

Tümör Anjiogenezi

TUMOR ANGIOGENESIS

Dr.Mine G.GÜLLÜOĞLU, Dr. Ferhunde DİZDAROĞLU

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Patoloji ABD, İSTANBUL

ÖZET

Anjiogenez, ya da diğer adıyla neovaskülarizasyon, daha önceden var olan kan damarlarından yeni kapiller damar oluşumudur. Birçok fizyolojik olayda ve yara iyileşmesinde normal bir mekanizma olan anjiogenezin, tümör gelişiminin anahtarı kabul edilmektedir. Anjiogenik ve antianjiogenik faktörler arasındaki denge bozulduğunda neovaskülarize olmaya başlayan tümör, daha hızlı büyüme ve invazyon kapasitesi kazanır ve metastaz yapma potansiyeli artar. Tümör gelişiminin anjiogenik aktivite ile yakından ilişkili olması, antianjiogenik ajanların kanser tedavisinde ek tedavi seçenekleri olarak araştırılmasına neden olmuştur. Bugüne dek bu araştırmalardan oldukça umut verici sonuçlar alınmıştır. Bu patobiyoloji ağırlıklı derlemede tümör anjiogenezinin gelişim mekanizmaları ele alınmış ve anjiogenik olaylarda rolü olan faktörler özetlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Tümör anjiogenezi, anjiogenik faktörler, antianjiogenik faktörler

SUMMARY

Angiogenesis, or neovascularization, is the formation of new capillaries from preexisting blood vessels. It is a normal mechanism in many physiological events as well as in wound healing. It is known that it is a key for the tumor progression. A tumor begins to produce new vessels when the balance between the angiogenic and antiangiogenic factors changes, and it gains the capacity of growth, invasion and metastasis. The tumor angiogenesis is the subject of research for new anticancer therapy agents because of its relation to tumor progression. The results of these research are quite promising. In this pathobiology centered review, the tumor angiogenesis is summarized with its mechanisms of development and the factors responsible for the angiogenic events.

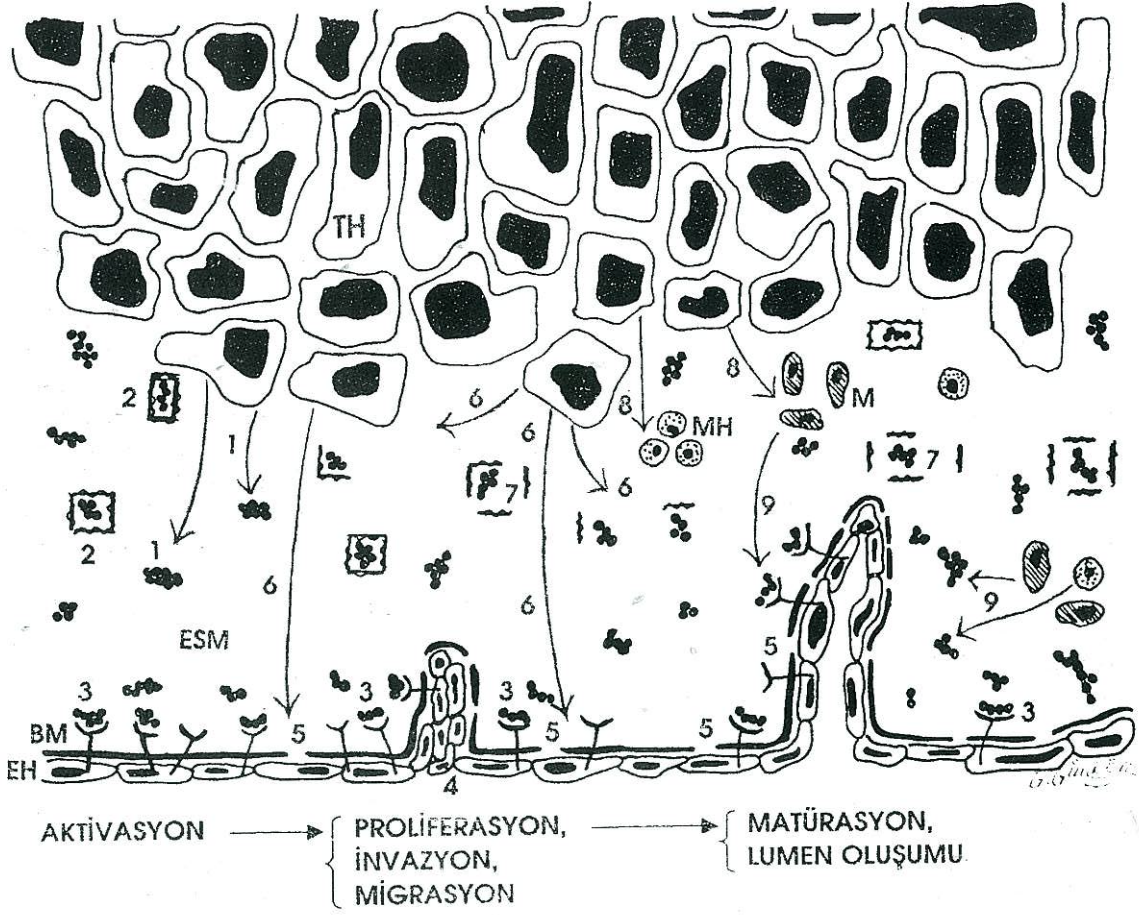
Keywords: Tumor angiogenesis, angiogenic factors, antiangiogenic factors

Bundan yaklaşık 40 yıl önce, 1960'ların başlarında, genç araştırmacı doktor Judah Folkman, ABD Donanması adına, görev seferine çıkan gemilerde saklanması mümkün olabilecek ve gereğinde kan yerine kullanılabilir bir madde araştırırken, tesadüfen in vitro tümör büyümesinin damarsız ortamda durduğunu keşfetti. Bu buluşu, onu ve birçok araştırmacıyı yıllarca meşgul edecek yeni bir alana sürükledi: Tümör anjiogenezi (1).

Solid tümörler büyümek için bir damar ağına ihtiyaç duyarlar. Gelişmekte olan bir tümöre

gerekli besin maddelerini ve oksijeni sağlayacak, hücre atıklarını götürecek damarsal bir ağ gereklidir. Bu nedenle tümörler, kan damarı proliferasyonunu sağlayarak kendilerine ait damar yatağını oluştururlar (2). Günümüzde, tümör büyümesinde ve metastazında önemli rol oynayan bu aktivitenin tümör biyolojisindeki yerinin anlaşılması kanser tedavisinde yeni seçeneklerin doğmasını sağlamıştır.

Daha önceden var olan damar yapılarından yeni kapiller damarların oluşumuna anjiogenez



Şekil 1: Tümör anjiogenezinde, yeni damar oluşumuna kadar gelişen patolojik olayların gelişim mekanizması. (1) Tümör hücreleri anjiogenik moleküller salgırlarlar. (2) Ekstrasellüler matrikse diffüze olan bu moleküller, matriks elemanları, özellikle de haparan sülfat tarafından stabilize edilir. Bu şekilde, matriks elemanları anjiogenik moleküller için rezervuar görevi görürler. (3) Anjiogenik moleküller inaktif olan vasküler endotel hücreleri üzerindeki reseptörlere bağlanarak transmembran sinyaller zincirini başlatırlar. Bu şekilde, aktive olan endotel hücrelerinde anjiogenik aktivite başlar. (4) Anjiogenik moleküller endotel hücrelerinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve kemotaksisine neden olurlar. (5) Endotel hücreleri, kollajenazlar ve plazminojen aktivatörü salgılayarak ana damarın bazal membranını parçalar. Ayrıca yeni oluşan damarların da bazal membranı parçalıdır. (6) Tümör hücreleri de proteazlar salgılayarak bazal membranın ve ekstrasellüler matriksin parçalanmasına neden olurlar. (7) Parçalanmış ekstrasellüler matrikste daha önceden depolanmış olan anjiogenik moleküller de serbest kalarak etkilere katılırlar. (8) Tümör hücreleri kemotaktik moleküller salgılayarak inflamatuvar hücrelerin, özellikle makrofaj ve mast hücrelerinin ortamda toplanmasına yol açarlar. (9) Makrofajlar ve mast hücreleri spesifik anjiogenik moleküller ve tümör nekroz faktörü-a (TNF-a) salgırlarlar. TNF-a ortamda daha fazla makrofaj toplanmasını sağlar.

TH: Tümör hücreleri, EH: Endotel hücreleri, BM: Bazal membran, ESM: Ekstrasellüler matriks, MH: Mast hücreleri, M: Makrofajlar.

adı verilir. Yeni damarlar önceden var olan kapillerlerden, postkapiller venüllerden ya da küçük terminal venüllerden kaynaklanırlar (3). Buna karşılık, arterler, arterioller ya da venler anjiogenik özellikte değildirler (3,4).

Endotel hücreleri bir bazal membran üzerinde

tek sıra halinde dizilerek bütün vasküler sistemi döşeyen bir tabaka meydana getirirler. Poligonal ya da iğsi şekilli olan bu hücreler, perisitlerden ve düz kas hücrelerinden oluşan ikinci bir tabaka tarafından çevrelenirler. Bu kompleks yapı, ekstrasellüler matriks dediğimiz bir mikroçevre içerisinde

yer alır (3). Endotel hücreleri yüzeylerinde çeşitli büyüme faktörlerine ve sitokinlere spesifik reseptörler taşırlar. Ayrıca kollagen, laminin, trombospondin, fibronektin gibi bir takım ekstrasellüler matriks elemanlarını, sitokinleri ve çeşitli büyüme faktörlerini sentezleyip salgılayabilirler. Bu maddelerin gerek hücre proliferasyonunda, gerekse endotel hücre maturasyonunda, orientasyonunda ve oluşan yeni damar yapısının uzamasında hem otokrin hem de parakrin bir rolü vardır (3). Endotel hücreleri ve perisitler lumenli tubuler yapılar oluşturmak ve dallanmalarla kapiller ağı meydana getirmek için tüm genetik bilgiye sahiptirler. Bu süreci başlatabilme özelliğinde olan anjiogenik moleküller yanında, durdurma özelliğine sahip anti-anjiogenik moleküller de ortamda bulunurlar. Bu moleküllerin birbirlerine zıt etkileri normalde bir denge durumundadır ve ancak bu denge bozulduğunda anjiogenik aktivite başlayabilir (5).

Anjiogenezi olayını üç evrede inceleyebiliriz (6):

1. Endotel hücrelerinin aktivasyonu,
2. Endotel hücrelerinin proliferasyonu, invazyonu ve migrasyonu,
3. Endotel hücrelerinin maturasyonu ve lumen formasyonu

Bu evreler Şekil 1'de şematik olarak gösterilmiştir.

Başlangıçta tümör hücrelerinden ve çevre inflamatuvar hücrelerden salgılanan anjiogenik moleküller ve sitokinler endotel hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanarak transmembran sinyaller zincirini başlatırlar. İnaktif olan vasküler endotel bu şekilde aktive olarak anjiogenik fenotip kazanır (2,3,5,6). Aktive olan vasküler endotel hücreleri, daha fazla spesifik hücre adhezyon molekülleri ekspres etmeye, kollajenaz ve plazminojen aktivatörü salgılamaya başlarlar. Hücrelerin üzerinde yerleştiği bazal membranda bu proteolitik enzimler nedeniyle fokal parçalanmalar meydana gelir. Bu bölgesel parçalanmanın bulunduğu yerdeki endotel hücreleri şekil değiştirerek stromaya invaze olurlar (7). Anjiogenik moleküller endotel hücre proliferasyonunu, migrasyonunu ve kemotaksisini uyarırlar. Endotel hücreleri proliferere olmaya ve anjiogenik uyarının geldiği yöne doğru ilerlemeye başlarlar (5). Salgıladıkları proteazlar, ilerledikleri yöndeki ekstrasellüler matriks elemanlarını parçalar. Tümör hücrelerinden salgılanan kemotaktik faktörler ortamda makrofajların ve mast hücrelerinin toplanmasına neden olur (5). Bazal membranın parçalanmasına yardımcı olan proteazlar tümör hücrelerinden de salınabilirler (5). Ekstrasellüler matriksin parçalanması, vasküler hücrelerin

proliferasyonu, invazyonu ve ilerlemesi için uygun ortamı sağlar (3,6). Ayrıca, asidik fibroblast büyüme faktörü (aFGF), bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) gibi büyüme faktörleri için bir rezervuar görevi gören ekstrasellüler matriksin parçalanması ile bu faktörler de serbest kalırlar (5,8). Endotel hücrelerinin ilerlemesi, hücre adhezyon reseptörlerinin, ekstrasellüler matriksin adhezyon proteinleri (kollagen, fibronektin gibi) ile etkileşimi sayesinde mümkün olur (8). Maturasyon evresinde hücre-hücre ve hücre-ekstrasellüler matriks adhezyonunun rolü daha büyüktür (6). Meydana gelen kapiller tomurcuklardaki endotel hücrelerinde bulunan intrasellüler vakuoller birleşirler (8). Hücrelerarası adhezyon sayesinde tomurcuk içinde proksimalden itibaren bir lumen oluşumu başlar. Birbirlerine yakın olan tomurcuklar kendi aralarında anastomozlar yaparak içinden kanın geçebileceği ve perfuzyonu sağlayacak kıvrımlı tüpleri meydana getirirler (3,7).

Anjiogenezi genel olarak iki gruba ayrılır:

1. Fizyolojik anjiogenezi,
2. Patolojik anjiogenezi

Anjiogenezi, iltihabi durumlar, endometrial proliferasyon, embriyogenik gelişme gibi olaylarda normal fizyolojik bir süreçtir (8).

Patolojik anjiogenezi ise tümöral ve nontümöral olarak ikiye ayrılabilir:

Nontümöral anjiogenezi: Anjiogenezi, hipoksik ortam şartlarının meydana geldiği çeşitli nonneoplastik hastalıklarda, kronik iltihabi olaylarda ve çeşitli sendromlarda gözlenir. İdiopatik pulmoner fibrozis, diyabetik retinopati, romatoid artrit, psöriazis gibi hastalıklardaki yeni damar oluşumları nontümöral patolojik anjiogeneze örnek olarak verilebilir (5). Örneğin artritte yeni kapiller damarlar eklem içerisine invaze olarak eklem kıkırdağında harabiyete sebep olurlar. Diyabette ise, retinadaki kapiller damarlar vitre içerisine girerek kanamaya ve görme kaybına yolaçarlar (5).

Tümöral anjiogenezi: Tümör progresyonu ile anjiogenezi arasındaki yakın ilişkiyi ortaya koyan çalışmalar 1960lardan beri yapılmaktadır. İlk kez 1971 yılında Folkman ve arkadaşları solid tümör ekstresi kullanarak tümörün olmadığı bir ortamda mikrovasküler büyümeyi sağlayabildikleri (9). O günden bu yana solid tümör büyümesinde, metastazında ve prognozunda anjiogenezin rolünü ortaya koyan pek çok çalışma yapılmıştır. Günümüzde pek çok anti-anjiogenik ilaç klinik deneme aşamasında kullanılmaktadır (10).

Tümör gelişiminin anjiogenik evreleri:

Folkman ve arkadaşları tümör gelişimini anjiogenetik açıdan iki evrede incelemeyi önermişlerdir: Prevasküler ve vasküler evre (2).

Prevasküler evre: Folkman, prevasküler evreyi, hiçbir tümör hücresinin anjiogenik olmadığı ya da çok az sayıda tümör hücresinin bu özelliğe sahip olduğu erken evre olarak tanımlamaktadır.

Bu evrede tümöral hücreler, kendileri için gerekli olan beslenmeyi ortaya çıktıkları organda var olan damar ağından sağlarlar. Bu evredeki bir tümör 1,5-2 mm³ den daha fazla büyüyemez (11). Tümöral kitlenin bu boyutu geçebilmesi için yeni kapiller damarların oluşması gereklidir. Anjiogenik aktivitenin edinilmesinden önce tümör büyümesi oldukça yavaş, tümör hücre popülasyonunun iki katına çıkma süresi oldukça uzundur (12-24 ay) (2). Ancak bu, tümör hücre proliferasyonunun yavaş olduğu anlamına gelmemektedir. Prevasküler evredeki bir tümörde hücre proliferasyonu ve hücre ölümü arasında bir denge vardır. Bu denge, tümörü "sabit durum" datutar (11). Eğer bu tümörler gözle görülebilecek bir lokalizasyonda değillerse, saptanmaları hemen hemen olanaksızdır. Servikal intraepitelyal neoplazileri ya da deri melanomlarını buna örnek gösterebiliriz (2). Bu dönemdeki tümörler yavaş büyürler ve asemptomatiklerdir. Nadiren metastaz yaparlar ve aylarca hatta yıllarca sabit durumda kalabilirler. Bunların büyük bir çoğunluğu klinik olarak saptanamaz. Tanı ancak mikroskopik olarak konur (2). Örneğin; meme ve prostat kansinomlarında neovaskülarizasyon öncesi ve sonrası in situ kansinom alanları görülebilir (12,13,14).

Sabit durumdaki tümör, primertümör olabileceği gibi bir metastaz odağı da olabilir. Henüz vaskülarize olmamış bir mikrometastazda da hücrelerin proliferasyonu ve ölümü arasında bir denge söz konusudur. Bu odak aylarca, hatta yıllarca büyümeden sabit kalabilir. Neovaskülarizasyonun başlamasıyla tümör hızlı bir proliferasyon evresine girer (2).

Vasküler evre: Tümöral gelişimde anjiogenik aktivitenin başlaması bütün tümör hücrelerinin anjiogenik olmasını gerektirmez. Tümör içerisinde bir grup hücre anjiogenik fenotip kazandığında neovaskülarizasyon başlar. Bu fokal ve ani bir gelişmedir. Mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır (2). Bu konudaki hipotezlerden biri, bir anjiogenez inhibitörü olan trombospondin proteini üzerinde etkili tümör baskılayıcı genin varlığına

dayanmaktadır. Karsinogenez sırasında mutasyona uğrayan tümör baskılayıcı gen p53'ün kodladığı mutant p53 proteini anjiogenik aktivite üzerindeki etkisini kaybeder (15,16).

Anjiogenik aktivite kazanmış olan bir tümörde malign hücre popülasyonunun tamamı anjiogenik fenotip sahibi değildir. Tümörler anjiogenik hücre toplulukları ve neovaskülarizasyon yoğunluğu açısından heterojendir (2).

Aktif anjiogenezin tümör üzerindeki etkileri:

Bir tümörün anjiogenik aktiviteye sahip olması, başka özellikleri de beraberinde getirir. Bunlardan en önemlileri (2);

1. Hızlı büyüme kapasitesi,
2. Artmış invazyon kapasitesi,
3. Artmış metastaz potansiyeli.

Hızlı büyüme kapasitesi: Neovaskülarizasyon tümör büyümesini iki şekilde hızlandırır. Bunlardan birincisi, tümör hücreleri için gerekli besin ve oksijenin, neovaskülarizasyon sayesinde hücrelere kolayca aktarılabilmesi ve katabolitlerin hücrelerden kolayca uzaklaştırılabilmesidir. Diğeri ise, endotel hücreleri ile tümör hücreleri arasında var olan ve bu hücrelerin birbirlerinin proliferasyonunu hızlandırmasını sağlayan iki yönlü parakrin etkidir. Yapılan in vitro çalışmalarda, kan akımı olmasa da tümör hücrelerinin endotel hücre kanalları boyunca büyüdüğü görülmüştür. Tümör hücrelerinin endotel hücrelerinin proliferasyonunu uyarması gibi, endotel hücreleri de bir takım büyüme faktörleri salgılayarak tümör hücre proliferasyonunu hızlandırır. Bu büyüme faktörleri arasında bFGF, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (*platelet-derived growth factor*-PDGF), insülin benzeri büyüme faktörü tip I ve II (*insulin-like growth factor I-II* (IGF-I, IGF-II)), interlökin 1,6 ve 8 ve granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (*granulocyte macrophage colony stimulating factor*) başta gelenleridir. Sonuçta artan hücre proliferasyonu ile apoptoz yoluyla hücre ölümü arasındaki denge yok olur ve tümör hücre popülasyonu artmaya başlar. Prevasküler dönemdeki bir tümörde apoptoz ile hücre ölümü %7 iken, vaskülarize bir tümörde bu oran %2'dir (2).

Artmış invazyon kapasitesi: Yoğun vaskülarizasyon gösteren bir tümörün invazyon kapasitesi de artmıştır. Bu, hem endotel hücrelerden, hem de tümör hücrelerinden salgılanan proteolitik enzimler aracılığı ile olur (2).

TABLO 1: ENDOJEN ANJİJENİK FAKTÖRLER (20)

Faktör	İn Vitro Endotel Hücre Mitogeni
Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)	(+)
Bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF)	(+)
Asidik fibroblast büyüme faktörü (aFGF)	(+)
Trombosit kaynaklı endotelial büyüme faktörü (PDGF)	DNA sentezine yol açar.
Transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β)	(-)
Transforme edici büyüme faktörü α (TGF- α)	(+)
Tümör nekroz faktörü α (TNF- α)	(-)
Granulosit koloni uyarıcı faktör (GCSF)	(+)
Plasental büyüme faktörü (PGF)	(\pm)
Anjiogenin	(-)
İnterlökin-8	(+)
Hepatosit büyüme faktörü	(+)
Proliferin	(+)

Artmış metastaz potansiyeli: Bir tümörün metastaz yapabilmesi için tümör hücrelerinin çeşitli engelleri aşması gereklidir. Tümör hücreleri; primer tümörün damar lümeni içerisine girmek, dolaşımda canlı kalmak, hedef organın mikrodolaşımına katılmak, hedef organın parenkimine geçmek, hedef organda çoğalmak ve eğer sahip değilse anjiogenetik fenotip kazanmak zorundadırlar (4,17). Anjiogenez, metastazik sürecin hem başında hem de sonunda önemli bir role sahiptir. Primer tümörün yoğun bir damar ağına sahip olması, malign hücrelerin dolaşıma çıkma olasılığını artırır (18). Tümör hücreleri, primer tümör vaskülarize olmadan önce çok nadir olarak dolaşıma katılırlar. Mikrometastaz vaskülarize olmadan görülebilir bir boyuta gelemmez. Tümöral hücreler vaskülarizasyondan sonra devamlı olarak dolaşıma çıkarlar ve çoğu kez metastazik odağı meydana getiren anjiogenik fenotipe sahiptirler. Bu nedenle ulaştıkları hedef organda hemen çoğalmaya başlayarak görülebilir bir kitle oluşturabilirler (2).

Neovaskülarize bir tümörde metastaz kapasitesinin artışında iki faktör önemli rol oynar. Bunlardan biri, proliferen kapillerlerin bazal membranlarının sağlam olmamasıdır. Tümör hücreleri bu kapillerlerin parçalı bazal membranlarından kolayca geçerek dolaşıma katılabilirler (2,19). Diğer faktör ise proteolitik enzimlerdir. Büyümekte olan kapiller damarların endotel hücrelerinin kollajenazlar ve plazminojen aktivatörü salgıladığını

daha önce belirtmiştik. Bu parçalayıcı enzimler tümör hücrelerinin vasküler boşluğa kaçışını kolaylaştırır (4).

Burada belirtilmesi gereken önemli nokta; anjiogenezin tümör yayılımına yardımcı olan bir faktör olmakla birlikte, yayılımı tek başına sağlayamayacağıdır (2,5). Örneğin, tipik pulmoner karsinoid tümörler yoğun vaskülarizasyon gösterdikleri halde, düşük uzak metastaz riski taşırlar (2).

Neovaskülarizasyonunun erken dönemlerinde ki tümörlerde perfüzyon genellikle iyidir. Bu tümörler büyüyüp klinik olarak saptanabilir boyutlara ulaştıklarında, hem artmış damarsal geçirgenlik, hem de tümör içi lenfatiklerin olmaması nedeniyle tümör içi interstisyel basınç artar. Bunun etkisiyle damarlar basıya uğrayarak tıkanır. Bu durum genelde tümörün santral bölgelerinde meydana gelir (2,20). Böyle bir tümöre anjiografi uygulandığında, tümörün santral bölgelerinde perfüzyonun azaldığı gözlenir. Bu bölgeler iskemi ve nekroza giderler (2). İskemi ve nekrozun nedeni, bu alanların avasküler olması değil, aksine fazla vasküler olmasıdır (2,20). Ayrıca perfüzyonun azalması nedeniyle, ilerleyen neovaskülarizasyon kemoterapi ajanlarının tümöre girişini kademeli olarak engeller. Deneysel çalışmalarda, antianjiogenik tedavinin, kemoterapi ajanlarının tümör hücrelerine ulaşmasını kolaylaştırdığı görülmüştür (20).

Anjiogenezin düzenlenmesi: Bu kompleks anjiogenetik olayların kontrolü anjiogenezi hem

uyarıcı hem de önleyici etkisi olan maddeler tarafından sağlanır (2,7). Bir tümördeki anjiogenetik aktivitenin hızı, tümör hücreleri, endotel hücreleri ve inflamatuvar hücreler arasındaki kompleks iletişimi bir sonucudur. Bu iletişimi sağlayan anjiogenik ve antianjiogenik faktörler tümör hücrelerinden, endotel hücrelerinden, makrofajlardan, mast hücrelerinden ve fibroblastlardan kaynaklanırlar (2,8,21). Bu maddeler hem otokrin, hem de parakrin etkilere sahiptirler (2).

Bir tümörün anjiogenik fenotipe geçişi anjiogenik ve antianjiogenik düzenleyiciler arasındaki lokal dengenin değişimine bağlıdır. Ortamdaki çeşitli etkenler nedeniyle anjiogenik faktörler ön plana geçtiğinde bu denge bozulur ve tümörde anjiogenik aktivite başlar (7). Yapılan in vitro bir çalışmada, anjiogenik faktörlerden olan bazik fibroblast büyüme faktörü ve vasküler endotelial büyüme faktörünün bulunduğu ortama antianjiogenik olan trombospondin eklendiğinde, anjiogenik maddeler trombospondin karşısında etkisiz kalmakta ve anjiogenik aktivite durmaktadır (22).

Anjiogenik faktörler: Bu faktörlerden önemlileri Tablo 1'de listelenmiştir (20). Bunlardan, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) insan tümörlerinde en sık olarak saptanan büyüme faktörleridir (2). Tabloda gösterilen ve endotel hücre mitogeni olmayan faktörler, sadece in vivo etkiliyen indirekt anjiogenezi uyarıcılarıdır. Bunlar, endotel hücre proliferasyonunu diğer hücrelerin (rneğin makrofajların) ya da faktörlerin üzerinden sağlarlar. Örneğin, direkt anjiogenik bir molekülü bulunduğu yerden mobilize ederek etkilerini gösterebilirler (5).

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF): 6. kromozomda bulunan VEGF geninin kodladığı dimerik bir glikoprotein olan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) (23), endotel hücrelerine direkt olarak etkiliyen en güçlü anjiogenik maddedir^a. Damar geçirgenliğini artırıcı etkisinin yanısıra endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu uyarır. Ayrıca plazminojen aktivatörlerinin ve kollajenazların ortamda artmalarını da sağlar. Anjiogenezin ilk aşamalarında damar geçirgenliğinin VEGF etkisiyle artması sayesinde plazma elemanları dokuya geçerek interstisyel sıvının zenginleşmesine neden olurlar. Bu sayede endotel hücrelerinin proliferasyonu için uygun ortam sağlanmış olur. VEGF'nin dört alttıpi vardır. Bunlardan 121 ve 165 aminoasit içeren daha küçük

boyutlu alttıpleri hücreler tarafından salgılanabilirler. 189 ve 206 aminoasitten meydana gelen diğer iki alttıpe ise üretildikleri hücrelerin membranlarında heparan sülfat proteoglikanlarına bağlı olarak bulunurlar. Heparanazlar ve proteazlar bunların ortamda serbest kalmalarını sağlarlar. Tümör hücre büyümesini de hızlandıran VEGF bu etkisini çeşitli yollarla gösterir. Bunlardan birincisi, yeni damar oluşumu sayesinde oksijen ve gerekli diğer moleküllerin bu hücelere ulaşmasını sağlamasıdır. Bir diğeri ise, damar geçirgenliğini artırarak ekstrasellüler matriks'i zenginleştirmesidir. Bazı durumlarda da direkt reseptör aracılı bir etkileşim de söz konusu olabilir (23). VEGF tümör hücrelerine olan bu direkt etkisini, bu hücreler üzerindeki spesifik tirozin kinaz reseptörleri (VEGF-R1 ve VEGF-R2) sayesinde gösterir (24).

Neovaskülarizasyon için çok güçlü bir uyarıcı olan doku hipoksisi, bu etkisini VEGF üzerinden gösterir. Hipoksi VEGF'n ve VEGF reseptörünün mRNA'sını stabilize ederek, hücre içindeki mRNA seviyesini ve dolayısıyla da VEGF'n üretimini artırır (25,26). Hipoksinin etkisiyle tümörde VEGF üretiminin başlaması tümör anjiogenezinde kritik bir aşamadır.

Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü (bFGF): Heparine affinitesi çok yüksek olan 16 kilodalton ağırlığındaki bu molekül (27) endotel hücrelerinden, fibroblastlardan, mast hücrelerinden, makrofajlardan ve tümör hücrelerinden salgılanır (2,3). Hücre dışına çıkmasını sağlayan sinyal sekansından yoksun olduğundan normal Őartlar altında sentezlendiği hücrede kalır (5,28,29). Bu molekülün sentezlendiği hücreyi nasıl terkettiği henüz açıklanamamıştır (7). Heparine affinitesi fazla olduğundan hem bazal membranın, hem de ekstrasellüler matriksin komponentlerinden biri olan heparan sülfat proteoglikanlarına kolayca bağlanabilir (30). Kanserli hastalarda bFGF, tümör hücreleri ve diğer hücrelerden salınmasının yanısıra, tümör kaynaklı heparinazlar ve kollajenazların etkisiyle yıkıma uğrayan ekstrasellüler matriksten de serbest bırakılır (5,8). bFGF bilinen en güçlü endotel hücre mitogeni ve kemotaktik faktörüdür. Ayrıca fibroblastlar, düz kas hücreleri ve bazı epitel hücreleri için de mitojendir (2). Normalde do-laşımdaki yarılanma ömrü birkaç dakikadan fazla olmayan bu molekülün, kanserli hastaların serumunda devamlı yüksek seviyede olduğu saptanmıştır. Bunun nedeninin bu molekülün kand izleme mekanizmalarının satürasyonu ol düşünülmektedir (2).

TABLO 2: ANTİANJİOGENİK FAKTÖRLER (20)

Faktör	Proliferasyonu engelleyici etki	Kemotaksisi engelleyici etki	Dolaşımda
Trombospondin	(+)	(+)	(+)
Anjiostatin	(+)	(+)	(+)
Endostatin	(+)	(+)	(+)
Trombosit faktörü 4	(+)	(+)	(+)
Doku Doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP)			
TIMP-1	(-)	(+)	(+)
TIMP-2	(+)	(+)	(+)
TIMP-3	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
Transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β)	(+)	(+)	(+)
İnterferon α	(+)	(+)	(+)
Prolaktin	(+)	(+)	.
bFGFçözünbilirreseptörü	(+)	.	(+)
Plasenta proliferin ilişkili protein	(+)	(+)	(+)

Asidik Fibroblast Büyüme Faktörü (aFGF): Bu büyüme faktörü de heparine affinitesi olan bir endotel hücre mitojenidir (31). Tümör hücrelerinde olduğu gibi normal hücrelerde de bulunur, fakat sadece tümör hücrelerinden dışarı salınabilir (8).

Trombosit Kaynaklı Endotelial Büyüme Faktörü (Platelet-Derived Endothelial Growth Factor-PDGF): Bu sitokin, kan pıhtılaşması sırasında trombositlerden ve vasküler düz kas hücrelerinden salgılanır. Endotel hücre mitojeni olan PDGF'nün bu etkisini gösterebilmesi için endotel hücre yüzey reseptörleri ile etkileşime girmesi şart değildir. Ayrıca endotel hücre migrasyonunu ve diferansiyasyonunu hızlandırır (8).

Transforme edici büyüme faktörü b (Transforming Growth Factor b-TGF-b): Makrofajlar ve aktive trombositler tarafından salgılanan TGF- β 'nin üç izoformu vardır: β_1 , β_2 ve β_3 . Bunların üçü de makrofajlar için kemotaktiktir ve indirekt olarak anjiogenezi uyarırlar. En güçlüleri olan TGF- β_1 doza bağlı olarak etkilidir. Düşük konsantrasyonlarda anjiogenezi uyarırken, yüksek konsantrasyonlarda anjiogenezi durdurucu etkisi vardır (8).

Antianjiogenik Faktörler: Bir tümörde anjiogenik aktivitenin başlaması için, sadece anjiogenik faktörlerin artışı yeterli değildir. Kapiller damar büyümesini sağlayan anjiogenik faktörlerin, bu etkilerini gösterebilmeleri için antianjiogenik fak-

törlerin etkilerini de aşmak zorundadırlar. Anti-anjiogenik faktörler, normal şartlarda damar endotelini uyarılardan koruyarak anjiogenik aktiviteyi durdururlar. Bu faktörlerden bir kısmı, tümör anjiogenik özellik kazandığında tamamen yok olur (2). Bunlardan önemlileri Tablo 2'de gösterilmiştir (20).

Trombospondin: Heparine bağlanan bir glikoprotein olan bu antianjiogenik faktör, endotel hücreleri, epitel hücreleri, fibroblastlar, düz kas hücreleri, monositler ve makrofajlar tarafından salgılanır (32). Heparine bağlandığından ekstrasellüler matrikste depolanabilir (1). Antianjiogenik etkisini endotel hücre proliferasyonunu durdurarak (33) ve endotel hücreleri arasındaki bağlantıları bozarak gösterir (2,8). Endojen bir antianjiogenik faktör olan trombospondin normal şartlarda istirahatteki matür damarlar çevresinde bulunurken, aktif olarak büyüyen damarlar civarında bulunmaz (3). Bu antianjiogenik faktör p53 tümör baskılayıcı gen proteini tarafından kontrol edilir. p53 proteini trombospondin miktarını artırarak anjiogenezin kontrol altında tutulmasını sağlar. Fakat karsinogenez sırasında meydana gelen p53 gen mutasyonları nedeniyle ile p53 proteininin bu fonksiyonu ortadan kalkar (2,8,16,34).

Anjiostatin: 38 kilodalton ağırlığında bir plazminojen fragmanı olan anjiostatin endojen bir antianjiogenik maddedir. Endotel hücre proli-

ferasyonunu ve tümör büyümesini inhibe eder (35). Normal şartlarda kandaki yarılanma ömrü 2,5 gün olan bu antianjiogenik faktör (3) ilk kez farelerde Lewis akciğer karsinomu modelinde tanımlanmıştır. Bu modelde, primertümör varlığında anjiostatinin dolaşımında biriktiği, primer tümörün eksize edilmesinden sonra da dolaşımdan tamamen temizlendiği saptanmıştır. Tümörün eksizeyonundan önce sabit durumda olan ve büyüme göstermeyen mikrometastazların, operasyon sonrası büyümeye başladıkları görülmüştür. Primer tümörün, salgıladığı anjiostatin sayesinde mikrometastazları kontrol altında tuttuğu ve primer tümörün alınması ile anjiostatinin antianjiogenik etkisinden yoksun kalan mikrometastazlarda anjiogenezin, dolayısıyla da tümör büyümesinin başladığı anlaşılmıştır (35). Anjiostatinin bir parçasını oluşturduğu plazminojenin kendisi antianjiogenik değildir. Bu, normalde anjiogenez inhibitörlerinin plazminojen gibi büyük proteinlerde depolandığı fikrini vermektedir. Tümörlerde, bu faktörün tümör hücrelerinden mi salgılandığı, yoksa proteazlar tarafından plazminojenden ayrılarak mı anjiogenezini durdurduğu henüz bilinmemektedir (35).

Endostatin: Endostatin, kan damarlarındaki kollajen tip XVIII'in bir protein fragmanıdır (36). Anjiostatine benzer şekilde endotel hücre proliferasyonunu inhibe eder (8). Bu faktör de anjiostatin gibi tümörün ve metastazlarının büyümesini yavaşlatır. Tümör büyümesine olan bu etkisini, tümör hücrelerindeki apoptoz hızının artmasını sağlayarak gösterir. Tümör hücre proliferasyonuna etkisi azdır (36).

Anjiogenezde bazal membranın rolü: Bazal membran komponentlerinden laminin endotel hücre diferansiasyonunu uyarır ve damarsal bütünlüğün devamını sağlar. Laminin molekülünün biyolojik olarak aktif bölgeleri vardır. Bu bölgeler sayesinde endotel hücrelerine ve tümör hücrelerine bağlanabilir ve bu sayede anjiogenezin düzenlenmesinde ve tümör büyümesinde rol oynar. Bu bağlanma bölgelerinden bazıları, lamininin anjiogenezini uyarmasını sağlar ve bu şekilde damarlanmayı artırarak tümör büyümesinin hızlanmasına yol açar. Diğer taraftan, başka bir bağlanma bölgesi de anjiogenezini bloke eder ve tümör büyümesini yavaşlatır. Normalde laminin molekülünün derin kısımlarında bulunan ve bu nedenle endotel hücrelerine bağlanamayan bu bölgeler bazal membran parçalandığında ortaya çıkarak etkilerini gösterirler (37).

Anjiogenezde diğer hücrelerin rolü: Bir tümördeki anjiogenik moleküllerin tek kaynağının tümör hücreleri olmadığını ve tümör hücrelerinin ortamda makrofajların ve mast hücrelerinin toplanmasını sağladıklarını daha önce belirtmiştik.

İn vitro çalışmalarda, makrofajların endotel hücrelerinin proliferasyonu ve diferansiasyonu üzerinde etkili 20'den fazla faktör salgıladığı gösterilmiştir. Makrofajlar ayrıca ekstrasellüler matriks üzerinden de etkili olabilirler. Bu etkilerini ekstrasellüler matriks komponentlerini sentezleyerek ya da ekstrasellüler matriksi parçalayacak proteazları salgılayarak gösterirler (3). Güçlü bir antianjiogenik madde olan trombospondini salgılamaları da önemli bir noktadır (32). Hem anjiogenik hem de antianjiogenik yönde etki potansiyeli olan makrofajların hangi yönde etkiyeceği, bu faktörler arasındaki dengenin yönüne bağlıdır³. Makrofajların aktivasyonunda hipoksinin rolü büyüktür (38). Tümörün hipoksik olan santral bölgeleri makrofajların anjiogenik hale gelmeleri için uygun bir ortamdır. Makrofajların anjiogenik aktivitesinin fibrin ya da diğer partiküllerin fagositozu sırasında daha da arttığı görülmüştür (39).

Mast hücreleri de benzer şekilde ekstrasellüler matriksin parçalanması, endotel hücrelerinin migrasyonu, proliferasyonu ve diferansiasyonunda rol oynayarak anjiogenezde etkili olur (40). Mast hücrelerinden aralarında bFGF, TGF- α ve VEGF başta olmak üzere birçok anjiogenik faktör salgılanır (3,41). Ayrıca salgıladıkları heparinaz ve triptaz ekstrasellüler matriksten heparine bağlı anjiogenik büyüme faktörlerini serbestleştirir (21,42). Triptaz direkt olarak endotel hücre aktivasyonunu ve proliferasyonunu endotel hücre topluluklarından lumenli damarsal yapıların oluşumunu sağlar (21).

Endotelial büyüme kontrol altında tutan mekanizmalardan biri de endotel hücrelerinin çevrelerindeki diğer hücreler ile aralarındaki temastır (2). Perisitler endotel hücre proliferasyonunu TGF β yoluyla inhibe ederler. Perisitler ile endotel hücrelerinin kültür ortamlarında, TGF β 'nin inaktif bir formunun her iki hücre tipi tarafından üretildiği saptanmıştır. Bu hücreler yakın temas halinde olduklarında, yüksek konsantrasyondaki TGF β aktive olup endotel hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir (43). Bazı dokularda fibroblastların b-interferon salgılayarak endotelial büyümeyi inhibe ettiği görülmüştür. Deneysel çalışmalarda fibroblastların bol bulunduğu bölgelerde belirli tümör tiplerinin büyümelerinin daha yavaş olduğu saptanmıştır (2).

Cerrahinin anjiogeneze etkisi: Tümör büyümesinin, iyileşmekte olan yaralarda, çevre dokulardakinden daha hızlı olduğu saptanmıştır. Cerrahiden sonraki iki saat içerisinde yara bölgesine ulaşan tümör hücrelerinin metastaz yapma olasılığının normal dokudakine oranla çok daha yüksek olduğu bildirilmektedir (8,44). Ayrıca, tümör hücreleri tarafından dolaşıma salgılanan ve mikrometastazların büyümesini kontrol altında tutan antianjiogenik faktörler, anjiostatin ve endostatin, primer tümörün eksizyonundan sonraki 5 gün içerisinde dolaşımdan kaybolduğundan, metastatik odaklar hızlı bir büyüme dönemine girmektedir (35). Bu mikrometastazlarda tümör hücre proliferasyonunun artmasından çok, tümör hücrelerinde apoptoz oranının azaldığı saptanmıştır (8).

Anjiogenezi doza bağlı olarak artırma etkisi olan endotoksinin (45) açık cerrahi sonrası dolaşımda arttığı bilinmektedir. Bu madde makrofajlardan VEGF salgılanmasını uyarır (8). Erken post-operatif dönemde VEGF'ün serum seviyesini arttığı saptanmıştır. Bu durumun da cerrahi sonrası hızlı tümör büyümesinde rolü olabileceği düşünülmektedir (46).

Anjiogenik aktivitenin ölçümü: Tümör tanısı konduğu sırada, tümörün damarlanma yoğunluğunu ölçerek metastaz ve rekürens riskini saptamak mümkündür (20). Çeşitli kanser türlerinde, tümör mikrodamar yoğunluğunun prognostik değerini ortaya koyan birçok çalışma yapılmıştır (47-60). Yüksek mikrodamar yoğunluğunun yüksek metastaz riskine işaret etmesinin nedeni, tümör hücrelerinin daha geniş bir vasküler yüzeyden dolaşıma kaçma olasılığının daha yüksek olmasıdır (2). Tümörün histolojik kesitlerinde, mikrodamar yoğunluğunun, damarları (endotel hücrelerini) immunhistokimyasal yöntemler ile işaretleyerek saptamak bu çalışmalarda sık kullanılan yöntemdir (2,47-58,61). İşaretleme için en sık kullanılan panendotelial belirleyiciler faktör VIII'e, CD31'e ve CD34'e karşı geliştirilen antikorlardır. İşaretlenen endotel hücreleri ve endotel hücre toplulukları sayılarak tümör damarlanmasının ölçümü yapılmaktadır (2). Ancak, bu yöntemle damarların tamamı işaretlendiğinden, bunlardan hangilerinin yeni proliferen olan damarlar olduğu saptanamamaktadır. Bu nedenle sadece aktif proliferasyon göstermekte olan damarlara yönelik antikorlar geliştirilmeye çalışılmaktadır (62).

Kanser hastalarının kanında ve vücut sıvılarında anjiogenik faktörlerin ölçümü ile anjiogenik aktivite-

tenin indirekt olarak saptanması da mümkündür (2). Bu ölçümler birçok kanser türünde prognostik veriler sağlamaktadır (3).

Antianjiogenik tedavi: Antianjiogenik tedavi, öncelikle dolaşımda bulunan ve proliferen olan küçük tümör hücre topluluklarını hedeflemektedir (20). Bu tedavini diğer bir amacı da, tümörleri küçük boyutlu, metastatik potansiyeli düşük, kemoterapiye ve hücre aracılı immunolojik saldırıya duyarlı kitleler haline getirmek ve bu halde sabit tutmaktır (8). Tümördeki anjiogenik aktivitenin durdurulmasının, tümör üzerinde sitotoksik değil, sitostatik bir etkisi vardır (63). Büyük tümör kitlelerinde, interstisyel basıncı azaltarak kemoterapi ajanlarının tümör hücrelerine ulaşmasını kolaylaştırır ve tümörün kemoterapiye duyarlılığını artırır. Bu nedenle, antianjiogenik ve sitotoksik kemoterapi ajanlarının kombinasyonu, bu iki tedavi tipinin tek tek uygulanmasından çok daha etkili sonuçlar sağlamaktadır (20,64).

Folkman'ın 1971 yılında, tümör anjiogenezinin durdurmanın bir kanser tedavisi seçeneği olabileceği teorisini öne sürmesinin (65) ardından geçen 30 yıl içinde yapılan birçok araştırma sayesinde, bugün bu olayın gerçekleşme mekanizmaları büyük ölçüde ortaya konmuş ve birçok kanser tipinde, tümör damarlanması prognostik parametrelerden biri olarak kabul edilmiştir. Damar oluşumunu engellemeye yönelik yeni moleküllerin arayışı sonucunda, kanser tedavisinde klinik olarak umut verici sonuçlar elde edilmektedir. Bu çalışmalar gelecek yıllarda yeni tedavi seçeneklerinin de ortaya çıkmasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Flam F: Tumors need capillaries. Why not try to stop them from growing? *Ovarian Cancer Research Notebook*. 1997 March 16 (15 Nisan 2000). URL: <http://www.slip.net/~mcdavis/database/angio27.htm>
2. Folkman J: Tumor angiogenesis. In: Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA, eds. *The molecular basis of cancer*. Philadelphia: W.B.Saunders Company; 1995. P. 206-232.
3. Norrby K: Angiogenesis: New aspects relating to its initiation and control. *APMIS* 1997; 105:417-437.
4. Hart IR, Saini A: Biology of tumour metastasis. *Lancet* 1992; 339:1453-1457.
5. Folkman J, Shing Y: Angiogenesis. *J Biol Chem* 1992; 267:10931-10934.

6. Brooks PC: Cell adhesion molecules in angiogenesis. *Cancer Metas Rev* 1996; 15:187-194.
7. Hanahan D, Folkman J: Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996; 86:353-364.
8. McNamara DA, Harmey JH, Walsh TN, Redmond HP, Boucher-Hayes DJ: Significance of angiogenesis in cancer therapy. *Br J Surg* 1998; 85:1044-1055.
9. Folkman J, Merler E, Abernathy C, Williams SC: Isolation of tumor factor responsible for angiogenesis. *J Exp Med* 1971; 133:275-288.
10. Boehm-Viswanathan T: Is angiogenesis inhibition the holy grail of cancer therapy? *Curr Opin Oncol* 2000; 12:89-94.
11. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D: Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 1989; 339:58-61.
12. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J: Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. *N Eng J Med* 1991; 324:1-8.
13. Weidner N, Folkman J, Pozza F, Bevilacqua P, Allred E, Moore DH, Meli S, Gasparini G: Tumor angiogenesis: A new significant and independent prognostic indicator in early breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84:1875-1887.
14. Weidner N, Carroll PR, Flax J, Blumenfeld W, Folkman J: Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am J Pathol* 1993; 143:401-409
15. Rastinejad F, Polverini PJ, Bouck NP: Regulation of the activity of a new inhibitor of angiogenesis by a cancer suppressor gene. *Cell* 1989; 56:345-355
16. Pietsenpol JA, Vogelstein B: No room at the p53 inn. *Nature* 1993; 365:17-18.
17. Jiang WG, Puntis CA, Hallett MB: Molecular and cellular basis of cancer invasion and metastasis: implications for treatment. *Br J Surg* 1994; 81:1576-1590.
18. Fidler IJ, Ellis LM: The implications of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis. *Cell* 1994; 79:185-188.
19. Liotta LA, Sidel G, Kleinerman J: The significance of hematogenous tumor cell clumps in the metastatic process. *Cancer Res* 1976; 36:889-894.
20. Folkman J: Clinical applications of research on angiogenesis. *N Eng J Med* 1995; 333:1757-1763.
21. Blair RJ, Meng H, Marchese MJ, Ren S, Schwartz LB, Tonnesen MG, Gruber BL: Human mast cells stimulate vascular tube formation. *J Clin Invest* 1997; 99:2691-2700.
22. Good DJ, Polverini PJ, Rastinejad F, Le Beau MM, Lemons RS, Frazier WA, Bouck NP: A tumor suppressor dependent inhibitor of angiogenesis is immunologically and functionally indistinguishable from a fragment of trombospondin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:6624-6628.
23. Winlaw DS: Angiogenesis in the pathobiology and treatment of vascular and malignant diseases. *Ann Thorac Surg* 1997; 64:1204-1211.
24. Jakeman LB, Winer J, Bennet GL, Altar A, Ferrara N: Binding sites for vascular endothelial growth factor are localized on endothelial cells in adult rat tissues. *J Clin Invest* 1992; 89:244-253.
25. Levy AP, Levy NS, Goldberg MA: Post-transcriptional regulation of the vascular endothelial growth factor by hypoxia. *J Biol Chem* 1996; 271:2746-2753.
26. Namiki A, Brogi E, Kearney M, Kim EA, Wu T: Hypoxia induces vascular endothelial growth factor in cultured human endothelial cells. *J Biol Chem* 1995; 270:31189-31195.
27. Rifkin DB, Moscatelli D: Recent developments in the cell biology of basic fibroblast growth factor. *J Biol Chem* 1989; 109:1-6.
28. Mukhopadhyay D, Tsiokas L, Sukhatme VP: Wild-type p53 and v-Src exert opposing influences on human vascular endothelial growth factor gene expression. *Cancer Res* 1995; 55:6161-6165.
29. Mignatti P, Rifkin DB: Release of basic fibroblast growth factor, an angiogenic factor devoid of secretory signal sequence-a trivial phenomenon of a novel secretory mechanism? *J Cell Biochem* 1991; 47:201-207.
30. Folkman J, Klagsbrun M, Sasse J, Wadzinski M, Ingber D, Vlodavsky I: A heparin binding angiogenic protein -basic fibroblast growth factor- is stored within basement membrane. *Am J Pathol* 1988; 130:393-400.
31. Folkman J, Klagsbrun M: Angiogenic factors. *Science* 1987; 235:442-447.
32. Raugi GJ, Mumby SM, Abbott-Brown D, Bornstein P: Trombospondin: synthesis and secretion by cells in culture. *J Cell Biol* 1982; 95:351-354.
33. Taraboletti C, Roberts D, Liotta LA, Giavazzi R: Platelet trombospondin modulates endothelial cell adhesion, motility and growth: A potential angiogenesis regulatory factor. *J Cell Biol* 1990; 111:765-772.
34. Dameron KM, Volpert OV, Tainsky MA, Bouck N: Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of trombospondin-1. *Science* 1996; 86:353-364.
35. O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, Chen C, Rosenthal RA, Moses M, Lane WS, Cao Y, Sage EH, Folkman J: Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastasis by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994; 79:315-328.
36. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, Flynn E, Birkhead JR, Olsen BR, Folkman J: Endostatin: an endogenous inhibitor

- of angiogenesis and tumour growth. *Cell* 1997; 88:277-285.
37. Grant DS, Kibbey MC, Kinsella JL, Cid MC, Kleinman HK: The role of basement membrane in angiogenesis and tumor growth. *Path Res Pract* 1994; 190:854-863.
 38. Knighton DR, Hunt TK, Scheuenstuhl H, Halliday BJ, Werb Z, Bands MJ: Oxygen tension regulates the expression of angiogenesis factor by macrophages. *Science* 1983; 221:1283-1285.
 39. Dvorak HF: Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Eng J Med* 1986; 315:1650-1659.
 40. Ryan TJ: Factors influencing the growth of vascular endothelium in the skin. *Br J Dermatol* 1970; 82:99-106.
 41. Qu Z, Liebler JM, Powers MR, Galey T, Ahmadi P, Huang XN, Ansel JC, Butterfield JH, Planck SR, Rosenbaum JT: Mast cells are a major source of basic fibroblast growth factor in chronic inflammation and cutaneous hemangioma. *Am J Pathol* 1995; 147:564-573.
 42. Bashkin P, Razin E, Eldor A, Vladovsky I: Degranulating mast cells secrete an endoglycosidase that degrades heparan sulfate in subendothelial extracellular matrix. *Blood* 1990; 75:2204-2212.
 43. Sato Y, Tsuboi R, Lyons R, Moses H, Rifkin DB: Characterization of the activation of latent TGF-beta by co-cultures of endothelial cells and pericytes or smooth muscle cells: A self-regulating system. *J Cell Biol* 1990; 111:757-763.
 44. Murthy SM, Goldschmidt RA, Rao LN, Ammirati M, Buchmann T, Scanlon EF: Influence of surgical trauma on experimental metastases. *Cancer* 1989; 64:2035-2044.
 45. Mattsby-Baltzer I, Jakobsson A, Sorbo J, Norrby K: Endotoxin is angiogenic. *Int J Exp Pathol* 1994; 75:191-196.
 46. Pidgeon GP, Harmey JH, Kay E, Da Costa M, Redmond HP, Bouchier-Hayes DJ: The role of endotoxin/lipopolysaccharide in surgically induced tumour growth in a murine model of metastatic disease. *Br J Cancer* 1999; 81:1311-1317.
 47. Lu C, Tanigawa N: Spontaneous apoptosis is inversely related to intraluminal microvessel density in gastric carcinoma. *Cancer Res* 1997; 57:221-224.
 48. Tanigawa N, Amaya H, Matsumura M, Shimomatsuya T: Association of tumour vascularity with tumour progression and overall survival of patients with non-early gastric carcinomas. *Br J Cancer* 1997; 75:566-571.
 49. Weidner N, Caroll PR, Flax J, Blumenfeld W, Folkman J: Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am J Pathol* 1993; 143:401-409.
 50. Horak ER, Leek R, Klenk N, Lejeune K, Stuart N, Greenall M, Stepniewska K, Harris AL: Angiogenesis, assessed by platelet/endothelial cell adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastases and survival in breast cancer. *Lancet* 1992; 340:1120-1124.
 51. Maeda K, Chung Y, Takatsuka S, Ogawa Y, Sawada T, Yamashita Y, Onoda N, Kato Y, Nitta A, Arimoto Y, Kondo Y, Sowa M: Tumor angiogenesis as a predictor of recurrence in gastric carcinoma. *J Clin Oncol* 1995; 13:477-481.
 52. Vartanian RK, Weidner N: Endothelial cell proliferation in prostatic carcinoma and prostatic hyperplasia: Correlation with Gleason's score, microvessel density and epithelial cell proliferation. *Lab Invest* 1995; 73:844-850.
 53. Brawer MK, Deering RE, Brown M, Preston SD, Bigler SA: Predictors of pathologic stage in prostatic carcinoma. *Cancer* 1994; 73:678-687.
 54. Wakui S, Furusato M, Itoh T, Sasaki H, Akiyama A, Kinoshita I, Asano K, Tokuda T, Aizawa S, Ushigome S: Tumour angiogenesis in prostatic carcinoma with and without bone marrow metastasis: a morphometric study. *J Pathol* 1992; 168:257-262.
 55. Tanigawa N, Amaya H, Matsumura M, Lu C, Kitaoka A, Matsuyama K, Muraoka R: Tumour angiogenesis and mode of metastasis in patients with colorectal cancer. *Cancer Res* 1997; 57:1043-1046.
 56. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J: Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma. *N Eng J Med* 1991; 324:1-8.
 57. Weidner N, Folkman J, Pozza F, Bevilacqua P, Allred E, Moore DH, Meli S, Gasparini G: Tumor angiogenesis: A new significant and independent prognostic indicator in early breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84:1875-1887.
 58. Bigler SA, Deering RE, Brawer MK: Comparison of microscopic vascularity in benign and malignant prostate tissue. *Hum Pathol* 1993; 24:220-226.
 59. Brawer MK: Quantitative microvessel density. A staging and prognostic marker for human prostatic carcinoma. *Cancer* 1996; 78: 345-349.
 60. Crew JP, O'Brien TS, Harris AL: Bladder cancer angiogenesis, its role in recurrence, stage progression and as a therapeutic target. *Cancer Met Rev* 1996; 15:221-230.
 61. Kılıçaslan I, Güllüoğlu MG, Özcan F, Esen T, Kaya A, Uysal V: Prostat karsinomunda patolojik evre ve grade ile anjiogenik aktivitenin ilişkisi. *İst Tıp Fak Mecmuası* 1999; 62:325-330.
 62. Marson LP, Miller WR, Dixon JM: Angiogenesis and breast cancer. *The Breast* 1998; 7:299-307.
 63. Harris AL: Antiangiogenesis for cancer therapy. *Lancet* 1997; 349(Suppl II):13-15.
 64. Teicher BA, Holden SA, Ara G, Sotomayor EA,

Huang ZD, Chen YN, Brem H: Potentiation of cytotoxic cancer therapies by TNP-470 alone and with other anti-angiogenic agents. *Int J Cancer* 1994; 57:920-925

65. Folkman J: Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N Eng J Med* 1971; 285:1182-1186.

YAZIşMA ADRESİ:

Dr.Ferhunde DİZDAROĞLU
Dr.Mine G.GLLOĞLU
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Patoloji ABD, İSTANBUL