

# Meme Kanserinde Angiogenesis ve Aksiller Lenf Bezi Metastazı İlişkisi

## RELATIONSHIP OF ANGIOGENESIS AND AXILLARY LYMPH NODE METASTASIS IN BREAST CANCER

Dr.Günay GÜRLEYİK\*, Dr.Dilek KÜÇÜKERCAN\*\*,  
Dr.Özlem AÇIKALIN\*\*, Dr.Önder PEKER\*\*, Dr.Abdullah SAĞLAM\*

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi\*, Patoloji\*\* Kliniği, İSTANBUL

### ÖZET

**Amaç:** Meme kanserli olgularda tümör angiogenesis değeri ile aksiller lenf bezi metastazı arasındaki ilişkinin araştırılması planlandı.

**Durum Değerlendirilmesi:** Tümör büyüyebilmek ve metastaz yapabilmek için neovaskülarizasyona ihtiyaç duyar. Primer tümörün yüksek angiogenesis değeri yüksek risk göstergesi olabilir.

**Yöntem:** İnvaziv meme kanseri nedeni ile opere edilmiş 44 olguda aksiller lenf bezi metastaz durumu, tutulan lenf bezi sayısı, metastatik lenf bezindeki ekstrakapsüler yayılım varlığı araştırıldı. İmmunohistokimyasal yöntem ile primer tümörün angiogenesis değeri saptandı. Aradaki ilişkiyi bulmak için sonuçlar karşılaştırıldı.

**Çıkarımlar :** Aksiller lenf bezi metastazı ile birlikte primer tümörün ortalama angiogenesis değeri anlamlı olarak yükseldi ( $p=0.00536$ ). Aksiller lenf bezi negatif olgularda tümör büyüklüğüne göre angiogenesis artış ( $p=0.068$ ) bulundu, vasküler invazyon olan tümörlerde olmayanlara göre angiogenesis değeri ( $p=0.07$ ) yükselmektedir. Aksiller lenf bezi pozitif olgularda ise metastatik lenf bezi sayısı arttıkça ( $p=0.044$ ) ve ekstrakapsüler yayılım varlığında ( $p=0.0058$ ) anlamlı angiogenesis artışı bulundu.

**Sonuçlar :** Meme kanserinde tümörün büyümesi ve lenfatik metastaz yeteneği angiogenetik potansiyele bağımlıdır. Metastatik evre ilerledikçe tümör angiogenesis değeri artmaktadır. Standardizasyon sağlanıp rutin olarak belirlenebildiğinde primer tümörün angiogenesis değeri risk göstergesi olabilir.

**Anahtar kelimeler :** Meme, kanser, lenf bezi, invazyon, metastaz, angiogenesis

### SUMMARY

The aim of the present study is to evaluated the relationship of tumor angiogenesis with axillary lymph node metastasis in patients with breast carcinoma. Solid tumors need neovascularisation for growing and metastatic activity. High angiogenesis of primary tumor may be a high risk index. Axillary lymph node metastasis, number of metastatic lymph node, extracapsular invasion of metastatic lymph node was determined in 44 patients operated on for invasive ductal carcinoma. Angiogenesis value of primary tumor was also determined with immunohistochemical method. Results were compared in order to establish the relationship. Mean angiogenesis value of primary tumors significantly increased with axillary node metastasis ( $p=0.00536$ ). An increase of angiogenesis was found according to tumor size in patients without axillary nodal metastasis ( $p=0.068$ ). Angiogenesis value of tumors with vascular invasion increased ( $p=0.07$ ) when compared with tumors without invasion. We found significant increase of angiogenesis with high number of metastatic lymph nodes ( $p=0.044$ ) and existence of extracapsular invasion ( $p=0.0058$ ). Tumor growing and metastatic ability is dependent to angiogenetic potential in breast carcinoma. Angiogenesis of the primary tumor increases while metastatic stage advancing. Angiogenesis may be a risk marker when determined routinely with good standardization.

**Keywords:** Breast, carcinoma, lymph node, invasion, metastasis, angiogenesis

Meme kanserli hastalarda yararı araştırılmış pek çok prognostik faktör olmasına rağmen bugün için kabul gören en önemli prognostik faktör aksiller lenf bezi tutulumudur (1,2). Ancak aksiller lenf bezi tutulumu olmayan olgularda bile 10 yıl içinde %30 oranında rekürrens görülmesi meme kanserinin heterogen bir hastalık olduğunu ve aslında primertümörün mikroskopik özelliklerinin, biyolojik ve moleküler davranışının klinik seyri belirlediğini ortaya koymaktadır (3,4). Deneysel çalışmalar solid tümör hücrelerinin büyümesinde, metastazında ve prognozunda angiogenезisin önemini göstermiştir (5). Angiogenetik moleküler endotel hücre aktivasyonu, progresyonu, kemotaksisini uyardı (6). Tümörde neovaskülarizasyonun sayısal olarak belirlenmesi amacıyla meme kanserinde ilk kez Weidner ve ark.'nın (7) ışık mikroskopunda tümörün ortalama mikrodamar yoğunluğunu (angiogenesis) sayısal olarak gösteren yöntemi tanımlamasından sonra angiogenesisin prognostik önemi üzerindeki araştırmalar yoğunlaşmıştır.

Bu çalışmada meme kanserinde en önemli prognoz belirleyici ve adjuvan tedavi kararının verilmesini sağlayan aksiller lenf bezi tutulumu ve tümörün mikrodamar yoğunluğu arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmaktadır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

1997-2001 tarihleri arasında invaziv duktal kanser nedeni ile modifiye radikal mastektomi ya da geniş lokal eksizyon, aksiller diseksiyon yapılan Evre I ve II 44 hasta çalışmaya dahil

edildi. Lenf nodu diseksiyonu sonucu ortalama 15.6 (10-26) lenf nodu çıkarıldı. Patolojik anatomik inceleme ile tümör çapı, histopatolojik grad (Modifiye Scarff-Bloom Richardson klasifikasyonu), ve aksiller lenf nodu tutulumu saptandı. Tutulan lenf nod sayısı, ekstrakapsül invazyonu bulunup/bulunmadığı belirlendi.

Tümör angiogenesis seviyesi Weidner ve ark.'ın yöntemi esas alınarak saptandı (7). Mikrodamar yoğunluğunu belirlemek amacıyla Ultra-streptavidin Detection (NeoMarkers Reu 052099 A, USA) sistemi ile aynı firma tarafından üretilmiş olan monoklonal CD 34 (Q End/10) antikoru kullanarak immünohistokimyasal inceleme yapıldı. Antikoru dilüsyon oranı 1/50 olup, kromojen (fast Red) ile inkube edildi. Angiogenesis değeri büyük büyütmede (200X) ışık mikroskopu ile sayılarak bulundu. İstatistik analiz "Fisher's exact test" ve Student's t test kullanılarak yapıldı.  $P < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

## SONUÇLAR

Aksiller lenf nodu (ALN) negatif olgularda ortalama yaş 55.2, pozitiflerde ise 55.24 idi. ALN negatif olgularda  $T_1$  tümörler %46 iken ALN pozitiflerde %31'dir ( $p=0.24$ ).  $T_1$  tümörlerde ALN negatifliği %43.8 (7/16) iken,  $T_2$  tümörlerde ise %28 (8/28) dir. ALN negatif ve pozitif olgularda tümörlerin histolojik grad'i benzer bulundu ( $p=0.67$ ). Vasküler invazyon varlığı iki grup arasında anlamlı farklıydı ( $p=0.000036$ ; Tablo 1). ALN pozitif olgularda, negatiflere göre ortalama mikrodamar yoğunluğu anlamlı yüksek

**TABLO 1: AKSİLLER LENF NODU DURUMUNA GÖRE OLGULARA AİT ÖZELLİKLER**

		Lenf nodu negatif	Lenf nodu pozitif	p
		n=15 %34	n=29 %66	
	$T_1$	7 (46)	9 (31)	
Tümör çapı				0.24
	$T_2$	8 (54)	20 (69)	
	1	2 (14)	4 (14)	
Histolojik grade				0.67
	2-3	13 (86)	25 (86)	
	Var	7 (47)	29 (100)	
Vasküler invazyon				0.000036
	Yok	8 (53)	0	
* Parantez içindeki rakamlar yüzdendir				

TABLO 2: ORTALAMA ANGIOGENEZİS DEĞERLERİ

		Lenf nodu negatif		Lenf nodu pozitif	
		99.13±38.1		132±34.1	0.00536
	T1	82.5±28		131±35.8	0.0076
Tümör çapı			p=0.068		p=0.895
	T2	118.1±41		132.9±34.3	0.361
	Yok	82.63±29.3			
Vasküler invazyon			p=0.07		
	Var	118±40.1		132.3±34.1	0.34

bulundu ( $p=0.00536$ ). ALN negatif olgularda angiogenezis değeri tümör büyüklüğüne göre artarken ( $p=0.068$ ), pozitiflerde tümör çapına göre angiogenezis değerleri yaklaşık eşit bulundu ( $p=0.895$ ). İki grup karşılaştırıldığında lenf metastazlı  $T_1$  tümörlerde angiogeneziste anlamlı artış bulunurken ( $p=0.0076$ ),  $T_2$  tümörlerde artış görülmekle beraber fark anlamlı değildi ( $p=0.361$ ). ALN negatif olgularda vasküler invazyon olan tümörlerde, olmayanlara göre angiogeneziste artış ( $p=0.07$ ) gözlemlendi. Vasküler invazyon olan tümörlerde lenfatik metastaza paralel angiogeneziste artış görülmekle birlikte fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0.34$ ; Tablo 2). Aksiller lenf nodu tutulumu olan olgulardaki tutulan lenf nodu sayısına göre ortalama mikrodamar yoğunluğu değerine bakıldığında 4 ve üzerinde lenf nodu pozitiflerde anlamlı angiogenezis artışı ( $p=0.044$ ), ekstra-kapsüller yayılım saptananlarda da yüksek angiogenezis değeri bulundu ( $p=0.0058$ ; Tablo3).

### TARTIŞMA

Yeni kapiller damar oluşumu olarak tanımlayabileceğimiz angiogenezinin solid tümör gelişimi

mindeki rolü deneysel çalışmalar ile ortaya konmuştur. Tümör progresyonu ile angiogenezis yakın ilişkilidir (1,5,6,8). Weidner ve ark.'nın sayısal olarak meme tümör hücresindeki angiogenezis değerinin bulunmasını sağlayan yöntemi tanımlanmasından sonra aksiller lenf nodu pozitif ve negatif invaziv meme kanserli olgularda mikrodamar yoğunluğu ölçümü prognostik faktör incelemelerinin yapıldığı çeşitli çalışmalarda değerlendirilmiştir (7,9,10).

Tarama programlarının yaygın olarak kullanımı ile birlikte olgular daha erken evrede yakalanabildikleri için aksilla metastazı oranı düşerken (11), bu çalışmamızda cerrahi tedavi uygulanan olguların %66'sındaki ALN pozitifliği olgularımızın günümüz gerçeklerine göre daha ileri evrede tanılabildiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca  $T_2$  tümörlerin fazlalığı da bu gerçeği desteklemektedir. Olgular primer tümör çapına göre değerlendirildiğinde ALN tutulumunun tümör çapı artışı ile paralellik gösterdiği bilinmekle birlikte çalışmamızda henüz aksiller metastaz yapmamış olgularda bile fazla sayıda  $T_2$  tümör bulunması tümör çapının tek başına prognozu belirlemede çok etkili olmayacağını ancak diğer faktörler ile birlikte değerlendirilmesi gerektiğini

TABLO 3: POZİTİF LENF NODU SAYISI VE EKSTRAKAPSÜLER İNVAZYON İLE ANGIOGENEZİS İLİŞKİSİ

Lenfatik metastaz durumu		Ortalama angiogenezis değeri	p
	1-3	119±37.5	
Pozitif lenf nod sayısı			0.044
	≥4	145.6±30.5	
	Yok	109.2±18.4	
Ekstrakapsüler invazyon			0.0058
	Var	144.4±34.5	

düşündürmektedir. Yeni serilerde tarama metodları sayesinde olgularda primer tümörlerin çoğunu T<sub>1</sub>'lerin oluşturduğu göz önüne alındığında çap dışında tümöre ait bazı mikroskopik özelliklerin prognostik özelliklerin araştırılması gerekli görülmektedir. Bu amaç ile çalışmamızda tümör mikrodamar yoğunluğunun lenfatik metastaz açısından gösterge etkinliği araştırıldı.

Tüm olgulara baktığımızda aksilla pozitif tümörlerdeki yüksek ( $p=0.054$ ) angiogenezis değerleri mikrodamar yoğunluğunun tümör metastaz yapma yeteneğinin iyi bir göstergesi olabileceğini göstermektedir. Nod negatif olgularımızda tümör çapına göre angiogenezis değerleri arasındaki fark tümör büyümesi için neovaskülarizasyonun önemine dikkati çekerken nod pozitif olgularda T<sub>1</sub> ve T<sub>2</sub> tümörlerdeki eşit angiogenezis değerleri mikrodamar yoğunluğunun tümörün kitlesel büyümesinin yanısıra lenfatik metastaz yapma yeteneğinin iyi bir göstergesi olabileceğine işaret etmektedir. Benzer şekilde tümör büyüklüğü arttıkça mikrodamar yoğunluğunun da arttığını ve aynı boyuttaki tümörlerde lenf bezi tutulumu olanlarda mikrodamar yoğunluğunun anlamlı bir şekilde yüksek olduğu nod pozitifliği ile angiogenezin uyum gösterdiği bildirilmektedir (9,12). Lenfatik metastazlı olgularımız metastaz yapmamış olgular ile karşılaştırıldığında özellikle T<sub>1</sub> tümörlerdeki anlamlı fark ( $p=0.0076$ ) tarama yöntemleri sayesinde giderek artan sayıda tanı alan küçük tümörlerin metastaz yeteneğini göstermesi açısından angiogenezin yararlı olabileceğini düşündürmektedir, önceki yayınlarda da küçük nod negatif olgularda angiogenezin yüksek riski göstermede etkili olduğu vurgulanmaktadır (13). Meme kanseri başta olmak üzere tüm solid tümörler invazyon, progresyon ve metastaz yapabilmek için angiogenetik aktiviteye ihtiyaç duyar. Mikrodamar yoğunluğu artışı ile aksiller lenf bezi tutulumu arasında literatürde yakın ilişki bildirilmiştir (14,15). Benzer biçimde serimizdeki lenfatik metastazlı olgulardaki yüksek angiogenezis değerleri daha önceki serilerdeki bulgularla uyum göstermektedir.

Aksilla pozitif olgularımızın tümünde tümörde vasküler invazyon saptanması ve invazyon bulunmayan tümörlerde aksilla metastazı olmaması lenfatik metastaz açısından vasküler invazyonun önemini göstermektedir. Buna karşın henüz lenfatik metastaz yapmamış tümörlerin yaklaşık yarısında vasküler invazyon tesbiti tümörün metastaz yeteneği açısından vasküler invazyonun önemli olmakla birlikte herşeyi açıklamadığını

düşündürmektedir. Bulgularımızın incelenmesinde tümörün vasküler invazyon durumuna ek olarak angiogenezis değeri tesbitinin metastaz yeteneği için ek bir yarar sağlayabileceği görülmektedir. Yüksek metastaz riskini belirlemede vasküler invazyon ve angiogenezin etkili olduğu bildirilmektedir (12,13,16). Lenfatik metastaz olmasa bile vasküler invazyon bulunan tümörlerde angiogenezis değerinin yükselmesi ve vasküler invazyonla birlikte lenfatik metastaz yapmış tümörlerdeki daha yüksek değerler angiogenezin metastaz yeteneğini tesbiti açısından yararını desteklemektedir.

Prognoz ve tedavi planlanmasında ileri evre tümör göstergesi olarak aksilla tutulumu olması ön planda değerlendirilmektedir. Ayrıca aksillası pozitif olgular arasında tutulan lenf nod sayısının artışı ve ekstrakapsüler invazyonun olması prognozu olumsuz etkileyen faktörler olarak ortaya çıkmaktadır (17,18). Nod pozitif olgulardaki bu kötü prognoz göstergelerinin tümör mikrodamar yoğunluğu ile karşılaştırmasını yaptığımızda artan nod sayısı ve kapsül dışı yayılımın yüksek angiogenezis değerleri ile uyumu görülmektedir. Önceki serilerde de aksillada 3'den fazla metastatik lenf bezi bulunduğu durumda daha yüksek mikrodamar yoğunluğu olacağı gösterilmiştir (1,17). 3'ün üzerinde lenf pozitif olgularda anlamlı ( $p=0.044$ ) angiogenezis değeri artışı, tümörün mikrodamar yoğunluğu arttıkça daha agresif davranıp metastaz yapma yeteneğine sahip olduğunu gösterir. Ayrıca lenf nodunda ekstrakapsüler invazyon bulunan olgulardaki anlamlı yüksek angiogenezis değeri bu tümörlerdeki agresif yayılım hızının bir göstergesi olabilir.

Meme kanseri angiogenetik potansiyele bağımlı bir tümör olup gelecekte antitümoral tedavi stratejilerinde antiangiogenetik tedavinin önemli bir yeri olacağı düşünülmektedir. Deneysel çalışmalarda angiogenezis inhibisyonu ile tümör hücresi çoğalması, invazyonu ve metastazı üzerinde koruyucu ve durdurucu etki sağladığı gösterilmektedir (19,20,21). Anti-angiogenetik tedaviyi yönlendirmede tümör mikrodamar yoğunluğunun saptanmasının yararı olabilir. Tümör mikrodamar yoğunluğunda anlamlı artışlar lenfatik metastaz, metastatik lenf nodu sayısının artması ve ekstrakapsüller invazyonla birlikte göstermektedir. Buna göre angiogenezis primer tümör metastatik yeteneğinin iyi bir göstergesi olabilir. Ayrıca tümör angiogenezis değerleri aksiller lenf nodu durumu ile birlikte prognoz belirlemede ek bilgiler sağlayabilir. Adjuvan

tedavi kararının verilmesinde henüz aksiller metastaz yapmamış tümörlerin yüksek angiogenezis değerleri yol gösterici olabilir. Bu konuda yeni ve geniş çalışmalara gereksinim vardır.

## KAYNAKLAR

1. Clark MG: Prognostic and predictive factors. In: Harris JR, Lippman EM, Morrow M, Osborne CK, eds. *Diseases of the Breast*. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins 2000:489-514.
2. Narita M, Nakao K, Ogino N, Nakahana M, Onishi A, Tsujimoto M: Independent prognostic factors in breast cancer patients. *Am J Surg* 1998;175:73-75.
3. Gasparini GB, Wedner N, Bevilacqua P, Palma DP, Caffo O: Tumor microvessel density, p53 expression, tumor size and peritumoral lymphatic vessel invasion are relevant prognostic markers in node-negative breast carcinoma. *Am Society Clin Oncol* 1994;12:454-466.
4. Colpoert C, Vermeulen P, Jeuris W, Van Beest P, Goovaerts G, Wevler J, Van Dam P, Dirix L, Van Marck E: Early distant relapse in "node negative" breast cancer patients is not predicted by occult axillary lymph node metastases, but by the features of the primary tumour. *J Pathol* 2001; 193:442-449.
5. Folkman J: What is the evidence that tumours are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 1990;82:4.
6. Güllüoğlu M, Dizdaroğlu F: Tümör Anjiogenezi. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 2000;5:279-290.
7. Weidner N, Semple JP, Welch W, Folkman J: Tumor angiogenesis and metastasis correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
8. Axelsson K, L-jung BE, Moore II DH, Thor AD, Chew KL, Edgerton SM, Smith HS, Mayall BH: Tumor angiogenesis as a prognostic assay for invasive ductal breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:997-1007.
9. Horak ER, Leek R, Klenk N: Angiogenesis assessed by indicator of node metastases and survival in breast cancer *Lancet* 1992;340:1120.
10. Hansen S, Grabau DA, Sorensen FB, Bak M, Vach W, Rose C: Vascular grading of angiogenesis: prognostic significance in breast cancer. *Br J Cancer* 2000; 82:339-347.
11. Vincent Salamon A, Carton M, Zafrani B, Freneaux P, Nicolas A, Masseurin B, Fourquet A, Clough K, Pouillart P, Sastre-Garau X: Long term outcome of small size invasive breast carcinoma independent from angiogenesis in a series of 685 cases. *Cancer* 2001;92: 249-256.
12. Arisio R, Sapino A, Cassoni P, Accinelli G, Cuccorese MC, Mono MP, Bussolati G: What modifies the relation between tumor size and lymph node metastases in T<sub>1</sub> breast carcinomas? *J Clin Pathol* 2000;53:846-850.
13. Kato T, Kameoka S., Kimura T, Nishikawa T, Kasajima T: Angiogenesis and blood vessel invasion as prognostic indicators for nod negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2001; 65:203-215.
14. Özgüroğlu M, Calay Z, Turan AA, Demir G, Demirelli F, Mandel MN: Meme kanserinde angiogenez ve yaşın prognostik faktör olarak değerlendirilmesi. *Meme Hastalıkları Dergisi* 1999;2:92-96.
15. Tas F, Yavuz E, Aydinler A, Saip P, Iplikçi A, Topuz E: Angiogenesis and p53 protein expression in breast cancer: Prognostic roles and interrelationships. *Am J Clin Oncol* 2000;23:546-553.
16. Gasparini C, Biganzoli E, Bonoldi E, Morabito A, Fanelli M, Boracchi P: Angiogenesis sustains tumor dormancy in patients with breast cancer treated with adjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2001;65:71-75.
17. La fonga JB, Aranda FI: Angiogenic index:a new method for assessing microvascularity in breast carcinoma with possible prognostic implications. *Breast J* 2000;6:103-107.
18. Guidi AJ, Berry DA, Broadwater G, Perloff M, Norton L, Barcos MP, Hayes DF. Association of angiogenesis in lymph node metastases with outcome of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:486-492.
19. Fox SB, Harris AL: Angiogenesis as a diagnostic and therapeutic target. In: Harris JR, Lippman EM, Morrow M, Osborne CK eds. *Diseases of the Breast*. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2000:799-809.
20. Gasparini G. Clinical significance of determination of surrogate markers of angiogenesis in breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2001; 37:97-114.
21. Shi HY, Zhang W, Liang R, Abraham S, Kittrell FS, Medina D, Zhang M: Blocking tumor growth, invasion and metastasis by maspin in a syngeneic breast cancer model *Cancer Res* 2001; 61:6845-6851.

## YAZIŞMA ADRESİ:

Dr.Günay GÜRLEYİK  
Eski Bağdat cad. No:29/9  
Altıntepe 81570 İSTANBUL