	-	6	26	1
7056/97	53	2	2	3.8	47	1
3729/98	35	1	2	5.5	54	2
3861/98	38	3	12	3.5	81	1
6111/98	74	3	-	2	41	1
6250/98	34	3	5	1.5	34	1
6492/98	61	3	-	2	69	1
8721/98	38	2	19	3	40.5	1
1231/99	57	2	8	2	108	3
1899/99	72	2	12	4.5	57	1

Bu basamaklar gerçekleşip, tümör hücreleri uzak bir dokuya yerleştiğinde çoğalarak yeni bir lezyon oluştururlar. Tümör boyutunun 1-2 mm³'den daha çok büyüebilmesi için vaskülarizasyon gelişimi, yani anjiyogenez gereksinim vardır (3-5,10).

Anjiyogenezis var olan kan damarlarından yeni kan damarlarının oluşumu ile sonuçlanan ovulasyon, menstrüasyon, gebelik, pre ve postnatal doku gelişimi ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik durumlar yanısıra dejeneratif ve metabolik hastalıklar ile neoplaziler gibi patolojik olaylarda önemli bir rol oynayan çok basamaklı ve oldukça düzenli bir süreçtir (9,11). Bu sürecin nasıl geliştiği, tam olarak ortaya konamamış olmakla birlikte, çoğalan tümör hücreleri ve konak hücrelerinden salgılanan en az 13 biyolojik maddenin etkili olduğu bilinmektedir (5).

Son yıllarda anjiyogenezisin prognostik önemini değerlendirmek amacıyla meme, prostat, ağız içi, larinks, akciğer kanserleri ve melanomalarda yapılan bir çok çalışmada değişik sonuçlar elde edilmiştir (2-18).

Meme kanserlerinde anjiyogenezis ile lenf düğümü metastazı oluşumu arasındaki ilişki ilk kez 1991 yılında Weidner ve ark.'larının yaptıkları bir çalışmada ortaya konmuştur (12). Daha sonra 1992 yılında Bosari (13), 1995 yılında Fox (14) ve Toi (15), 1997 yılında Karelia ile ark.'larının (16) yapmış oldukları çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Weidner ve ark.'ları tarafından 1992 yılında yapılan, ilk çalışmaya benzer nitelikteki ikinci çalışmada tümör içi damar yoğunluğunun metastaz yanısıra tümör çapı ve histolojik derece ile de anlamlı bir ilişki gösterdiği saptanmıştır (17).

Çalışmamızda da anjiyogenezis ile aksiller lenf düğümü metastazı arasında, birinin artması halinde diğersinin de artması şeklinde, ileri derecede önemli bir istatistiksel ilişki bulunurken ($p<0.01$), yaş, tümör çapı, histolojik derece, PCNA indeksi ile bir ilişki saptanamamıştır ($p>0.05$).

Miliaras ve ark.'ları tarafından 1995 yılında yapılan çalışmada ise anjiyogenezis ile lenf düğümü metastazı, yaş, tümör çapı, tümör tipi ve histolojik derece arasında bir ilişki gösterilememiş ancak yaş ile anlamlı bir ilişkinin olduğu ortaya konmuştur (18).

Marin'ho ve ark.'ları tarafından 1997 yılında yapılan benzer nitelikteki bir çalışmada da anjiyogenezis ile lenf düğümü metastazı, tümör çapı, histolojik derece, piloidi, p53 içeriği arasında bir ilişki saptanamamış, yalnız yaş ile anlamlı bir ilişkinin olduğu belirtilmiştir (2).

Kaynaklarda elde edilen sonuçların değişkenliğinde, teknik uygulama ayrımının, meme kanserinin oldukça heterojen nitelikte olmasının, çalışma kapsamına alınan olgu sayısının önemli bir rol oynayabileceği öne sürülmektedir (2).

Çalışmamızda olgu sayısı az olmakla birlikte, kaynaklarda yer alan çalışmaların büyük bir bölümünde anjiyogenezis ile tümör hücre proliferasyonu arasında bir ilişkinin saptanamamış olması, iki parametrenin birbirinden bağımsız olduğu ve değişik mekanizmalar ile düzenlendikleri sonucunu düşündürmüştür (2,3,13,17).

İnvaziv duktal meme kanserli 20 olguda tümör dokusundaki anjiyogenezisin prognostik önemini değerlendirmek amacıyla yaptığımız çalışmada tümör içi damar yoğunluğu ile aksiller lenf düğümü metastazı arasında önemli düzeyde anlamlı bir ilişki saptanmıştır. İleri dönemde olgu sayısını arttırarak yapılacak benzer nitelikteki çalışmalar ile bu konuda daha kapsamlı bilgiler edinmenin ve bu bilgilerin rutin uygunlayım alanında girebileceği düşüncesindeyiz.

Kaynaklar

1. National Cancer Control Programmes, 1 st ed. England: World Health Organization, 1995; 5-13.
2. Marinho A, Soares R, Ferro J, Lacerda M. Angiogenesis in breast cancer is related to age but not to other prognostic parameters. *Pathol Res Pract* 1997; 193: 267-73.
3. Vartanian RK, Weidner N. Correlation of intratumoral endothelial cell proliferation with microvessel density (tumor angiogenesis) and tumor cell proliferation in breast carcinoma. *Am J Pathol* 1994, 144: 1188-94.
4. Molecular Oncology Group. Antiangiogenesis for cancer. *The Lancet* 1997; 349: 13-15.
5. Murray J, Carlson GW, Mc Laughlin K, Pennington M. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in laryngeal cancer. *Am J Surg* 1997; 174: 523-26.
6. Albo D, Granick MS, Jhala N, Atkinson B. The relationship of angiogenesis to biological activity in human squamous cell carcinomas of the head and neck. *Ann Plast Surg* 1994; 32: 588-94.
7. Moriyama M, Kumagai S, Kawashiri S, Kojimak K. Immunohistochemical study of tumour angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 1997; 33: 369-74.
8. Weidner N, Carroll PR, Flax J, Blumenfeld W. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostatic carcinoma. *Am J Pathol* 1993; 143: 401-9.
9. Pavlopoulos PM, Konstantinidou AE, Agapitos E, Kavantzias N. Morphometric study of neovascularization in colorectal carcinoma. *Cancer* 1998; 83: 2067-75.
10. Böhle AS, Kalthoff H. Molecular mechanisms of tumor metastasis and angiogenesis. *Langenbeck's Arch Surg* 1999; 384: 133-40.
11. Saledo R, Wasseman K, Young H, Grim M. Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor induce expression of CXCR4 on human endothelial cells in vivo neovascularization induced by stromal derived factor-1. *Am J Pathol* 1999; 154:
12. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis -correlation in invasive breast carcinoma. *J Engl Med* 1991; 324: 1-8.
13. Bosari S, Lee AK, DeLellis RA, Wiley BD. Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma. *Hum Pathol* 1992; 23: 755-61.
14. Fox SB, Turner GDH, Leek RD, Whitehouse RE. The prognostic value of quantitative angiogenesis in breast cancer and role of adhesion molecule expression in tumor endothelium. *Breast Cancer Res Treat* 1995; 36: 219-26.
15. Toi N, Inada K, Suzuki H, Tominaga T. Tumor angiogenesis in breast cancer: Its importance as a prognostic indicator and the association with vascular endothelial growth factor expression. *Breast Cancer Res Treat* 1995; 36:193-204.
16. Karelia NH, Patel DD, Balar DB, Desai NS. Prognostic significance of tumor angiogenesis in advanced breast carcinoma: An Indian experience 1997; 44:163-66.
17. Weidner N, Folkman J, Pozza F, Bevilacqua P. Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1875-87.
18. Miliaras D, Kamas A, Kalekou H. Angiogenesis in invasive breast carcinoma: is it associated with parameters of prognostic significance? *Histopathol* 1995; 26: 165-69.

Yazışma Adresi:

Dr. Emine Dündar
Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı
Meşelik - Eskişehir