

İnvazif Meme Kanserinde Tümörün Proliferatif Aktivite ve Mikrodamar Yoğunluğunun Standart Prognostik Göstergeler ile Uyumunu

CORRELATION OF PROLIFERATIVE ACTIVITY AND MICROVESSEL DENSITY OF THE TUMOUR WITH STANDARD PROGNOSTIC MARKERS IN INVASIVE BREAST CARCINOMA

Dr. Günay GÜRLEYİK*, Dr. Dilek KÜÇÜKERCAN**, Dr. Gülderen DEMİREL***,
Dr. Emin GÜRLEYİK****, Dr. Önder PEKER**, Dr. Abdullah SAĞLAM*

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, (*) Genel Cerrahi Kliniği,
(**) Patoloji Laboratuvarı, (***) Pakize Tarzi Laboratuvarı, İSTANBUL
(****) Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi ABD, DÜZCE

ÖZET

Amaç: İnvazif meme kanserli olgularda tümör proliferatif aktivitesi ve mikrodamar yoğunluğu seviyelerinin standart prognostik göstergelerle uyumunu araştırmak.

Durum değerlendirilmesi: Standart göstergelere göre düşük riskli değerlendirilen olgularda bile önemli oranda rekürrens ve yayılım görülmesi klinik gidiş ve prognozda etkili diğer unsurlara dikkati çekmektedir. Bu nedenle standart göstergelere ek olarak tümör proliferatif aktivitesi ve metastaz yeteneğinin saptanması üzerinde durulmaktadır.

Yöntem: Cerrahi tedavi uygulanan invazif meme kanserli evre I ve evre IIA 17 olguda yaş, tümör boyutu ve histolojik grade'i, aksilla nod durumu gibi standart prognostik göstergeler belirlendi. Bu tümörlerin proliferatif aktivitesi (DNA içeriği ve S faz fraksiyonu) "flow cytometry" yöntemiyle saptandı. Metastaz yeteneği göstergesi olarak mikrodamar yoğunluğu (angiogenesis) seviyesi bulundu.

Çıkarımlar: 12 olguda (%71) T₂ tümör, 12 olguda (%71) grade 2 ve 3 tümörler, 9 olguda (%53) metastatik (nod pozitif) aksilla bulundu. Büyük (T₂) tümörlerde angiogenesis seviyeleri anlamlı (p<0.05) yüksekti. Aksilla pozitif olgularda anlamlı S faz fraksiyonu (p<0.05) ve angiogenesis (p<0.05) artışı saptandı. Anaploid tümörlerde belirgin S faz artışı (p=0.04) bulundu. Aksilla tutulumu olmayan (nod negatif) olguların %25'inde yüksek S faz, %38'inde anaploidi, %38'inde yüksek angiogenesis seviyeleri gözlemlendi.

Sonuçlar: Aksilla tutulumu olmayan olgularda önemli oranda yüksek proliferatif aktivite ve metastaz yeteneği gösteren tümörler bulunabilmektedir. Standart prognoz göstergelerine göre düşük riskli değerlendirilen olgularda, prognozu ve adjuvan tedavi planını belirlemede tümör DNA içeriği ve S faz fraksiyonunun, ayrıca mikrodamar yoğunluğu (angiogenesis) seviyesinin saptanmasının yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Meme kanseri, aksilla, flow cytometry, DNA içeriği, S faz, angiogenesis

SUMMARY

Observation of significant dissemination and recurrence rate even in breast cancer patients evaluated as low risk according to standard prognostic markers suggests influence of other factors effective on clinical course and overall prognosis. Therefore it is emphasized importance of tumour's proliferative activity and metastatic ability in addition to classical parameters. In this study we aimed to analyze correlation of tumour's proliferative activity and microvessel density with standard prognostic markers

in patients with invasive breast cancer. Classical parameters as age, size and histologic grade of the tumour, and axilla nodal status were determined in 17 surgically treated patients with stage I and IIA invasive breast carcinoma. Proliferative activity (DNA ploidy and S phase fraction) of the tumours was measured by flow cytometry. Tumour's microvessel density (angiogenesis) was also determined as a marker of metastatic ability. We found T₂ tumours in 12 (71%), grade 2 and 3 tumours in 12 (71%), and axilla node positive status in 9 (53%) patients. Angiogenesis levels were significantly higher ($p < 0.05$) in larger (T₂) tumours. S phase fraction ($p < 0.05$) and angiogenesis ($p < 0.05$) were significantly increased in patients with axillary metastasis (node positive). Higher S phase fraction levels were found in aneuploid tumours. High S phase and angiogenesis levels, and aneuploidy was observed respectively in 25%, 38%, and 38% of axillary node negative patients. Tumours with high proliferative activity and metastatic ability may exist even in patients with no axillary involvement. Tumour's DNA ploidy and S phase fraction by flow cytometry, and tumour's microvessel density (angiogenesis) are useful markers to evaluate true risk, overall prognosis, and to plan adjuvant treatment in patients which was evaluated as low risk according to standard prognostic markers.

Keywords: Breast cancer, axilla, flow cytometry, DNA ploidy, S phase, angiogenesis

Meme kanseri, değişik büyüme hızı ve metastatik potansiyeli olan malign hücre kolonları içeren heterojen bir hastalıktır. Aynı klinikopatolojik evredeki hastalar arasındaki farklı klinik gidiş tümörün biyolojik ve moleküler karakterini oluşturan prognostik parametrelere bağlanmıştır (1). Günümüzde aksilla lenf bezi tutulumu en kabul gören prognoz belirleyici olup adjuvan tedavi kararında da etkilidir. Ancak aksilla lenf nodu negatif hastalarda bile 10 yıl içinde %30 rekürrens görülmeye riski diğer prognoz belirleyicilerinin de önemini ortaya koymaktadır. Meme kanserli hastalarda nüks olasılığını belirlemek, yüksek riskli hastalardaki alt grupları saptayıp tedavi protokollerini düzenlemek için prognostik faktörlerin iyi değerlendirilmesi gerekir. Standart prognostik faktörlerin yanısıra tümörün proliferatif aktivitesinin, ayrıca büyüme ve metastaz yapabilme yeteneği ile direkt ilişkisi olan mikrodamar yoğunluğu (angiogenezis) değerinin belirlenmesi tümörün biyolojik davranışını ortaya koyduğu için önemlidir (2). Düşük proliferasyon indeksli, DNA içeriği diploid olan meme tümörlü hastalar, yüksek proliferasyon indeksli anaploid tümörü olan hastalardan daha iyi prognoza sahiptir (3,4,5). Ayrıca angiogenetik potansiyeli yüksek olan tümörler de metastazlar ile beraber kötü klinik seyir göstermektedir. Bu nedenle klinik takipte mikrodamar yoğunluğu tesbitinin önemi üzerinde durulmaktadır (6).

Bu çalışmada prognoz göstergeleri arasındaki uyumun araştırılması amaçlanmıştır. Bu nedenle önemi ispatlanmış bazı standart prognostik parametreler ile tümör hücresi proliferatif aktivitesi (DNA içeriği, S faz fraksiyonu) ve mikrodamar

yoğunluğu (angiogenesis) değerleri karşılaştırılmıştır.

HASTALAR VE YÖNTEM

Çalışma invazif duktal karsinom nedeni ile modifiye radikal mastektomi ya da geniş lokal eksizyon ve aksilla disseksiyonu yapılan Evre I ve Evre IIA 17 hastada yapıldı. Hasta yaşı, tümör büyüklüğü, histopatolojik grade (Modifiye Scarff-Bloom Richardson klasifikasyonu), aksilla lenf nodu durumu belirlendi. Tümörlerin parafin bloklarından hazırlanan kesitlerden Vindelov ve ark (7), Schutte ve ark (8) tarafından tanımlanan yöntemine uygun olarak "flow cytometry" (Coulter Epics XL, Beckman Coulter, Türkiye) ile analiz yapılarak tümör DNA içeriği ve S faz fraksiyon değeri saptandı. DNA analizi değerlendirmesinde MultiCycle (Phoenix FlowSystem, CA) yazılım programı kullanıldı. Tümörler DNA içeriğine göre diploid ve anaploid olarak ayrıldı. S faz fraksiyonu için eşik değer %8 olarak kabul edildi (9). Tümör angiogenesis seviyesi Weidner ve ark'ın (6) yöntemi esas alınarak saptandı. Mikrodamar yoğunluğunu belirlemek amacıyla Ultrastreptavidin Detection (NeoMarkers Reu 052099 A, USA) sistemi ile monoklonal CD 34 (QEnd/10) antikorunu kullanarak immünohistokimyasal inceleme yapıldı. Angiogenesis değeri büyük büyütmede (200X) ışık mikroskopu ile sayılarak bulundu. Mikrodamar yoğunluğunda duyarlılık ve özgüllük verilerine göre eşik değer 90 olarak alındı. İstatistik analiz "Fisher's exact test" ve Wilcoxon Rank test kullanılarak yapıldı. $P < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

TABLO 1: OLGULARIN PROGNOSTİK PARAMETRELERE GÖRE DAĞILIMI

Parametre	Özellikler	Olgu sayısı (%)
Yaş	65 yaş altı	11 (59)
	65 yaş üstü	6 (41)
Tümör çapı	0-2 cm (T1)	5 (29)
	2-5 cm (T2)	12 (71)
Aksilla	pozitif	9 (53)
	negatif	8 (47)
Histolojik grade	1	5 (29)
	2-3	12 (71)
DNA içeriği	diploid	8 (47)
	anaploid	9 (53)
S faz fraksiyon	düşük (<8)	12 (71)
	yüksek (>8)	5 (29)
Angiogenesis	düşük (<90)	5 (29)
	yüksek (>90)	12 (71)

SONUÇLAR

Olguların 5 tanesinde (%29) tümör çapı 2 cm (T₁) ve altında idi. Tüm tümörlerin % 71'i histolojik grade 2 ve 3, %53'ü anaploid olarak bulundu (Tablo 1). İleri yaştaki hastalarda tümörlerin çoğu yüksek S faz fraksiyon değerine (p < 0.05) sahipti. Ancak tümörlerin angiogenesis değerleri ve DNA içeriği ile hasta yaşı arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Büyük tümörlerde (T₂) angiogenesis değerinde anlamlı yükseliş saptanırken (p < 0.05),

DNA içeriği ve S faz fraksiyon değeri ile tümör boyutu arasında anlamlı ilişki bulunmadı (Tablo 2). Tümörlerin histopatolojik grade'ine göre proliferatif göstergeler ve mikrodamar yoğunluğu değerleri ile ilişki saptanmadı. Aksilla lenf nodu pozitif olgularda anlamlı S faz fraksiyon (p < 0.05) ve angiogenesis artışı (p < 0.05) saptanırken, DNA içeriği açısından istatistik anlamlı fark bulunmamasına karşın aksilla pozitif olgularda anaploid tümörler belirgin olarak fazlaydı (Tablo 2).

Tümörler DNA içerikleri açısından incelendiklerinde anaploid tümörlerde belirgin S faz yüksekliği (p < 0.05) bulundu (Tablo 3). Klasik iyi prognoz göstergelerinin bir kısmına sahip olmalarına rağmen olguların bir bölümünde proliferatif aktivite ve mikrodamar yoğunluğu seviyelerinin önemli oranlarda yüksek olduğu saptandı. Aksilla negatif 8 olguda %38, grade 1 tümürlü 5 olguda %80, T₁ 5 olguda %20 oranında yüksek angiogenesis değeri bulundu (Tablo 4).

TARTIŞMA

Memekanserli hastalarda prognostik faktörlerin değerlendirilmesi özellikle iki klinik durumda önemlidir: Birincisi düşük riskli, prognozu iyi olup sadece cerrahi tedavinin yeterli olduğu, sistemik adjuvan tedavinin gerekmediği hasta grubunu; ikincisi riski yüksek, prognozun kötü olduğu sistemik adjuvan tedavi gerektiren hasta grubunu belirlemektir (2). Bu nedenledir ki metastaz yapabilme potansiyeli yüksek tümörleri

TABLO 2: YAŞ, TÜMÖR ÇAPI, GRADE VE AKSİLLA DURUMUNA GÖRE TÜMÖR DNA İÇERİĞİ, S FAZ VE ANGIOGENESİS DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Parametre	Özellik	Olgu	DNA içeriği (anaploid)	S faz	Angiogenesis
Yaş	65 üstü	6	4(%67)	16.4±11	126.4±43
	65 altı	11	5(%45)	4.1±2.6	110.1±45
	istatistik		anlamsız	p<0.05	anlamsız
Tümör çapı	T1	5	3(%60)	8.7±9	82.2±27
	T2	12	6(%50)	8.2±9	136.6±38
	istatistik		anlamsız	anlamsız	p<0.05
Grade	1	5	2(%40)	10.6±10.8	135±25
	2-3	12	7(%58)	7.5±8	114±48
	istatistik		anlamsız	anlamsız	anlamsız
Aksilla	N(+)	9	6(%67)	14.4±8	143±34
	N(-)	8	3(%38)	5.3±7.7	95±40
	istatistik		anlamsız	p<0.05	p<0.05

TABLO 3: DİPLOİD VE ANAPLOİD TÜRÖMLERİN S FAZ FRAKSİYONU VE ANGIOGENESİS DEĞERLERİ

DNA içeriği	S faz	Angiogenesis
Diploid (8)	3.78±2.9	112±42.6
Anaploid (9)	12.5±10.6	127.7±45.2
istatistik	p<0.05	anlamsız

önceden belirlemek önem taşımaktadır (9,10). S faz fraksiyonu yüksek sistemik olarak tedavi edilmiş T_1N_0 hastaların yaklaşık %30'unda ilk beş yılda uzak metastaz geliştiği görülmüştür (4). Belirli bir boyuttan sonra tümörün hızla büyümesi ve yayılım potansiyeli kazanması için yeni damar gelişimine (neovaskülarizasyon) gereksinim vardır. Bu değişim histopatolojik incelemede tümörün mikrodamar yoğunluğu seviyesi ile belirlenmektedir. Bu çalışmamızda da son yıllarda prognostik önemi sıkça tartışılan tümör DNA içeriği, S faz fraksiyonu ve mikrodamar yoğunluğunun (angiogenesis), meme kanseri için anlamlılığı önceden kanıtlanmış olan standart prognostik parametreler ile karşılaştırılması yapılmıştır.

Yapılan çalışmalarda 50 yaşın altında anaploid tümörü olan hastalarda S faz değerinin daha yüksek olduğu görülmüştür (4,11,12). Wenger ve ark (12) 127 bin hastadaki bulgularında, genç hastalardaki tümörlerde anaploidi ve S faz fraksiyonu yüksekliğinin dikkat çekici olduğunu göstermiştir (12). Az sayıdaki hasta ile yaptığımız çalışmamızda bu bulgulara ters olarak ileri yaştaki hastalarda yüksek S faz fraksiyonu saptadık. Bunun en önemli nedeni ileri yaştaki olgularımızdaki yüksek anaploidi oranıdır. Batı ülkelerinden farklı olarak olgularımızın çoğunun daha ileri evrede tanı alması ve yüksek metastatik aksilla oranına bağlı olarak

anaploidininde arttığı düşünülmektedir. Önceki çalışmalarda da S faz değerlerinin anaploidi oranlarına paralel arttığı açıkça belirtilmektedir.

Angiogenesisin yaş ile ilişkisinin incelendiği çeşitli çalışmalarda yaş ile angiogenesis arasında istatistiksel ilişki saptanamamıştır (13,14). Bizim olgularımızda ki angiogenesis ile yaş arasındaki ilişkiye baktığımızda da tümör mikrodamar yoğunluğunun yaşa göre önemli bir değişim göstermediği ortaya çıkmaktadır.

Tümör boyutu ile DNA içeriği ve S faz fraksiyonu arasında ilişki araştırmaların çoğunda saptanmaz iken bazı çalışmalarda ise bu ilişki gösterilmiştir (2,12,15). Wenger ve ark (12) meme kanserli hastaları içeren geniş seride büyük tümörlerin çoğunun anaploid olduklarını ve ortalama S fazlarının küçük tümörlere oranla yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bulgularımıza göre olgularımızın çoğunda T_2 tümörler olmasına rağmen tümör çapı ile DNA içeriği ve S faz fraksiyonu değeri arasında istatistiksel ilişki saptamadık. Tümör büyüklüğü özellikle aksilla lenf nod tutulumu olmayan hastalarda önemli bir prognostik kriterdir. Tümörü 1 cm'den küçük aksilla lenf nodu tutulumu bulunmayan hastalarda 5 yıllık sürvi %98 iken, 5 cm'den büyük tümörlerde %82'dir (16). Gasparani ve ark. (17) çalışmasında angiogenesisin, tümör boyutunun, p 53 ekspresyonunun ve peritümöral lenfatik damar invazyonunun, aksillası negatif yüksek riskli hastalarda diğer parametrelerden bağımsız önemli bir prognostik gösterge olduğu bildirilmiştir. Olgularımızda tümör çapının büyümesine paralel angiogenesis değerinin anlamlı artışı, tümör çapı arttıkça metastaz yeteneği artışının objektif bir bulgusu olarak ortaya çıkmaktadır.

Aksilla lenf nodu tutulumu bilinen en önemli klasik prognostik parametre olup adjuvan tedavi kararının verilmesinde etkilidir. Çeşitli araştırmalarda aksilla lenf nodu pozitifliği ile tümör DNA içeriği arasındaki ilişki incelenmiştir.

TABLO 4: KLASİK İYİ PROGNOZ GÖSTERGELERİNE GÖRE TÜRÖRÜN YÜKSEK PROLİFERATİK AKTİVİTE VE YÜKSEK MİKRODAMAR YOĞUNLUĞU

	Olg u	DNA içeriği Anaploid	S faz fraksiyonu Yüksek (>%8)	Angiogenesis Yüksek (>90)
Aksilla negatif	8	3 (%38)	2 (%25)	3 (%38)
Grade 1	5	2 (%40)	0	4 (%80)
Tümör çapı (T1)	5	3 (%60)	2 (%40)	1 (%20)

Çalışmamızda sayısal azlığa bağlı istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte oransal olarak aksilla pozitifliği ile anaploidi ilişkilidir. Wenger ve ark.(12) aksillası negatif hastaların çoğunda tümörün düşük S fazı ile diploid olduğunu saptamıştır. Aksillası pozitif olgularımızda beklenildiği gibi anaploidiye paralel yüksek S faz değeri, aksilla metastazlı tümörlerin yüksek proliferatif aktivitesine işaret etmektedir. Özğüröğlü ve ark (14) da çalışmalarında bizim bulgularımız gibi yaş ile angiogenesis arasında ilişki saptamamalarına rağmen aksilla pozitifliği ile tümör mikrodamar yoğunluğu arasındaki ilişkiyi göstermişlerdir. Benzer şekilde bulgularımız da aksilla tutulumuna paralel tümör angiogenesis değerinin anlamlı olarak yükseldiğini göstermektedir. Aksilla metastazlı olgularımızdaki yüksek angiogenesis ve S faz fraksiyonu, ayrıca DNA içeriği bulgularımız birlikte yorumlandığında vardığımız sonuç; olgunun aksilla pozitif olması tümörün yüksek proliferatif aktivitesi ve yüksek metastaz yeteneği ile birliktelik göstermektedir.

Tümörün DNA içeriği ve S faz ölçümleri yakın uyum göstermektedir. Diploid ve anaploid tümörleri karşılaştırdığımızda, anaploid tümörlerdeki yüksek S faz değerleri bu bulguyu desteklemektedir. Bu bulgu anaploid tümörlerin yüksek proliferatif aktivitesini göstermektedir. Geniş serilerdeki sonuçlara göre de anaploid tümörlerin S faz fraksiyonları yüksektir (12).

Aksilla lenf nodu pozitif hastalara zaten adjuvan sistemik tedavi uygulanacağı için önemli olan aksilla lenf nodu negatif ancak metastaz yapabileme potansiyeli yüksek olan tümörleri saptamaktır. Prognostik faktörlerin sağ kalım üzerine olan etkisinin incelendiği çalışmalarda angiogenesisin uzun dönem sağ kalım üzerine etkili bir prognostik faktör olduğu düşünülmektedir (12). Angiogenesis, nod negatif hasta grubunda adjuvan tedavi kararının verilmesinde yönlendirici olabilir. Negatif aksilla, düşük grade, T₁ gibi iyi prognoz göstergelerine göre olgularımız değerlendirildiğinde ortalama %25-40 oranındaki anaploidi ve yüksek S faz değerleri nod negatif olgularda bile tümörün yüksek proliferatif aktiviteye sahip olabileceğine işaret etmektedir. Aksillası negatif olgularda tümörün büyüme hızı ve biyolojik davranışını, proliferatif aktivite ve angiogenesis gibi objektif kriterlerle belirlemek yararlı olabilir. Wenger ve ark (12) meme kanserli hastalarda "flow cytometry" yöntemiyle S faz fraksiyonu saptanmasının klinik kullanımda yararlı olduğunu ancak rutin kullanımından önce standardize edilmesi gereken bir yöntem olduğu

üzerinde durmuşlardır.

Aksilla negatif olgularda prognozu değerlendirilmede ve adjuvan tedaviyi planlamada tümör proliferatif aktivitesinin (DNA içeriği, S faz fraksiyonu), büyüme hızı ve metastatik potansiyeli ortaya koyabildiği için tümör mikrodamar yoğunluğu (angiogenesis) seviyesinin belirlenmesi yararlı görülmekle birlikte bu konuda tam fikir birliği olmadığından, yeni ve geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Jacquemier JD, Penault-Llorca FM, Bertucci F, Sun ZS: Angiogenesis as a prognostic marker in breast carcinoma with conventional adjuvant chemotherapy: A multiparametric and immunohistochemical analysis. *J Pathol* 1998; 184: 130-135.
2. Clark GM: 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.
3. Dressler LG, Seamer LC, Owens MA, Clark MG, Mc Guire WL: DNA flow cytometry and prognostic factors in 1331 frozen breast cancer specimens. *Cancer* 1988;61:420-427.
4. Stöl B, Dufmats M, Hatschek T, Carstensen J, Klintonberg C: S-Phase fraction is a prognostic factor in stage I breast carcinoma. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1717-1722.
5. Hedley DW, Clark MG, Cornelisse CJ, Killander D, Kute T, Merkel D: Consensus review of the clinical utility of DNA cytometry in carcinoma of the breast. *Cytometry* 1993;14:482-485.
6. 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.
7. Vindelov LL, Christensen IJ, Nissen NI: A detergent-trypsin method for the preparation of nuclei for cytometric DNA analysis. *Cytometry* 1983;323-327.
8. Schutte B, Reynders MMY, Bosman FT: Flow cytometric determination of DNA ploidy level in nuclei isolated from paraffin-embedded tissue. *Cytometry* 1985;6:26-30.
9. Narita M, Nakao K, Ogino N, Nakahara M, Onishi A, Tsujimoto M: Independent prognostic factors in breast cancer patients. *Am J Surg* 1998; 175: 73-75.
10. Heimann R, Ferguson D, Hellman S: The relation between nm 23, angiogenesis and the metastatic probability of node negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1996; 58: 2766-2771.
11. Mc Guire WL, Tandon AK, Allred DC, Chamness GC, Clark GM: How to use prognostic factors in axillary node-negative breast cancer patients. *J*

- Natl Cancer Inst 1990;82:1006-1015.
12. Wenger CR, Beardslee S, Owens MA, Pounds G, Oldaker T: DNA ploidy, S-phase and steroid receptors in more than 127.000 breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1993;28:9-20.
 13. Fox SB, Leek RD, Smith K, Hollyer J: Tumor angiogenesis in node negative breast carcinoma. Relationship with epidermal growth factor receptor, estrogen receptor and survival. *Breast Cancer Res Treat* 1994; 29:109-116.
 14. Özgüroğlu M, Calay Z, Turan AA, Demir G, Demirelli F, Mandel MN: Meme kanserinde angienez ve yaşın prognostik faktör olarak değerlendirilmesi. *Meme Hastalıkları Dergisi* 1999;2:92-96.
 15. Muss HB, Kute T, Case LD, Smith LR, Bosher C, Long R, Kammire L, Gregory B, Brockschmidt JK: The relation of flow cytometry to clinical and biological characteristics in women with node negative primary breast cancer. *Cancer* 1989; 64:1894-1900.
 16. Cartel CL, Allen C, Henson DE: Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24.740 breast cancer cases. *Cancer* 1989; 63:181-187.
 17. Gasparini GB, Weidner N, Bevilacqua P, Maluta S, 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.
-

YAZIŞMA ADRESİ:

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