

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GASTRİK KARSİNOMLAR İLE LENF NODU
METASTAZLARINDA COX-2, VEGF EKSPRESYONU
VE ANJIOGENEZİLE İLİŞKİSİ**

“UZMANLIK TEZİ”

Dr. Özlem EKİCİ

Danışman : Doç. Dr. Çiğdem TOKYOL

AFYONKARAHİSAR 2008

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Başlığı : Gastrik Karsinomlar İle Lenf Nodu
Metastazlarında COX-2, VEGF
Ekspresyonu ve Anjiogenezisle İlişkisi

Tezi Hazırlayan : Dr. Özlem Ekici

Tez Savunma Tarihi :

Tez Kabul Tarihi :

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Çiğdem Tokyol

İş bu çalışma jürimiz tarafından PATOLOJİ ANABİLİM DALI'ında TIPTA
UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

ONAY

DEKAN

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmalarım ve uzmanlık eđitimim sűresince, bilgi ve deneyimlerinden faydalandıđım deđerli tez danıőmanım Doç. Dr. Çiđdem Tokyol hocama yardımları için teőekkűr ederim.

Uzmanlık eđitimim ve tez çalıőmalarım sűresince katkı ve desteklerini esirgemeyen deđerli hocalarım Doç. Dr. Hűsniye Dilek, Doç. Dr. Fatma Aktepe ve Yrd. Doç. Dr. Őnder Őahin'e teőekkűr ederim.

Eđitimim boyunca birlikte çalıőtıđım, yardımlarını gűrdűđűm asistan arkadaşlarıma ve tűm laboratuvar çalıőanlarına teőekkűr ederim.

Uzmanlık eđitimim ve tez çalıőmalarım sűresince maddi ve manevi desteđini esirgemeyen sevgili eőim Dr. Eyűp Ekici'ye sonsuz teőekkűrler.

Asistanlık eğitimim sűresince pek çok anında yanında olamadığım canım oğlum Ahmet Emre Ekici'ye ithafen.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
KISALTMALAR.....	IV
TABLO LİSTESİ.....	V
ŞEKİLLER.....	VI
I. GİRİŞ ve AMAÇ	1
II. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Mide Karsinomları.....	2
2.1.1. Yaş ve Cinsiyet.....	2
2.1.2. Etyoloji.....	2
2.1.2.1.H.pilori enfeksiyonu.....	3
2.1.2.2. Diyet.....	5
2.1.2.3.Diğer Çevresel Faktörler.....	6
2.1.2.4.Kronik Gastrit.....	6
2.1.2.5. Safra Reflüsü.....	6
2.1.2.6. Mide Adenomları.....	7
2.1.2.7. Genetik Faktörler.....	7
2.1.2.8. Diğer Faktörler.....	7
2.1.3. Lokalizasyon.....	8
2.1.4. Klinik Bulgular.....	8
2.1.5. Sınıflandırma.....	8
2.1.5.1. İntestinal tip.....	11
2.1.5.2. Diffüz tip	11
2.1.5.3. Erken Evre Mide Karsinomu.....	13
2.1.5.4. İleri Evre Mide Karsinomları.....	14
2.2. Mide Kanserinin Morfolojik ve Histopatolojik Özellikleri.....	15
2.2.1. Tubuler Adenokarsinom.....	15
2.2.2. Papiller Adenokarsinom.....	15
2.2.3. Müsinöz Adenokarsinom	15
2.2.4. Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom.....	16
2.2.5. Adenoskuamöz Karsinom.....	16
2.2.6. Skuamöz Hücreli Karsinom.....	17

2.2.7. İndiferansiye Karsinom.....	17
2.3. Histolojik dereceleme sistemi.....	17
2.3.1. Klinikopatolojik Evreleme.....	17
2.4. Prognostik Faktörler	19
2.5. Tümöral Anjiogenezis	21
2.6. Siklooksijenazlar	25
2.7. Vasküler Endotelyal Growth Faktör.....	27
III. GEREÇ ve YÖNTEM.....	29
3.1. Olgu Seçimi.....	29
3.2. İmmünohistokimya.....	29
3.3. Değerlendirme.....	31
3.4. İstatiksel Analiz.....	33
IV.BULGULAR.....	34
V.TARTIŞMA.....	48
VI.SONUÇLAR.....	58
VII.ÖZET.....	59
VIII.SUMMARY.....	61
IX.KAYNAKLAR.....	63

KISALTMALAR

COX	: Siklooksijenaz
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
H.pilori	: Helikobakter pilori
FAP	: Familyal Adenomatöz Polipozis
EBV	: Ebstein Barr Virüsü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
TAF	: Tümör Anjiogenezis Faktör
bFGF	: basic fibroblastik growth faktör
MVD	: Mikrodamar Dansitesi
PG	: Prostaglandin
PIGF	: Plasenta büyüme faktörü
NSAİ	: Non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar
HE	: Hematoksilen-eozin
SEM	: “Standart error of mean”

TABLO LİSTESİ

Tablo I	: Mide karsinomunda major risk faktörleri.....	3
Tablo II	: Gastrik karsinom sınıflamasının tarihi süreci	10
Tablo III	: TNM sınıflaması.....	18
Tablo IV	: Evreleme grupları.....	19
Tablo V	: Proanjiogenik ve antianjiogenik moleküller	22
Tablo VI	: Primer antikorların klonları, inkübasyon süreleri, dilüsyon oranları.....	30
Tablo VII	: VEGF, COX-2 derecelemesi	31
Tablo VIII	: COX-2 ve VEGF derecelemesi.....	31
Tablo IX	: MVD derecelemesi	33
Tablo X	: Tümör ve hasta özellikleri	35
Tablo XI	: Karsinom olgularının cinsiyet, yaş, tümör çapı, tümör derecelemesi, lenf nodu metastaz durumları ile COX-2, VEGF, CD34 boyanma derecelemesi	36
Tablo XII	: Mide karsinomlu olgularda COX-2 boyanma derecelemesi.....	37
Tablo XIII	: Tümör ve normal mukozada COX-2, VEGF ve MVD derecelemesi ortalaması.....	39
Tablo XIV	: Lenf nodu metastazı pozitif olguların lenf nodunda COX-2 boyanma derecelemesi.....	40
Tablo XV	: Lenf nodlarında COX-2, VEGF ve CD34 boyanma derecelemesi ortalaması.....	41
Tablo XVI	: Mide karsinomlu olgularda VEGF boyanma derecelemesi... ..	42
Tablo XVII	: Lenf nodu metastazı pozitif olguların lenf nodlarında VEGF boyanma derecelemesi.....	44
Tablo XVIII	: Tümör,mukoza ve lenf nodu metastazlarının MVD derecelemesi.	46
Tablo XIX	: İyi ve orta diferansiye mide karsinomları ile kötü diferansiye karsinomların MVD derecelemesi ortalaması.....	47

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	: İntestinal tip mide kanserinin gelişiminin şematik gösterimi.....	5
Şekil 2	: Erken mide kanserinin makroskopik sınıflaması	13
Şekil 3	: İlerlemiş mide kanserinin makroskopik sınıflaması.....	14
Şekil 4	: Fosfolipidler ve araşidonik asit metabolizması	26

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Gastrik karsinomlar bütün dünyadaki kanser ölümlerinde ilk sıralarda yer almaktadır. Adenokarsinom midenin en sık görülen malign tümörüdür.

Son yıllarda siklooksijenazların özellikle gastrointestinal sistemde olmak üzere kanser oluşumunda rolleri olduğuna dair veriler bulunmuştur. Hücre duvarı fosfolipidlerinden oluşturulan araşidonik asitten, siklooksijenazlar (COX) adı verilen enzimler ile prostaglandinler oluşmaktadır. Prostaglandin sentetaz enzimleri olarak da adlandırılan COX'ların bugün bilinen 3 izoformu vardır. COX-2, COX enziminin bir izoformu olup, inflamatuvar süreç ve karsinogenezle ilişkili olduğuna dair çalışmalar mevcuttur.

Anjiogenezis, tümör hücrelerinin büyümesi ve metastazında önem taşır. Solid tümörlerin büyük çoğunluğu uzamış avasküler evre sonucunda maksimum 1-2 mm çapa ulaşabilir. Tümöral kitlenin sürekli olarak genişlemesi ve hematojen metastaz oluşturması için konakçı damarlarından kendisine doğru yeni kapiller damarların tomurcuklanması ve sonuçta tümöral kitleyi infiltre etmesine yol açan anjiogenezisi başlatabilir. Tümöral anjiogenezis CD31, CD34 ve Faktör 8 ile saptanabilir. VEGF, anjiogenik, mitojenik ve vasküler geçirgenlikten sorumlu spesifik hücre sitokinidir. COX-2 inflamatuvar sitokinlerin indüklediği anjiogeneziste anahtar rol oynayan bir enzimdir. Hem COX-2 hem de VEGF tümörün büyümesi ve metastazında önemli olan anjiogenezis ve lenfanjiogenezisten sorumludur.

Çalışmanın amacı, diffüz ve intestinal tip mide adenokarsinomları ile varsa bunların lenf nodu metastazlarında, tümör dokusunda COX-2 ve VEGF immünreaktivitelerini belirlemek, bunların anjiogenezle ve histopatolojik prognostik parametrelerle olan ilişkisini araştırmaktır. Bu amaçla Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na 2000-2006 yılları arasında gelen ve mide adenokarsinom tanısı alan 33 hastaya ait gastrektomi ve lenf nodu disseksiyon materyallerinin parafin blokları kullanılmıştır. Bu bloklardaki tümör dokusuna ve lenf nodu metastazlarına immünohistokimyasal yöntem kullanılarak COX-2, VEGF ve CD34 boyaları uygulanmıştır.

II-GENEL BİLGİLER

2 -1. MİDE KARSİNOMLARI:

Mide karsinom insidansı son 60 yıl içinde hem görülme sıklığında hem de mortalitede düzenli bir azalma göstermesine rağmen, halen dünyada ikinci en sık görülen malign tümördür. İnsidansı ülkelere göre değişmekle beraber %60'ı gelişmiş ülkelere ortaya çıkar. Japonya başta olmak üzere Çin, Kolombiya, Rusya, Bulgaristan, Doğu Asya, Doğu Avrupa ve Güney Amerika'da yüksek oranda görülür. Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa, Avustralya, Yeni Zelanda ve pek çok Afrika ülkesinde ise daha düşük oranda karşımıza çıkar (1-3).

Yüksek riskli bölgelerde intestinal tip adenokarsinom daha sık izlenirken, diffüz tip adenokarsinom rölatif olarak düşük riskli bölgelerde ortaya çıkar (1-3).

Türkiye'de ise 1997 yılında Sağlık Bakanlığı tarafından yapılan kanser bildirimlerinin değerlendirilmesinde kadın ve erkeklerde 3.sıklıkta rastlanılan kanser türü olduğu tespit edilmiştir (4).

2 .1.1. Yaş ve Cinsiyet

Gastrik karsinom 30 yaş altında çok nadir görülür. İnsidans yaşla birlikte artar. Hastaların çoğu 50 yaşın üzerinde olmakla birlikte literatürde çocuklarda görülen olgular da bildirilmiştir (3). İntestinal tipin yaş ilerledikçe görülme sıklığı artar; ortalama görülme yaşı 55'tir. Erkeklerde 2 kat daha sık izlenir. Diffüz tip daha erken yaşlarda, ortalama 48 yaş civarında görülür. Erkek ve kadın hemen hemen eşit oranda etkilenir. Diffüz tipin herediter geçiş gösteren bir yapısı vardır (1,2).

2. 1.2. Etyoloji

Mide karsinomunun etyolojisi multifaktöriyel olup, çoğunlukla uzun süreli atrofik gastrit sonrası gelişir. Genetik faktörlerden çok çevresel faktörler etkilidir (1). Major risk faktörleri Tablo I'de özetlenmiştir. Bu risk faktörleri intestinal tip

mide kanserleri için geçerlidir. Diffüz tipin risk faktörleri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (2).

Tablo I * . Mide Karsinomunda Major Risk Faktörleri

<i>Çevresel Faktörler</i>
<ul style="list-style-type: none">• Helikobakter pilori (H. pilori) enfeksiyonu• Diyet• Düşük sosyoekonomik durum• Sigara
<i>Kişisel Faktörler</i>
<ul style="list-style-type: none">• Kronik Gastrit• Parsiyel gastrektomi• Barret özefagusu• Mide adenomları
<i>Genetik Faktörler</i>
<ul style="list-style-type: none">• A kan grubuna sahip erişkinler• Familyal gastrik karsinom sendromu• Familyal gastrik kanser öyküsü• Herediter nonpolipozis kolon sendromu

* : Chen Liu, JM Crawford, The Gastrointestinal Tract. In: Kumar V, Abbas A, Fausto N, eds. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Elsevier Philadelphia, 2005;7th ed:822-826.

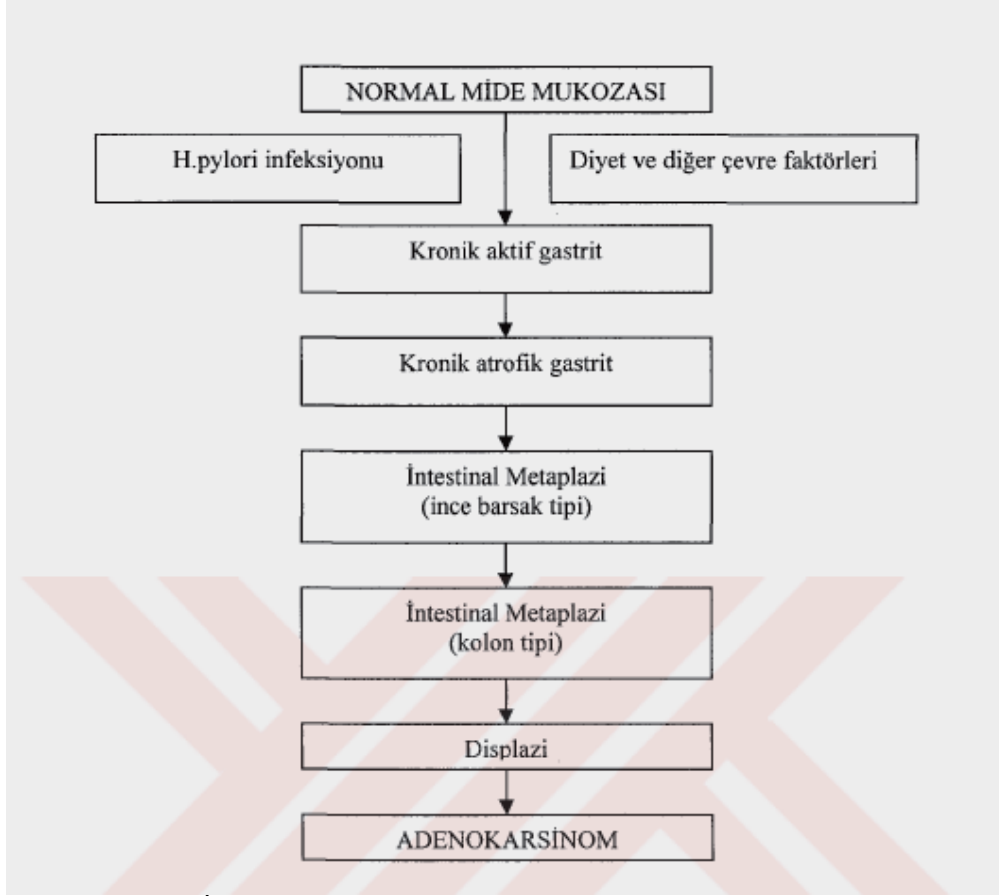
2.1.2.1. H.Pilori Enfeksiyonu

Helikobakter pilori (H.pilori), mide karsinom oluşumunda önemli role sahip kronik gastrit gelişiminin en önemli etyolojik faktörüdür. Bakteriyel enfeksiyon önce kronik gastrit sonra sırasıyla atrofi, intestinal metaplazi, displazi ve ardından kanser gelişimine neden olur (Şekil 1). Gastrit ve atrofi sonucu mide asiti azalır, pH artar, flora değişir ve anaerob bakteriler midede kolonize olur. Bu bakteriler aktif redüktaz oluşturarak, besinlerdeki nitratı nitrite çevirir. Bu aktif molekülde amin, amid ve üreazla reaksiyona girerek karsinojenik N-nitrozo bileşiklerini oluşturur. H.pilori'de bir gastrik patojen olarak etki eder ve kronik

gastritin en sık nedeni olarak karsinojenik kaskadın birkaç basamağında önemli rol oynar. H.pilori, asid-pepsin salınımını ve intragastrik askorbik asit konsantrasyonunu azaltarak antioksidan fonksiyonu bozar (1,5-7).

H.pilori genetik olarak heterojendir. Tüm suşları kanser gelişiminde rol almaz. H.pilorinin Cag A geni içeren suşları inflamasyonu aşırı derecede uyarak karsinogenezde rol alır. H.pilorinin Vac A geni içeren suşları ise sitotoksin salgılayarak apoptozu uyarır, epitelde hücre hasarına yol açar. Böylece gastrik karsinogenezde rol alır. Cag A ve Vac A pozitif suşlar, insana en yakın deney hayvanı olan Mongolian gerbillerde, intestinal metaplazi ve gastrik karsinoma neden olmaktadır. H.pilorinin gastrik epitel hücresiyle direkt teması Cag A'nın hücreye girişiyle olur ve sinyal transdüksiyon yolunu başlatır. Bu yolların aktivasyonu proliferasyon ve büyümeyi artırır. H.pilori büyüme faktörlerini sitokin, kemokin ve reseptörlerini, apoptoz proteinlerini, transkripsiyon faktörlerini, adezyon proteinleri ve inhibitörlerini kodlayan genleri değiştirir. Endotel hücrelerini aktive eder. H.pilori ile enfekte midede proliferasyon yüksek olup, replikasyon hataları belirginleşir ve sonraki hücre neslinde ortaya çıkar. Bu olayı takiben, ekzojen ve endojen karsinojenlerin etkisiyle oluşan spontan mutasyonlarda neoplastik dönüşüme neden olur. H.pilorinin üreaz enzimi etkisiyle serbestleşen amonyak da, hücre replikasyonuna yol açar. Ayrıca gastrit, oksidan ve nitrik oksitte dahil olmak üzere reaktif azot ara ürünlerini artırır. Sonuçta oluşan nitrozo bileşiklerinin, deney hayvanlarında, gastrik karsinojen olduğu kanıtlanmıştır. Serbest radikaller, oksidanlar ve reaktif azot ürünleri, DNA hasarına neden olur. Nitrik oksit yalnızca DNA hasarına yol açmakla kalmaz, aynı zamanda tamir mekanizmalarını da bozar (1,5-7).

Askorbik asit, kandan gastrik lümeneye aktif transportla geçen bir antioksidandır. Askorbik asit, antikanserojenik etkisini hücreyi oksidatif DNA hasarından koruyarak gerçekleştirir. H.pilori ile enfekte kişilerde kanda intragastrik askorbik asit konsantrasyonu azalır. H.pilori'ye yönelik tedavi sonrası ise intragastrik askorbik asit konsantrasyonu artar (5-7).



Şekil 1. İntestinal tip mide kanserinin gelişiminin şematik gösterimi. Eğilmez R, Bekar E. Mide kanserinin prekürsör lezyonları. Türk Neoplazi dergisi 1997;5 (2):105-111.

2.1.2.2. Diyet

Farklı popülasyonlardaki epidemiyolojik çalışmalar mide kanserinin en tutarlı ilişkisinin diyetle olduğunu göstermiştir. Bu özellik intestinal tip karsinomlar için geçerlidir. Yiyecek direkt karsinojen olabilir veya yiyeceğin hazırlanması, korunması ve sindiriminden sonra karsinojen maddeye dönüşebilir(1-3).

Çok fazla miktarda tüketilen tuzlanmış etin, kuru-tuzlu balık ile bekletilmiş sebzelerin, konservede koruyucu olarak kullanılan nitratlı et ve tuzlu sosların yüksek mide kanseri riski taşıdığı öne sürülmektedir. Taze yeşil sebze ve

meyvelerin fazla miktarda alımı, muhtemelen antioksidan koruyucu etkileri nedeniyle, mide kanserlerinden koruyucu olduğu gösterilmiştir (1-3).

Özetle ;

- 1) Aşırı tuzlu-tütsülenmiş yiyecekler
- 2) Düşük hayvansal yağ ve protein
- 3) Fazla hububat (kompleks karbonhidrat içeren)
- 4) Nitrat ile kontamine su
- 5) Sebze turşularının bulunduğu beslenme şekillerini uygulayan toplumların mide kanseri için yüksek risk taşıdıkları belirtilmektedir.

Askorbik asit, karoten, folat ve tokoferolün ise mide karsinomundan koruyucu etkisi bulunmaktadır. Alkol, tütün, mesleki nitrozamin ve inorganik maddelere maruziyetin gastrik karsinomla ilişkisi ise belirsizdir (1-3).

2.1.2. 3. Diğer Çevresel Faktörler

Genel olarak mide kanser insidansı ekvatordan uzaklaştıkça artmaktadır. Japonya gibi yüksek riskli bölgelerden, ABD gibi düşük riskli bölgelere göç eden ailelerin birinci jenerasyon üyelerinde kanser insidansının azaldığı fakat ABD'deki insidansa göre hala yüksek olduğu izlenmiştir (2). Sosyoekonomik durumu düşük kişilerde görülme insidansı yüksektir (2).

2.1.2.4. Kronik Gastrit

Kronik mukozal inflamatuvar değişikliklerin yol açtığı mukozal atrofi ve epitelyal metaplazi varlığı olarak tanımlanır. Bu durum displaziye, buradan karsinoma doğru bir zemin oluşturur (8).

2.1.2.5. Safra Reflüsü

Gastrik cerrahi sonrası özellikle safra reflüsünü arttıran Billroth 2 operasyonundan 5-10 yıl sonra mide karsinom riski artar. Parsiyel gastrektomi sonrası hipo ve aklorhidri gelişmesi, safra reflüsü sonrasında kronik gastrit gelişimi, güdük yerinden bakteri kolonizasyonu, bu bakterilerin nitratları

tüketerek kanserojen olan nitrozaminleri oluşturması gibi birbirleriyle ilişkili olaylar dizisi ile bu etyoloji açıklanmaya çalışılmaktadır (1-3).

2.1.2.6. Mide Adenomları

Adenomlarda malign transformasyon tümörün çapına ve histolojik grade'ine bağlıdır. Adenom 2 cm'den küçük ise transformasyon riski yaklaşık %2, 2 cm'den büyük ise %40-50 civarındadır. "Flat" adenomların karsinomlaşma riski en fazladır (1).

Fundik gland polipleri H.pilori gastritiyle ilişkili olmayıp genellikle sporadik olarak ortaya çıkar. Uzun süreli protein pompa inhibitörü kullananlarda ve famiyal adenomatöz polipozis'li (FAP) hastalarda da görülebilir. Spontan fundik gland polipin kanserleşme riski yokken, FAP'li hastalarda displazi ve karsinom gelişme riski mevcuttur (1).

2.1.2.7. Genetik Faktörler

Mide karsinomları genellikle sporadik gelişir (1). Sporadik mide karsinomlu olguların birinci derece akrabalarında kanser görülme riski 2-3 kat fazladır (5). Mide kanserlerinin %1-3'ü herediter olup, bunların üçte birinde E-kadherin mutasyonu bulunur (5). Hücre adezyon proteini olan E-kadherindeki bu mutasyon otozomal dominant geçişli gastrik karsinoma yol açar ki buna herediter diffüz gastrik karsinom denir. Bu karsinomlar sıklıkla taşlı yüzük hücreleri içeren diffüz, kötü diferansiye, infiltratif adenokarsinomlardır. Mide karsinomları herediter nonpolipozis kolon kanser sendromunun bir parçası olarak da karşımıza çıkabilir. Bu tip kanserler genellikle mikrosatellit instabilite gösteren, H. pilori ile ilişkili olmayan intestinal tip kanserlerdir. A kan grubuna sahip kişilerde ve FAP, "Peutz-Jegher's" sendromu gibi gastrointestinal polipozisli hastalarda da risk yüksektir (1).

2.1.2.8. Diğer Faktörler

Genç hastalarda başka malignansiler için uygulanan medikal ve radyasyon tedavisinden sonra gastrik kanser gelişimi rapor edilmiştir (3). Bazı gastrik

adenokarsinomlar %6-16 oranında Epstein Barr Virüsü (EBV) ile ilişkilidir. EBV ile ilişkili karsinomlar erkeklerde daha sık oranda karşımıza çıkar ve bcl-2 ekspresyonu, p53 akümülyasyonu ile ilişkilendirilir (3).

Mide kanseri gelişiminde kişisel sebepler de önemli yer tutar. Pernisiyöz anemi, Menetrier hastalığı ve otoimmün gastriti olanlarda da risk artmaktadır (1,3).

2.1.3. Lokalizasyon

Mide karsinomları %50-60 pilor-antrum, %25 kardiya, kalanı da korpusta izlenir. Küçük kurvatur yaklaşık %40, büyük kurvatur %12 oranında tutulur. Diğerleri ise ön ve arka duvarda yerleşir. Sonuçta mide karsinomu en sık antropilorik bölgenin küçük kurvaturunda yerleşir (2).

2.1.4. Klinik Bulgular

Erken mide karsinomlarının %50'den fazlası dispepsi gibi nonspesifik gastrointestinal semptomlara sahip olmalarına rağmen, asemptomatik de olabilirler. İlerlemiş kanserlerde yemeklerle artan persiste abdominal ağrı görülür. Ülsere tümörler kanama ve hematememe, obstrüksiyon yapan tümörler kusmaya yol açar. Anoreksiya, kilo kaybı gibi sistemik semptomlar yaygın hastalığı düşündürür (1).

2.1.5. Sınıflandırma

Mide karsinomları için gerek makroskopik, gerek mikroskopik, gerekse histolojik çok sayıda sınıflama sistemleri bulunmaktadır. Temelde sınıflandırma 3 temel öğeye dayanmaktadır (2).

1. Makroskopik büyüme paterni
2. Histolojik subtip
3. İnvazyon derinliği

Gastrik karsinomlar ile ilgili ilk klasik bilgiler 1926 yılında Borrmann tarafından bildirilmiştir. Borrmann gastrik karsinomları makroskopik büyüme paternine göre 4'e ayırmıştır (3). O günden günümüze dek pek çok değişik sınıflama yapılmıştır (Tablo II).

Tablo II. Gastrik karsinom sınıflamasının tarihi süreci (9-11)

<p><u>Borrmann, 1926</u></p> <p>Tip 1. ...Polipoid Tip 2....Fungatif Tip 3... Ülseratif Tip 4... İnfiltratif</p> <p><u>Stout,1953</u></p> <p>-Fungatif -Penetratif -"Spreading" -Süperfisiyel "spreading" -Linitis plastika</p> <p><u>Lauren,1965</u></p> <p>-İntestinal -Diffüz</p> <p><u>Ming,1977</u></p> <p>-Ekspansif -İnfiltratif</p> <p><u>Dünya Sağlık Örgütü, 1977</u></p> <p>-Papiller -Tubuler -Müsinöz -Taşlı yüzük hücreli</p>	<p><u>Japon Mide Kanseri Derneği, 1981</u></p> <p>-Papiller -Tubuler</p> <ul style="list-style-type: none">• İyi diferansiye tip• Orta diferansiye tip <p>-Az diferansiye</p> <ul style="list-style-type: none">• Solid tip• Solid olmayan tip <p>-Müsinöz -Taşlı yüzük hücreli</p> <p><u>Dünya Sağlık Örgütü, 1990</u></p> <p>-İyi, orta derecede diferansiye -Az diferansiye, indiferansiye -Müsinöz -Taşlı yüzük hücreli</p> <p><u>Dünya Sağlık Örgütü, 2000</u></p> <p>-Adenokarsinom</p> <ul style="list-style-type: none">• İntestinal tip• Diffüz tip <p>-Papiller adenokarsinom -Tubuler adenokarsinom -Müsinöz adenokarsinom -Taşlı yüzük hücreli adenokarsinom -Adenoskuamöz hücreli karsinom -Skvamöz hücreli karsinom -Küçük hücreli karsinom -İndiferansiye karsinom -Diğerleri</p>
---	---

Borrmann'dan sonra 1953 yılında Stout tarafından mide karsinomları tekrar sınıflandırılmıştır. Ancak bu tümörün histopatolojik olarak anlaşılmasına en büyük katkı 1965'te Lauren tarafından yapılmıştır (9,12). Lauren mide karsinomlarını mikroskopik olarak intestinal (%53) ve diffüz (%33) tip olarak 2 grupta toplamıştır. Bu sınıflama üzerinden geçen zamana rağmen hala dünyada çeşitli merkezlerde kullanılmaktadır (1,3).

2.1.5.1. İntestinal Tip :

Borrmann sınıflamasında daha çok tip 1 (polipoid) ve tip 2'ye (fungatatif) karşılık gelir. Metaplastik epitelden kaynaklandığı elektronmikroskopik ve immünohistokimyasal çalışmalarla desteklenmiştir (3,4). Mide kanserinin görülme riskinin yüksek olduğu bölgelerde daha sık ortaya çıkar. Prekürsör bir lezyondan gelişir (2). Değişik diferansiyasyon alanları içeren tümörde, malign hücreler gland oluşturma eğilimindedir (1). Erkeklerde ve ileri yaş grubunda görülme riski daha fazladır (9,12). Tümöre komşu mukozada kronik atrofik gastrit ve intestinal metaplazi izlenir. Tümör, komşu dokuları iterek büyür ve çevre dokudan belirgin bir sınırla ayrılır. Tümör hücrelerinin apikalinde mûsin vakuelleri ve gland lümenlerinde bol miktarlarda mûsin bulunur (2). Bazen tümör stroması yoğun nötrofil ve histiositler tarafından infiltre edilmiştir (3).

2.1.5.2. Diffüz Tip :

Borrmann sınıflamasında daha çok tip 3 (ülseratif) ve tip 4'e (infiltratif) karşılık gelir (13). Genellikle intestinal metaplazi ve atrofik gastrit içermeyen midede görülür (1,3,13). Gençlerde görülen gastrik karsinomların büyük bir kısmını oluşturur (3). Mide duvarını diffüz infiltre eden çok az gland içeren ya da hiç gland içermeyen zayıf, koheziv hücrelerden oluşur (1). Tümör hücreleri küçük, yuvarlak ve sitolojik olarak daha az differansiyedir (1,13). Öncesinde gastrit hikayesi olmayan kadın hastalarda görülmesi ilgi çekici özelliğidir (12,14,15). Tipik klasik formu linitis plastikadır (3). Bu tümörler az miktarda interstisyel mûsin içerir. İntestinal tipe göre desmoplazi daha sık, inflamasyon ve mitoz ise daha az görülür (1). WHO klasifikasyonundaki taşlı yüzük hücreli tümörlere çok benzer (1). Gros değişiklikler genellikle prepilorik bölgede

meydana gelir. Mide duvarı kalınlaşıp, pilor obstrüksiyonuna yol açabilir. Belirgin submukozal fibrozis ve kas hipertrofisi olur (3). İntestinal tip karaciğere, diffüz tip peritona yayılma eğilimindedir (13).

Ming 1977'de makroskopiye dayanan bir sınıflama ile mide kanserlerini infiltratif ve ekspansif olmak üzere iki gruba ayırmıştır (5). Bu sınıflamaya göre ekspansif tip Lauren'in intestinal tipine, infiltratif tip ise diffüz tipine karşılık gelir (16).

Japon araştırmacılar tarafından 1981 yılında önerilen Goseki sınıflaması, mikroskopik olarak tümör hücrelerinde görülen müsin içeriğine ve tubuler diferansiyasyon derecesine dayanan bir sınıflamadır (17). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 1977, 1990 ve son olarak da 2000 yılında dominant histolojik paterni temel alan bir sınıflandırma yapmıştır (1).

Patoloji laboratuvarlarında, bu sınıflandırma sistemleri tek ya da kombine edilerek kullanılmaktadır. Bazı birimler hem Lauren hem de WHO sınıflamasına göre tümör tipini patoloji raporunda belirtmektedir. Goseki sınıflamasının çok geniş bir uygulama alanı henüz yoktur. Bazı karşılaştırmalı çalışmalarda Goseki sınıflamasının kullanılmasının prognostik açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur (1,17).

Gastrik karsinomda klinik gidişi etkileyen en önemli faktör invazyon derinliğidir (2). Mide karsinomları, mide duvarındaki invazyon derecesine ve biyolojik davranışına göre iki gruba ayrılır (5).

1. Erken evre mide karsinomu

2. İleri evre mide karsinomu

Erken ve ileri evre gastrik karsinom sınıflaması prognoz ve tedavi açısından çok önemlidir (1).

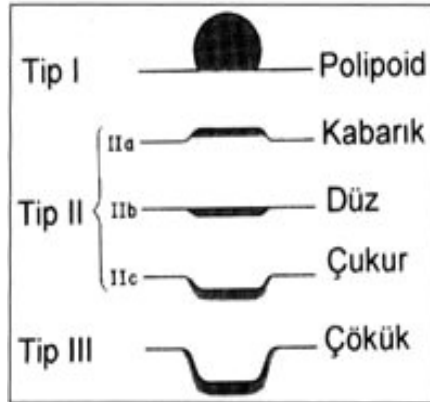
2.1.5.3. Erken Evre Mide Karsinomu

Lenf nodu metastazı göz önünde bulundurulmaksızın, invazyon derinliği mukoza veya submukozayı geçmeyen karsinomlardır (1). Erken mide karsinomu 0.3 mm'den küçükse “minute”, 5 cm'den büyükse “süperfisiyel yayılan” karsinom denilir (5). Ön planda ülser semptomları ile karşımıza çıkar. Genç ve orta yaş grubunu tutar. Yavaş büyüme eğilimindedir (17). Genellikle distal mide, küçük kurvaturda yerleşir (13).

Erken mide karsinomunun makroskopik tipleri (17) (Şekil 2):

- Polipoid (“Protrude”)
- Süperfisiyel
 - Mukozadan kabarık
 - Yassı (“Flat”)
 - Çökük (Deprese)
- Çukur (“Excavated”)

En sık görülen tipi süperfisiyel tiptir (%80). Prognozu oldukça iyidir. 5 yıllık sağ kalımın %95 olduğu bildirilmiştir. Bu tip karsinomlarda sağ kalımı etkileyen en önemli faktör lenf nodu metastazının varlığıdır. Lenf nodu metastazı negatif olgularda 5 yıllık sağ kalım %94 iken, pozitif olgularda bu oran %90 civarındadır (17).



Şekil 2. Erken mide kanserinin makroskopik sınıflaması. Dolar ME. Mide tümörleri. <http://gastro.uludag.edu.tr/konu.php>.

2.1.5.4. İleri Evre Mide Karsinomları

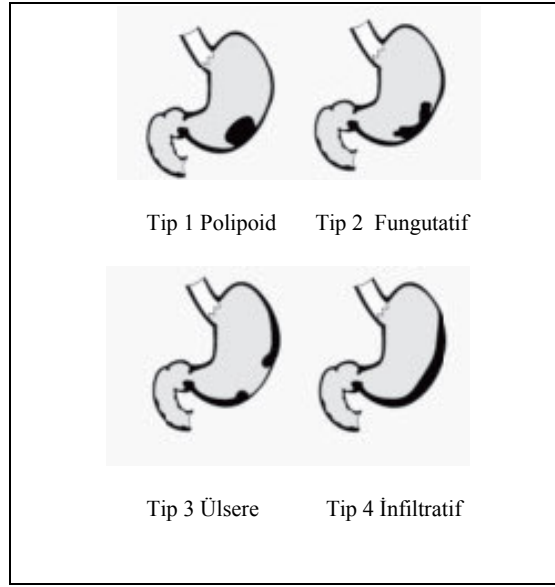
Submukoza altındaki kas tabakasına kadar ya da daha fazla ilerlemiş neoplazmlar için kullanılır (1). Orta yaş ve daha ileri yaş grubunda görülür. En sık antral bölgeye yerleşir. Borrmann sınıflamasına göre makroskopik olarak 4 tip ileri evre mide karsinomu vardır (17) (Şekil 3).

Tip 1..... Polipoid

Tip 2..... Fungutatif

Tip 3..... Ülseratif

Tip 4..... İnfiltratif



Şekil 3. İlerlemiş mide kanserinin makroskopik sınıflaması (Borrmann sınıflaması). *

* Hamilton R.S, Aaoltenen LA (eds), Tumors of Stomach In:Pathology and Genetics of Tumors of the Digestive System, IARCPress Lyon, 2000, 39-52.

Mide duvarını diffüz olarak invaze eden varyantına “linitis plastika” denir. Histolojik olarak kötü diferansiye olup, prognozu en kötü olan tiptir (2,3).

2.2. MİDE KANSERİNİN MORFOLOJİK VE HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Malign mide tümörleri içinde en sık olarak adenokarsinomlar (%90-95) yer almaktadır. Lenfomalar ikinci sıklıkta (%4), daha az oranda ise karsinoid tümörler (%3) ve mezenkimal tümörler (%2) izlenmektedir (2).

Mide tümörleri kriptlerdeki bazal (germinatif) hücrelerden ve çoğu kez de intestinal metaplazi içeren kronik gastrit, displazi, karsinoma in situ veya süperfisiyel karsinom zemininden geliştiği bildirilmektedir (9,12,18). Foveolar, mukopeptik, intestinal, kolumnar ve goblet hücre tiplerinden birini veya daha fazlasını içerir (3). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2000 yılında yaptığı sınıflandırmaya göre mide karsinomu Tablo II'de gösterilen tipleri içerir (1).

2.2.1. Tubuler Adenokarsinom

Genişlemiş, yarı benzeri ya da farklı büyüklüklerde dallanan tubuler yapılardan oluşur. Tümör hücreleri kolumnar, kuboidal, ya da intralüminal müsin içeriğine bağlı yassılaştırmış olabilir. Sitolojik atipi düşük ya da yüksek dereceli olabilir. Kötü diferansiye formu solid karsinom olarak adlandırılır. Stroması lenfoid hücrelerden zengin ise medüller karsinom ya da lenfoid stromalı karsinom terimi de kullanılmaktadır (1).

2.2.2. Papiller Adenokarsinom

Fibrovasküler stromaya sahip küboidal veya silindirik hücrelerle döşeli elonge, parmak benzeri çıkıntılara sahip, iyi diferansiye ekzofitik karsinomlardır. Bazı tümörler tubuler diferansiyasyon gösterebilir (papillotubuler yapı). Nadiren mikropapiller alanlar izlenir. Sitolojik atipi ve mitotik indeks değişkendir. Tümör akut veya kronik inflamatuvar hücrelerle infiltre olabilir (1).

2.2.3. Müsinöz Adenokarsinom

Tümörün %50'den fazlasını ekstraselüler müsin gölcükleri oluşturur. Arada tek tük dağılmış taşlı yüzük hücreleri olabilir (1).

İki majör büyüme paterni tanımlanmıştır:

1. İntersitisyel müsin içeren, mukus sekrete eden kolumnar epitelle döşeli glandlar,
2. Müsin gölcükleri içinde yüzen serbest, irregüler hücre kümeleri (1).

2.2.4. Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom

İntrasitoplazmik müsin içeren tek tek dağılmış ya da küçük gruplar oluşturmuş malign hücreler, tümörün %50'den fazlasını oluşturduğunda bu tanımlama kullanılır (1).

Tümör hücreleri beş tip morfolojiye sahiptir;

1) Alcian blue pH 2.5 ile boyanan, berrak intrasitoplazmik müsin içeren, nükleusu kenara iterek klasik taşlı yüzük hücreli görünüme sahip tip

2) Histiyosit benzeri santral nükleus içeren, az ya da hiç mitotik aktivite göstermeyen hücrelerden oluşan tip

3) Küçük, koyu eozinofilik nötral müsin içeren hücrelerden oluşan tip

4) Az müsin içeren ya da hiç müsin içermeyen küçük epitelyal hücrelerden oluşan tip

5) Az müsin içeren ya da hiç müsin içermeyen anaplastik hücrelerden oluşan tip (1).

Taşlı yüzük hücreli karsinom infiltratif gidişlidir. Desmoplazi belirgin olabilir. Müsin içeren boyalar (PAS, müsikarmin, Alcian blue) veya sitokeratin gibi immünohistokimyasal boyalar stromada tek tek dağılmış hücreleri göstermede yardımcıdır (1).

2.2.5. Adenoskuamöz Karsinom

Hem adenokarsinom hem de skuamöz hücreli karsinom alanları içeren tümörlerdir (1).

2.6.6. Skuamöz Hücreli Karsinom

Midenin saf skuamöz hücreli karsinomu çok nadir görülür. Vücudun diğer bölgelerinde görülen formuna çok benzer (1).

2.2.7. İndiferansiye Karsinom

Herhangi bir yöne diferansiyasyon ya da epitelyal fenotip göstermeyen, sitokeratin eksprese etmeyen tümörlerdir. Lauren'in sınıflamasına göre "indeterminate" grubu oluşturmaktadır. İmmünohistokimyasal metodlar kullanılarak bu heterojen grup diğer tiplerden ayırt edilebilir (1).

2.3.7. HİSTOLOJİK DERECELENDİRME SİSTEMİ

WHO, 2000 yılındaki yayınında sadece tubuler adenokarsinomları derecelendirmiştir. Diğer tip gastrik karsinomlarda dereceleme yapılmamıştır. Bu sisteme göre, mide tubuler adenokarsinomları 3 derecede incelenir (1):

1) İyi diferansiye adenokarsinom: Genellikle intestinal metaplazi gösteren epitele benzer düzgün şekilli gland yapılarından oluşur.

2) Orta derecede diferansiye adenokarsinom: İyi ve kötü grup arasında yer alır.

3) Kötü diferansiye adenokarsinom: Zorlukla seçilebilen ileri derecede irregüler bez yapılarından oluşabileceği gibi tek tek veya müsin sekrete eden gruplar oluşturan epitel hücrelerinden oluşabilir (1).

İyi ve orta derecede diferansiye olanlar "low-grade" ya da kötü diferansiye olanlar "high-grade" şeklinde de derecelendirilebilir (1).

2.3.1. Klinikopatolojik Evreleme

2000 yılındaki en son TNM sistemi tümörün invazyon düzeyi (T), bölgesel lenf bezine yayılım (N) ve uzak metastaz varlığına (M) dayanan prensip ile yapılmıştır (1).

Tablo III. TNM Sınıflaması *

T	Primer tümör
Tx	Primer tümör saptanmadı
To	Primer tümör bulgusu yok
Tis	Karsinoma in situ (Lamina propria invazyonu göstermeyen intraepitelyal tümör)
T1a	Tümör lamina propria invazyonu göstermektedir
T1b	Tümör submukoza invaze etmektedir
T2a	Tümör muskularis propria invazyonu göstermektedir
T2b	Tümör subserozayı invaze etmektedir
T3	Tümör visseral peritonu (seroza) penetre etmektedir
T4	Tümör çevre doku ve organlara invazedir
N	Bölgesel lenf nodları
Nx	Bölgesel lenf nodları bulunmadı
N0	Lenf nodu metastazı izlenmedi
N1	1-6 adet lenf nodunda metastaz izlendi
N2	7-15 adet lenf nodunda metastaz izlendi
N3	15 adetten fazla lenf nodunda metastaz izlendi
M	Uzak metastaz
Mx	Uzak metastaz durumu bilinmiyor
M0	Uzak metastaz yok.
M1	Uzak metastaz mevcut.

* Hamilton R.S, Aaltonen LA (eds), Tumors of Stomach In:Pathology and Genetics of Tumors of the Digestive System, IARCPress Lyon, 2000:39-52.

Yukarıdaki bulgulara göre aşağıda gösterilen stage (evre) grupları oluşturulmuştur.

Tablo IV. Evreleme Gurupları *

Stage 0	Tis	N0	M0
Stage 1A Stage 1B	T1 T1	N0 N1	M0
Stage 2	T1 T2a/b T3	N2 N1 N0	M0 M0
Stage 3A Stage 3B	T2a/b T3 T4 T3	N2 N1 N0 N2	M0 M0 M0 M0
Stage 4	T4 T1,2,3 Herhangi T	N1/2/3 N3 Herhangi N	M0 M0 M1

*Hamilton R.S, Aaoltenen LA (eds), Tumors of Stomach In:Pathology and Genetics of Tumors of the Digestive System, IARCPress Lyon, 2000:39-52.

2.4. PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Mide kanserinin prognozunda etkili oldukları bilinen ve birbiri ile ilişkili olan çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bu faktörler şunlardır:

Yaş : Genç yaşlarda görülen mide karsinomlarının prognozu, tanıda gecikme ve diffüz tipin sıklıkla bu grupta görülmesi nedeniyle kötüdür (2).

Tümör evresi : En önemli prognostik faktördür. İnvazyon derinliği arttıkça metastaz oranı artmaktadır. İnvazyon derinliği lenf nodu metastazından bağımsız olarak sağ kalımı etkiler. Tümörün invazyon yeteneği direkt olarak tümörün gros görünümüyle ilişkilidir. Polipoid tümörlerin mide duvarı boyunca

büyüyen tümörlere göre metastaz riski daha düşüktür. Mukoza ve submukozada sınırlı tümörlerin daha iyi prognoza sahip olduğu bilinmektedir (1,2,3).

Tümörün yerleşim yeri : Kardia-fundus ya da özefagogastrik bileşim yerinde lokalize tümörlerin daha kısa bir yaşam süresi olduğu bildirilmektedir (3).

Cerrahi sınırlar : İtici ya da ekspansif gidişli tümörlerin prognozu diffüz ilerleyen tümörlere göre daha iyidir (3).

Tümörün boyutu : Tümör çapı arttıkça daha derine doğru invaze olmaktadır. Küçük çaplı tümörler bu nedenle daha iyi prognoza sahiptir (3).

Mikroskopik tip ve derece : Lauren'in sınıflamasında, intestinal tip olarak belirtilen grup, diffüz tipe göre daha iyi prognoza sahiptir (3). Tümörün histolojik tipinin prognoza etkisi hala tartışmalıdır (1). Bir çalışmaya göre TNM evrelemesinin dışında sadece Goseki sınıflamasının survey hakkında ek bilgi verdiği bulunmuştur. (1,3). Adenoskuamöz, anaplastik ve küçük hücreli nöroendokrin tümörlerin prognozu diğerlerine göre daha kötüdür (3).

Perinöral invazyon : Kötü prognozla ilişkilidir (3).

Lenf nodu metastazı : Lenf nodu tutulumu yaşam süresini çok belirgin etkilemektedir. Sağ kalım, lenf nodu tutulumu olmayan olgularda yaklaşık %50'dir. 1-6 lenf nodu tutulumu varsa 5 yıllık survey %44; 7-15 lenf nodu tutulumu varsa %30; 15'den fazla lenf nodu tutulumu varsa %11'e düşer. Tümör evresi düşük tümörlerde lenf nodunda mikrometastazların varlığı bağımsız prognostik faktör olarak bulunmuştur (1,3).

Cerrahi girişim tipi: Radikal subtotal gastrektomiyle birlikte yapılan radikal lenfadenektomili olguların daha iyi gidişli olduğu bildirilmektedir (3).

c-erbB-2 protein, p53, katepsin overekspresyonlarının kötü prognozla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (3).

2.5. TÜMÖRAL ANJIOGENEZİS

Anjiogenezis önceden var olan damarlardan yeni kan damarlarının oluşmasıdır. Embriyonik gelişme, yara iyileşmesi ve organ hipertrofisi gibi fizyolojik olaylarda görülmektedir. Ancak kontrolsüz anjiogenezis kronik inflamasyon, ateroskleroz, tümör büyümesi ve metastazı, diyabetik retinopati gibi birçok patolojik durumun varlığından sorumlu tutulmaktadır. Anjiogenezis ekstrasellüler matris, solubl faktör ve hücreler arasındaki etkileşim sonucu endotel hücrelerin diferansiyasyonu, migrasyonu ve proliferasyonu ile seyreden kompleks bir işlemdir (19).

Homeostazda pro-anjiogenik moleküller anti-anjiogenik moleküllerle denge halindedir. Pro-anjiogenik moleküllerin aktivitesi anti-anjiogenik moleküllerin aktivitesini geçtiği zaman yeni kan damarı oluşum süreci başlar. Doku hasarı ya da hipoksi gibi stimullara cevap olarak bu denge bozulur. Pro-anjiogenik faktörlerin ekspresyonu metabolik stres, hipoksi, asidoz, proliferen hücrelerin oluşturduğu mekanik stres, immün/inflamatuar yanıtlar, genetik mutasyonlar gibi stimullarla artar. (20).

Anjiogenezis birçok neoplastik ve non-neoplastik hastalığın ilerlemesinden ve etyopatogenezinden sorumlu tutulmaktadır. Özellikle solid tümörlerin büyümesinde ve metastazında kritik role sahiptir. Tümörde hipervasklarizasyonun başlangıçtaki bir inflamatuvar olaya ya da tümörün nekrotik ürünlerine bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (21).

Normal erişkinlerde vaskler sistem sabittir. Pek çok dokuda endotel turnover zamanı yıllarla llr. Anjiogenezis sadece ovulasyon, menstruasyon ve plasenta gelişimi gibi olaylarda görülür. Anjiogenezis proanjiogenik ve antianjiogenik faktörlerin karşılıklı etkileşimleri ile kontrol edilir (Tablo V). Bu pozitif ve negatif regülatörler arasında var olan dengedeki bir değişim anjiogenezise yol açar. Bu regülatörler çok sıkı kontrol altında olduklarından normal durumlarda çok az artarlar ya da hiç artmazlar. Anjiogenezisi stimule eden maddelerin artışı ya da muhtemel anjiogenezis supressrlerindeki değişiklikler anjiogenezisin ilk adımı başlatır (22).

Tablo V. Proanjiogenik ve antianjiogenik moleküller*

Proanjiogenik moleküller (Pozitif regülatörler)	Antianjiogenik moleküller (Negatif regülatörler)
bFGF (“basic” fibroblast büyüme faktörü) VEGF PlGF (plasental büyüme faktörü) TGF (transforming büyüme faktörü) Anjiogenin PDGF (trombosit salgılanan büyüme faktörü) G-CSF (granüosit koloni stimule edici faktör) Hepatosit büyüme faktörü Nitrik oksit İntegrinler IL 8 PGE2	Trombospondin Anjiostatin İnterferon α Thalidomid Endostatin Metalloproteinaz inhibitörleri Glukokortikoidler Genisetin

* Anlar M, Han Ö. Anjiogenezis ve Tümör Gelişimindeki Rolü. Seminer Çalışması. 2003.

Anjiogenik faktörler endotel hücre üzerindeki reseptörlerine bağlanırlar ve anjiogenezis adımları başlar. Bu maddeler sinyal olarak endotel hücrelerinin çoğalmasını, migrasyonunu ve permeabilitesini etkilerler.

Endotel hücreleri kan damarlarının kaynağıdır. Önemli bir çoğalabilme ve göç edebilme yetenekleri vardır. Ancak yeni kan damarı gelişimi için sadece endotel proliferasyonu yeterli değildir. Kapiller gelişimdeki morfolojik olaylar şu basamakları içerir (22-24):

1. Bazal membranın proteolitik yıkılması
2. Endotel hücrelerinin anjiogenik stimulusa doğru migrasyonu
3. Endotel hücrelerinin proliferasyonu
4. Endotel hücrelerinin matürasyonu, lümen formasyonu, tomurcuklanma ve loopların gelişimi, anastomozların oluşumu, yeni bazal membran üretimi
5. Periendotel hücrelerin oluşması (küçük kapiller için perisit, daha büyük damarlar için düz kas hücrelerinin gelişmesi).

Yeni proliferen olan kapillerler devamlı olmayan bazal membrana sahiptir ve matür damarlardan daha fazla tümör hücrelerinin penetrasyonuna uygundur (25).

Tümör mikrodamarlanması normal dokulardaki damarlanmaya uymaz. Yani arter-arteriol-kapiller-postkapiller, venül-ven dizilimi yoktur. Tümörler dev kapillerler, araya giren kapiller olmaksızın arterio-venöz şantlar içerebilirler. Hatta kan bir venülden diğerine akabilir. Ayrıca damarların organizasyonu tümörün herhangi bir lokalizasyonundan bir diğerine göre farklılık gösterebilir (23).

Anjiogenezis kavramının tarihçesine baktığımızda yaklaşık 100 yıl önce tümör içerisinde yeni damar gelişimlerinden bahsedildiğini görmekteyiz. Ancak bu ilk dönemlerde tümör hiperemisi olarak adlandırılan durumun, tümör metabolitlerine bağlı basit bir dilatasyon olduğu düşünülmüştür (22). Anjiogenezis konusundaki asıl gelişmenin 1971 yılında Folkman ile başladığını görüyoruz. Folkman “tümör gelişimi anjiogenezise bağımlıdır” diyerek şu teorileri ortaya atmıştır (1,26).

1. Primer solid tümörlerin büyük bir çoğunluğunda muhtemelen uzamış bir avasküler evre vardır ve bu dönemde tümörler maksimum 1-2 mm çapa ulaşabilirler. Bu büyüklüğe kadar tümör hücreleri gerekli oksijen ve besin ihtiyacını pasif diffüzyon ile karşılar.

2. Bu mikroskopik tümör kitlesi matür konakçı damarlardan kendisine doğru yeni kapiller damarların tomurcuklanması ve sonuçta tümöral kitleyi infiltre etmesine yol açan anjiogenezisi başlatabilir. Böylece tümöral kitlenin sürekli olarak genişlemesi ve hematojen metastaz oluşturma ortamı oluşur.

3. Anjiogenezis tümör hücrelerinden “Tümör anjiogenezis faktör (TAF)” adı verilen bir büyüme faktörünün ektopik olarak yapımına bağlıdır.

4. TAF yapımını ya da onun biyolojik fonksiyonunu önleyerek ya da yeni oluşan immatür kan damarlarındaki endotel hücrelerini hedef alarak tümör anjiogenezisi ve tümör büyümesini bloke etmek mümkün olabilir.

5. Bu tip tedavi yaklaşımları başarılı olursa, tümör hücrelerini eradike etmeyebilir; fakat tümör hücrelerinin daha da çoğalmasını engelleyebilir ya da belki de tümörün kan desteği olmaksızın yaşamını sürdürebileceği 1-2 mm'lik boyutlara regresyonunu sağlayabilir (1,26).

1980 yılı ortalarına gelindiğinde tümör gelişiminin anjiogenezise bağımlı olduğuna dair pek çok delil toplanmış, tümördeki yeni kapiller artışının tümör hücre popülasyonundaki artışa öncülük ettiği ve anjiogenezis inhibe edilirse tümörün durağan olarak kalacağı görüşleri kabul görmüştür. Ayrıca tümör hücreleri, endotel hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilen, anjiogenezisi durduran (anjiostatik) ve stimule eden (anjiogenik) bazı maddeler tanımlanmıştır. Metastazlarda olduğu gibi anjiogeneziste de matriks metalloproteinazlara ihtiyaç vardır. Tümör hücrelerinden salınan "basic" fibroblastik growth faktör (bFGF), VEGF gibi anjiogenik maddelerin ekstrasellüler matriksi eritme yeteneği olan proteaz, plazminojen aktivatörleri ve kollajenazların yapımını arttırdığı gösterilmiştir (23). Çoğu tümör başlangıçta aylarca, hatta yıllarca avaskülerdir. Prevasküler dönemde tümör iyi perfüze olur, hücreler hızla çoğalır, genişler (21). Muhtemelen mutasyonların birikmesiyle tümör hücrelerinin alt gruplarında anjiogenetik fenotip oluşur ve tümör gelişimi prevasküler dönemden vasküler döneme geçer (22). Yeni damar oluşumu yeterli olmazsa hücreler nekroza uğrar (21).

İnvazyon oluşması için neovaskülarizasyon şart değildir. Örneğin meme kanserinde neovaskülarizasyondan önce mikroinvazyonların oluştuğu saptanmıştır (27). Anjiogenezis ise invazyonu kolaylaştırır ve tümörlerin büyümesine izin verir (25).

Tümör hücresi başarıyla metastaz yapabilmek için, damar sistemine girmek, dolaşımda canlı kalabilmek, hedef organın mikrodamarlarında duraklayabilmek, damar sisteminden dışarı çıkabilmek, hedef organda büyüyebilmek ve anjiogenezisi indükleyebilmek gibi çeşitli bariyerleri aşabilmelidir (23). Deneysel çalışmalarda, tümör hücrelerinin genellikle neovaskülarizasyondan sonra kan dolaşımına girdikleri gösterilmiştir (25,28).

Yüksek mikrodamar dansitesi ise yüzey alanını arttırarak hücrelerin dolaşıma girmesini kolaylaştırır ve hücreler sürekli olarak dolaşımında bulunurlar (29).

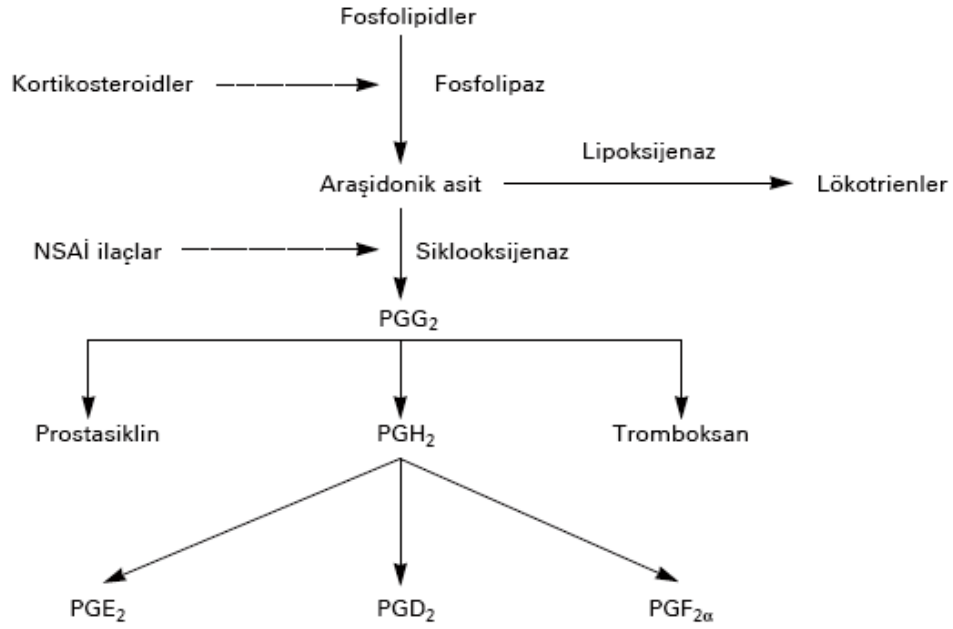
Klinik veriler metastatik potansiyelin ve prognozun anjiogenezis şiddetine bağlı olduğunu desteklemektedir (27). Bu nedenle anjiogenezis şiddeti belirlenmeye çalışılmaktadır. Bu konuda kullanılan yöntemler; mikrodamar dansitesinin saptanması (MVD), anjiogenik faktörlerin kan ve idrarda ölçülmesi, anjiogenik proteinlerin doku düzeylerinin saptanmasıdır (23). Tümör içi mikrodamar dansitesi ölçümü anjiogenezisi değerlendiren bir parametre olarak kullanılmaya başlanmıştır (30,31). MVD ile tümör boyutu, nodal tutulum ve kötü prognoz korelasyon gösterir (25). MVD arttıkça tümörün metastaz yapma potansiyelinin arttığı, klinik gidişin kötüleştiği ve prognozun olumsuz etkilendiği çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (25,31).

2. 6. SİKLOOKSİJENAZLAR (COX)

Prostaglandinlerin (PG) sağlıklı insanlarda çok geniş fizyolojik fonksiyonları vardır; gastrointestinal sistemi koruma, renal kan akımını ayarlama, uterus fonksiyonları, embriyo implantasyonu, doğum, uyku-uyanıklık döngüsü ve vücut ısısının ayarlanması gibi (32). Hücreler, hücre membranı kökenli araşidonik asitten kaynaklanan lipid yapıdaki kısa dizili uyarı molekülleri (eikosonoidler), oluşturarak aktivasyon uyarısına yanıt verirler. Bunlar iki major sınıf tarafından sentez edilmektedir (8).

- Siklooksijenazlar, (asprin tarafından inhibe edilir) PG ve tromboxanları üretir.
- Lipooksijenazlar, lökotrienleri ve lipoksinleri üretir.

Siklooksijenazlar, araşidonik asidin prostaglandinlere dönüşümünde yer alan hız kısıtlayıcı enzimleridir (33,34). Araşidonik asiti, PGH_2 'ye çevirir, PGH_2 de PGE_2 , $PGF_{2\alpha}$, PGD_2 ve diğer eikosonoidlere metabolize olur (2,33,35). COX enziminin farklı özellikleri olan iki izoformu vardır: COX-1 ve COX-2. Yapısal benzerliklerine karşın COX-1 ve COX-2'nin doku biyolojisi ve hastalıklarda farklı rollere sahip olduğu bilinmektedir (36).



Şekil 4. Fosfolipidler ve araşidonik asit metabolizması. *

*Sav T. Akut böbrek yetmezliği ve non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi. 2006;15:43-47.

COX-1 pek çok dokuda eksprese edilir ve sabit oranlarda bulunur. Özellikle mide, trombositler, vasküler endotel ve böbrekteki toplayıcı sistemlerde çok yüksek oranlarda eksprese edilir (36,37). COX-2 ise çoğu dokuda düşük ya da tespit edilemeyecek kadar az oranda sentezlenir (33,36,38). Bir çok hücre ve dokuda COX-2 ekspresyonu büyüme faktörleri, sitokinler gibi kimyasal maddeler tarafından uyarılır (33,37,38).

Anti-inflamatuar sitokinler (IL-4, IL-10, IL-13) ve kortikosteroidler COX-2 düzeylerini saatler içinde düşürebilir (36).

Son zamanlarda COX-1'in varyantı olan COX-3 ya da COX-1b olarak adlandırılan bir izoformu tanımlanmıştır. İnsanda COX-3 mRNA en fazla serebral korteks ve kalpte bulunur. İnsanda katalitik olarak aktif COX-3 enziminin bulunmadığı öne sürülmektedir. Sadece iki tip COX geni bulunmasına rağmen, COX enzimlerinin başka varyantları olabileceğini ifade eden başka çalışmalar da vardır (39).

COX-2 enziminin hücre büyümesi, hücre proliferasyonu, anjiogenezis, invazyon, adezyon, apoptozis inhibisyonunda rolü olduğu ve bu etkilerin COX-2 inhibitörleri ile bloke edilebildiği gösterilmiştir (35,40,41).

COX-2 tümör gelişiminde, metastazında ve anjiogenezisinde önemli bir role sahiptir (34,42). Son yıllarda yapılan çalışmalarda COX-2 ekspresyonunun kolon, özefagus ve mide kanserlerinde arttığı ve kötü prognozla ilişkili olduğu bulunmuştur (43). COX-2 aynı zamanda VEGF'yi uyararak prostoglandin E2 gibi anjiogenik prostaglandinlerin sentezlenmesine katılarak tümör indüklü anjiogenezisde önemli bir rol oynamaktadır (44,45).

2.7. VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF)

Anjiogenezis ile ilgili birçok faktör olmasına rağmen VEGF tümör neovaskülarizasyonu ile ilişkili en güçlü endotelyal hücreye spesifik mitojendir (46-49). İlk kez 1983 yılında malign asit sıvısında vasküler permeabilite faktörü olarak tespit edilmiştir (50).

VEGF ailesi A,B,C,D,E ile plasenta growth faktör (PlGF) olmak üzere 6 üyeden oluşur. Bu faktörlerden en önemlisi VEGF A'dır (46). VEGF için 3 farklı reseptör vardır: VEGF-1, VEGF-2, VEGF-3. Bu reseptörler özellikle ekstrasellüler hücrelerde sentez edilen tirozin kinaz aktivitesine sahiptir (51).

VEGF, tümör hücreleri tarafından vücut sıvılarına sekrete edilen çözünebilir bir peptiddir. Malign efüzyon oluşum mekanizmalarında rol alır. Malign efüzyonlarda yüksek oranlarda tespit edilir (52). Normal sağlıklı kişilerin

serumunda az miktarda da olsa VEGF'ün saptanması VEGF'ün dolaşıma tümör dışı kaynaklardan geçişi olduğunu düşündürmüştür. Makrofaj, nötrofil, lenfosit, trombosit ve megakaryositlerden VEGF'ün sekrete edildiği saptanmıştır. Serum trombosit sayısı ile serum VEGF düzeyinin korele olduğu gösterilmiştir (53). Kanser hastalarında ise VEGF'ün ana kaynağı tümör hücreleridir (54). Tümörün çapı arttıkça iskemik değişiklik sonucu hipoksi olur ve hipoksi VEGF mRNA'yı indükleyerek VEGF salınımını artırır (55).

Hipoksi dışında pH'da azalma, büyüme faktörleri, sinyal transdüksiyon yollarının aşırı ekspresyonu ve tümör süpressör gen kaybı gibi çeşitli faktörler VEGF'ün ekspresyonunun artmasında rol oynar (20,56).

VEGF anjiogenezisi, endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu stimule eder. Apoptozisi inhibe eden bcl-2'nin endotel hücrelerinden salınımını artırarak apoptoziste rol alır (55).

VEGF'nin artmış ekspresyonunun kolon, mide ve pankreas kanserini de içeren çeşitli kanser türlerinde tümör progresyonu ve kötü klinik gidişle ilişkili olduğu bildirilmiştir (48,57).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

3. 1. Olgu Seçimi

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde 2000-2007 yılları arasında diffüz, intestinal tip adenokarsinom tanısı alan 33 hastaya ait gastrektomi ve lenf nodu disseksiyon materyallerine ait hematoksilen-eozin (HE) boyalı preparatlar ile bloklar arşivden çıkarılarak yeniden gözden geçirildi. Her bir adenokarsinom olgusunda tümörden uzak normal mukoza, tümör ve varsa bunların lenf nodu metastazını temsil eden 3 adet blok seçildi.

Hastaların yaşı, cinsiyeti, tümör boyutu, lokalizasyonu patoloji rapor kayıtlarından, tümörün histolojik tipi, derecesi, lokal yayılımı, lenfovasküler invazyon ve lenf düğümü metastazına ait bilgiler HE boyalı preparatların yeniden incelenmesiyle elde edildi. Tüm olgular Dünya Sağlık Örgütü'nün 2000 yılında yaptığı son sisteme göre derecelendirildi ve evrelendirildi.

3. 2. İmmünohistokimya

Primer antikor olarak COX-2, VEGF, CD34 uygulandı (Tablo VI).

- Seçilen bloklardan 2 mikronluk kesitler alındı, kesitler deparafinize edildi.
- Antijen retrieval aşamasında COX için citrate buffer pH 6 (Labvision, USA), VEGF için ise EDTA buffer kullanılarak mikrodalga fırında minimumda güçte 25 dakika kaynatıldı. CD34 antikoruna için Antijen retrieval aşaması uygulanmadı. Daha sonra oda ısısında 20 dakika soğutuldu.
- Distile suda yıkandı.
- Hidrojen peroksit (Labvision,USA) ile 10 dakika muamele edildi.
- Distile suda yıkandı.

- Üç ayrı “Tris Buffered Saline and Tween 20” solüsyonunda (Labvision, USA) 5'er dakika yıkandı.
- Beş dakika Ultra V blok (Labvision,USA) uygulandı.
- Tablo 7'deki inkübasyon sürelerine göre primer antikor uygulandı.
- Üç ayrı tris buffer solüsyonunda 5'er dakika yıkandı.
- Biotinylated goat anti-polivalent (anti-polivalent sistem, HRP, Ultravision, USA) 15 dakika uygulandı.
- Üç ayrı tris buffer solüsyonunda 5'er dakika yıkandı.
- Large volume streptavidin peroksidaz (anti-polivalent sistem, HRP, Ultravision, USA) 15 dakika uygulandı.
- Üç ayrı tris buffer solüsyonunda 5'er dakika yıkandı.
- 10 dakika kromojen (Ultra vision AEC substrate system, USA) ile muamele edildi.
- Distile suda yıkandı.
- Mayers Hematoksilen ile 30 saniye karşıt boyama yapıldı.
- Çeşme suyunda yıkandı.
- Kurutuldu ve Ultramount ile montaj yapıldı.

Tablo VI. Primer antikorların klonları, inkübasyon süreleri, dilüsyon oranları

<u>Primer Antikor</u>	<u>Klon</u>	<u>Dilüsyon</u>	<u>İnkübasyon süresi (dakika)</u>
COX-2 (Labvision; USA)	SP21	1;100	30 dk RT
VEGF (Labvision; USA)	JH121	1:50	+ 4 °C 1gece
CD34 (Labvision; USA)	QBEnd/10	1.200	30 dk RT

3.3. Değerlendirme

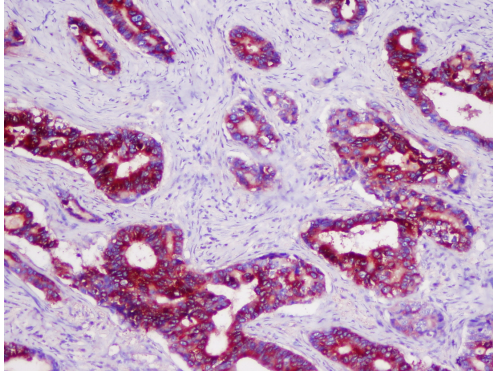
COX-2, VEGF, CD34 immünhistokimyasal boyamalarında sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi. Tümör, tümöre komşu mukoza ve varsa lenf nodu metastazına ait örnekler COX-2 ve VEGF ile boyandıktan sonra, boyanma yoğunluğu ve yüzdesine göre Tablo VII'e uygun şekilde derecelendirildi. Boyanma yüzdesi ve boyanma yoğunluğundan elde edilen dereceler önce toplanarak skorlandı, sonra Tablo VIII'de gösterildiği gibi tekrar derecelendirildi (Resim 1-4).

Tablo VII. VEGF, COX-2 skorlaması

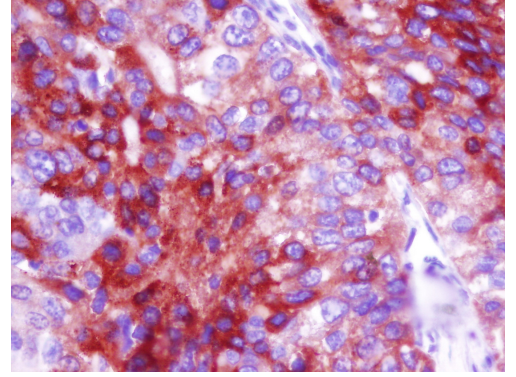
BOYANMA YOğUNLUğU	BOYANMA DERECEğİ
Boyanma yok	0
Hafif	1
Orta	2
Şiddetli	3
BOYANMA YÜZDESİ	
Boyanma yok	0
% 0-25	1
% 26-50	2
% 51-75	3
% 76-100	4

Tablo VIII. COX-2 ve VEGF derecelemesi

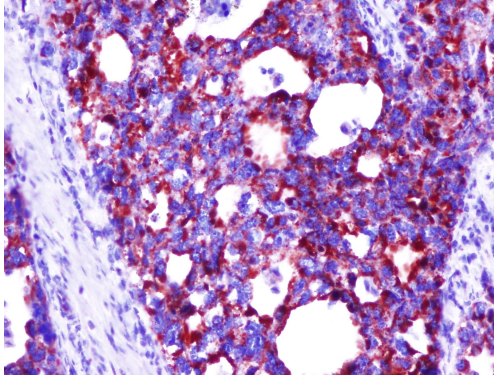
SKOR	DERECE
0	1
1-2	2
3-4	3
5-7	4



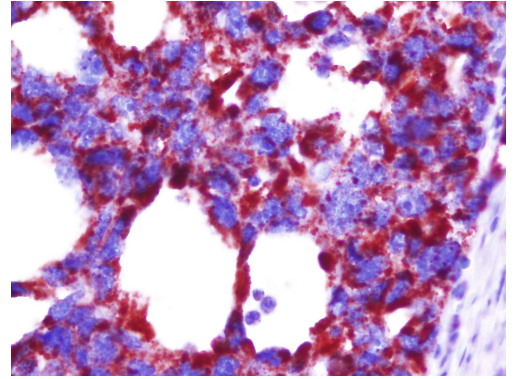
Resim 1. Tümör hücrelerinde şiddetli COX-2 boyanması (x100)



Resim 2. Tümör hücrelerinde şiddetli COX-2 boyanması (x400)



Resim 3. Tümör hücrelerinde şiddetli VEGF boyanması (x200)



Resim 4. Tümör hücrelerinde şiddetli VEGF boyanması (x400)

MVD derecelendirilmesi ise şu şekilde yapıldı:

- Tümör, tümöre komşu mukoza ve lenf nodu metastazına ait örnekler CD34 ile boyandı.
- Işık mikroskopunun küçük büyütmesinde (x40,x100) en yüksek kapiller ve küçük venül boyanan en yüksek neovaskülarizasyona sahip alan seçildi.
- Mikrodamar sayımı x200'lük (0,15 mm²) büyütmede yapıldı.

- CD34 ile pozitif boyanan endotel hücre veya hücre kümeleri sayıma dahil edildi.
- Kalın duvarlı geniş damarlar ve yaklaşık sekiz eritrositin sığabileceği lümene sahip damarlar sayıma dahil edilmedi.
- x200'lük büyütmede sayılan damar sayısı Tablo IX'a uygun şekilde derecelendirildi (58,59).

Tablo IX. MVD derecelendirilmesi

CD34 İLE (+) BOYANAN DAMAR SAYISI	MVD DERECEŚİ
< 20	1
20-29	2
≥ 30	3

3.4. İstatiksel Analiz

İstatiksel analizde 'Windows XP' yazılımında SPSS 13.00 versiyonu ile Kruskal Wallis, 'Mann-Whitney U' testi, Pearson Korelasyon testi ve Ki kare testi kullanıldı. $p \leq 0,05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi. Sürekli veriler ortalama \pm "Standart error of mean" (SEM) olarak verildi.

IV. BULGULAR

Mide karsinom olgularının 5'i diffüz (%51,5), 3'ü taşlı yüzük hücreli (%9,09), 1'i adenoskuamöz (%3,03) tip idi. Geriye kalan 24 olgu ise adenokarsinom (%72,7) tanısı almış idi.

Olguların 24'ü erkek (%72,7), 9'u kadındı (%27,2). Hastaların yaş aralığı 38 ile 84 arasında değişmekteydi. Yaş ortalamaları $63,9 \pm 2,3$ yıl olarak saptandı. 4 olgu iyi diferansiye (%12,1), 14 olgu orta derece diferansiye (%42,4), 15 olgu kötü diferansiye idi (%45,45).

Hastaların 22 tanesinde (%66,6) lenf nodu metastazı, 16 tanesinde lenfovasküler (%48,4) invazyon mevcuttu. Vakaların makroskopik tümör çapı 2-15 cm arası değişmekteydi. Çap ortalaması $6,42 \pm 0,44$ olarak belirlendi.

3 olgu kardiya (%9,09), 6 olgu fundus-korpus (%18,1), 17 olgu antrum (%51,5), 4 olgu küçük kurvatur (%12,1), 3 olgu büyük kurvatur (%9,09) yerleşimliydi. 18 olguda komşu mukozada intestinal metaplazi (%54,5) görüldü. Bu olguların 3'ü (%9,09) aynı zamanda displastik değişiklikler de içermekteydi.

Tümör hastaların birinde (%3,03) submukozada, 3'ünde (%9,09) muskularis propriada sınırlı idi. Geriye kalan 29 hastada (%87,8) ise tümör, serozayı aşırp çevre yağ dokuya invazyon göstermekte idi. Olguların 13'üne (%39,3) total, 20'sine (%60,6) subtotal gastrektomi operasyonu yapılmıştı.

Çalışmaya alınan olguların hiçbirinde birinci dereceden akrabalarında bilinen mide kanseri öyküsü mevcut değildi. Mide karsinom olgularının tümör ve hasta özellikleri Tablo X'da, karsinom olgularının cinsiyet, yaş, tümör çapı, tümör derecesi, lenf nodu metastaz durumları ile COX-2, VEGF, CD34 boyanma dereceleri Tablo XI'de gösterilmiştir.

Tablo X. Tümör ve hasta özellikleri

ÖZELLİK	OLGU SAYISI	(%)
YAŞ		
< 50	5	15,1
≥ 50	28	84,9
TÜMÖR ÇAPI		
< 5 cm	10	30,3
≥ 5 cm	23	69,7
DERECE		
İyi	4	12,1
Orta	14	42,4
Kötü	15	45,5
LENF NODU METASTAZI		
Negatif	11	33,4
Pozitif	22	66,6
CİNSİYET		
Kadın	9	27,8
Erkek	24	72,2
İNVAZYON DERİNLİĞİ		
Submukoza	1	3,02
Muskularis propria	3	9,09
Seroza	29	87,9
İNTESTİNAL METAPLAZİ		
Pozitif	18	54,5
Negatif	15	45,5
LENFOVASKÜLER İNVAZYON		
Pozitif	16	48,5
Negatif	17	51,5

Tablo XI. Karsinom olgularının cinsiyet, yaş, tümör çapı, tümör derecesi, lenf nodu metastaz durumları ile COX-2, VEGF, CD34 boyanma dereceleri

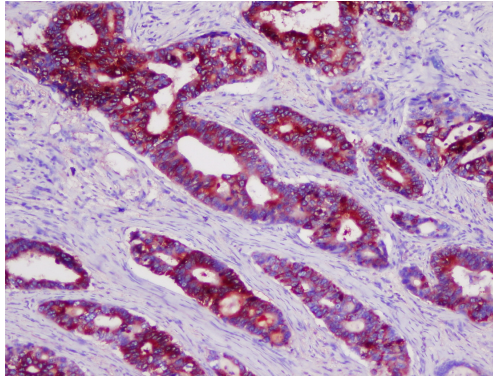
Cinsiyet	Yaş	Yerleşim yeri	Çap	derece	LN	Boyanma derecesi		
						COX-2 (1-4)	VEGF (1-4)	CD34 (1-3)
♣E	43	Korpus	9	orta	+	4	2	1
E	76	Antrum	6,5	kötü	-	3	4	2
♦K	73	Antrum	8	orta	+	4	2	1
E	74	Antrum	3	orta	+	3	4	2
E	67	Antrum	4	kötü	+	1	1	3
E	68	Antrum	5	kötü	+	4	3	1
K	66	Antrum	6	kötü	+	1	4	3
E	74	K.Kurvatur*	8	orta	+	4	3	2
E	82	Antrum	4	kötü	+	3	4	1
E	79	Antrum	8	iyi	-	4	2	1
K	65	Antrum	10	orta	-	4	4	2
K	74	Korpus	4	orta	+	4	2	1
E	51	Korpus	9,4	kötü	+	4	4	1
K	55	Antrum	4	kötü	-	4	3	3
K	66	Antrum	9	kötü	+	4	2	1
E	65	Antrum	6	orta	+	4	4	1
E	51	K.Kurvatur	4	orta	-	4	4	1
K	73	B.Kurvatur**	15	orta	+	4	4	1
E	45	B.Kurvatur	5	kötü	+	4	4	1
E	38	Korpus	5,5	kötü	+	4	4	2
E	58	Fundus	2	iyi	+	4	4	3
E	80	K.Kurvatur	6,5	orta	-	2	1	1
E	75	K.Kurvatur	7,5	orta	+	3	4	1
E	72	Kardia	9	iyi	+	3	3	1
K	42	Antrum	6	kötü	-	1	3	2
E	50	Antrum	5,5	orta	-	3	3	1
E	50	Korpus	6	kötü	+	3	3	1
E	73	Antrum	8	orta	-	2	2	3
K	84	Antrum	5	kötü	+	2	2	1
E	47	Antrum	3	iyi	+	4	2	2
E	52	B.Kurvatur	6	kötü	-	4	4	1
E	63	Kardia	4,5	orta	+	1	4	1
E	79	Kardia	2,5	kötü	-	4	2	2

* K.Kurvatur: Küçük kurvatur, ** B.Kurvatur: Büyük kurvatur, ♣E: Erkek, ♦K:Kadın.

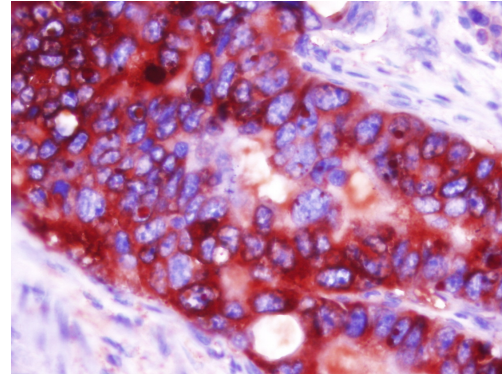
COX-2: COX-2 ile normal glandlarda ve tümör hücrelerinde sitoplazmik boyanma izlendi. Stromal boyanma görülmedi. COX-2 ile normal mukoza %96,9, karsinom grubu %87,8 oranında pozitif boyandı (Tablo XII, Resim5-7). COX-2 pozitif boyanan karsinom olgularının boyanma derecesinin ortalaması $3,27 \pm 0,186$ iken, bu ortalama mukozada $3,70 \pm 0,119$ idi. Tümördeki boyanma derecesi ile mukozadaki boyanma derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. Karsinomlarda tümörün santralinde ve periferinde homojen bir boyanma vardı. Mukozada yüzeysel ve derindeki kriptlerde COX-2 boyanma yüzdesi ve yoğunluğunda belirgin fark izlenmedi (Resim 8). Mukozada fokal intestinal metaplazik değişiklikler içeren alanlarda COX-2 boyanma yoğunluğunda artış gözlemlendi (Resim 9).

Tablo XII. Mide karsinomlu olgularda COX-2 boyanma derecesi

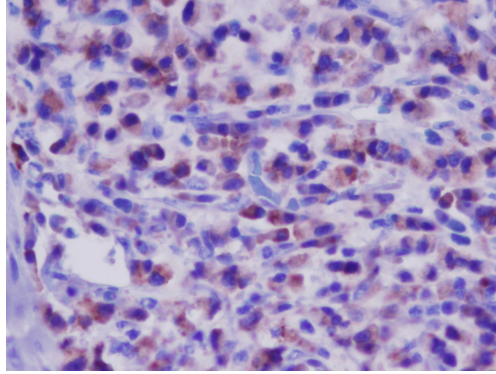
COX-2 BOYANMA DERESESİ	VAKA SAYISI (%)
1	4 (12,12)
2	3 (9,09)
3	6 (18,18)
4	20 (60,60)



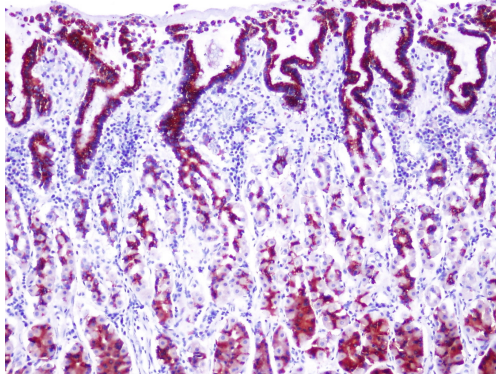
Resim 5. Adenokarsinom olgusunda COX-2 ekspresyonu (x100)



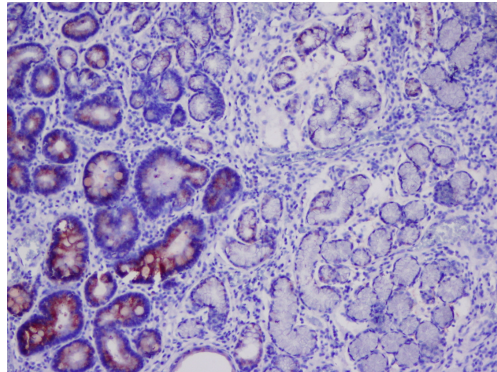
Resim 6. Adenokarsinom olgusunda COX-2 ekspresyonu (x400)



Resim 7. Taşlı yüzük hücreli karsinomda COX-2 ekspresyonu (x200)



Resim 8. Mukozada yüzeydeki ve derindeki kriptlerde COX-2 pozitifliği (x100)



Resim 9. Fokal intestinal metaplazik değişiklikler içeren alanlarda COX-2 pozitifliği (x100)

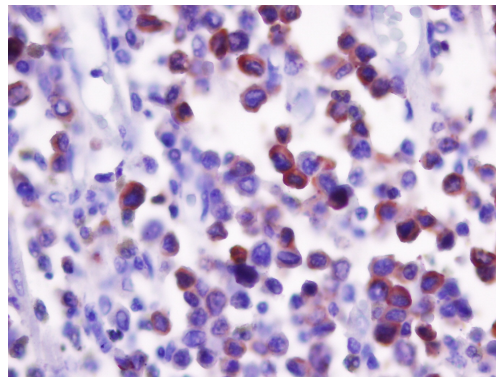
COX-2 ekspresyonunun yaş, damar invazyonu, tümör çapı, tümör derecesi, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodu sayısı ve komşu mukoza değişiklikleri gibi klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo XI). COX-2 boyanma derecesi ile VEGF boyanma derecesi ve MVD derecesi arasında herhangi bir ilişki tespit edilmedi.

Tablo XIII. Tümör ve normal mukozada COX-2, VEGF ve MVD derecesi ortalaması

	COX-2 derecesi ortalaması±SEM	VEGF derecesi ortalaması±SEM	MVD derecesi ortalaması±SEM
Tümör	3,27±0,18	3,06±0,74	1,55±0,13
Mukoza	3,70±0,11	3,52±0,31*	2,21±0,13**

*p=0.05 Mukoza-tümör VEGF derecesi, ** p <0.01 Mukoza-tümör MVD derecesi

Tümör, mukoza ve lenf nodundaki plazma hücrelerinde de COX-2 ile pozitif boyanma izledik (Resim 10).

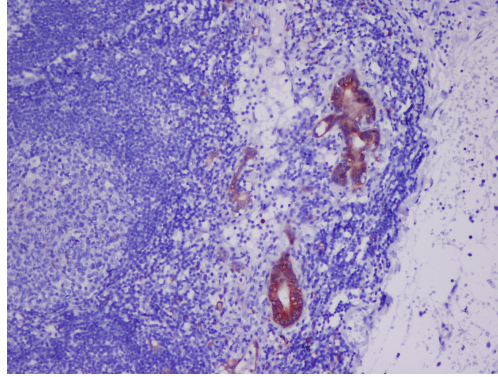


Resim 10. Plazma hücrelerinde COX-2 pozitifliği (x400)

Çalışmamızda yer alan 33 olgunun 22'sinde (%66,6) lenf nodu metastazı pozitif (Tablo XIV). Bu 22 lenf nodu metastazı pozitif olgunun lenf nodundaki COX-2 boyanma derecesi ortalaması $3,64 \pm 0,181$ olarak bulundu (Resim 11).

Tablo XIV. Lenf nodu metastazı pozitif olguların lenf nodunda COX-2 boyanma derecesi

Lenf Nodu COX-2 Boyanma Derecesi	Vaka Sayısı (%)
1	1 (4,5)
2	2 (9,0)
3	1 (4,5)
4	18 (82,0)



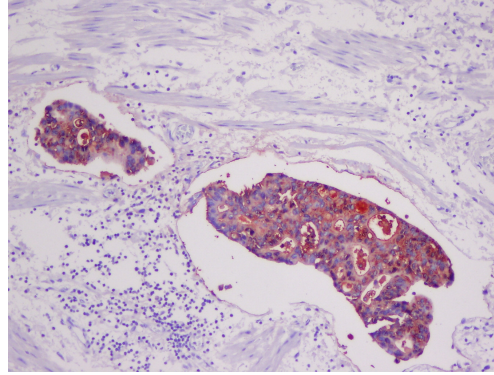
Resim 11. Lenf nodundaki metastaz odağında COX-2 pozitifliği (x100)

Lenf nodu metastazı pozitif olan yalnız bir olguda lenf nodunda COX-2 ile boyanma izlenmedi. Bu olguya ait tümör dokusunda da COX-2 ile boyanma olmadığı dikkati çekti.

Tablo XV. Lenf nodlarında COX-2, VEGF ve CD34 boyanma derecesi ortalaması

Antikorlar	Ortalama \pm SEM
COX-2	3,64 \pm 0,18
VEGF	3,32 \pm 0,23
CD34	1,23 \pm 0,09

Damar invazyonu pozitif olguların COX-2 ile lenf nodu boyanma derecesi daha yüksek idi (Resim 12). Aralarındaki bu korelasyon istatistiksel olarak da anlamlıydı ($p<0.01$).



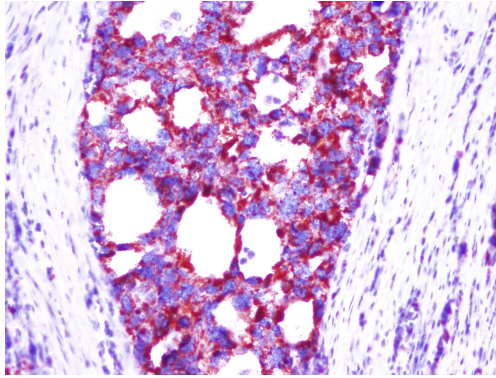
Resim 12. Damar invazyonu pozitif olguda damar içindeki tümör adalarında COX-2 pozitifliği (x100)

Lenf nodunda COX-2 boyanma derecesi ile tümör çapı, tümör derecesi, invazyon derinliği, metastatik lenf nodu sayısı gibi klinikopatolojik parametreler arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Metastatik lenf nodlarında COX-2, VEGF ve CD34 boyanma derecesi arasında herhangi bir ilişki tespit edilmedi (Tablo XV).

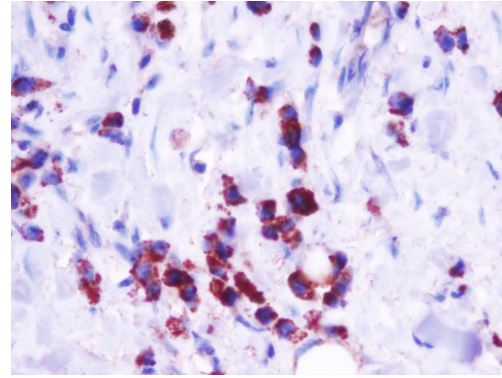
VEGF: Karsinom grubu %93,9 normal mukoza %100 oranında VEGF ile pozitif boyandı (Tablo XVI, Resim 13,14,15). VEGF pozitif boyanan karsinom olgularının boyanma derecesinin ortalaması $3,06 \pm 0,74$ iken, normal mukozanın boyanma derecesinin ortalaması $3,52 \pm 0,131$ idi. Karsinomlarda tümörün santralinde ve periferinde homojen bir boyanma vardı (Resim 16). Normal mukozada ise kriptlerin derininde boyanma yoğunluğu ve yüzdesinde artış dikkati çaktı (Resim 17). Mukozada fokal intestinal metaplazik değişiklikler içeren alanlarda VEGF boyanma yoğunluğunda artış gözlemlendi (Resim 18).

Tablo XVI. Mide karsinomlu olgularda VEGF boyanma derecesi

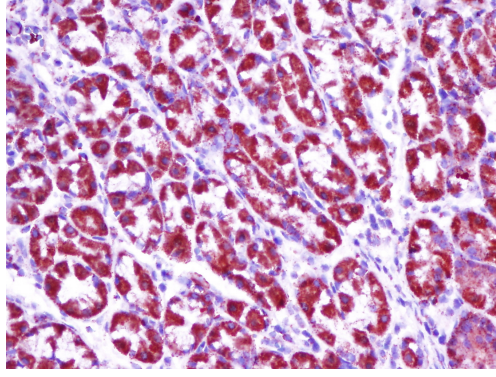
VEGF Boyanma Derecesi	Vaka Sayısı (%)
1	2 (6,0)
2	9 (27,3)
3	7 (21,2)
4	15 (45,5)



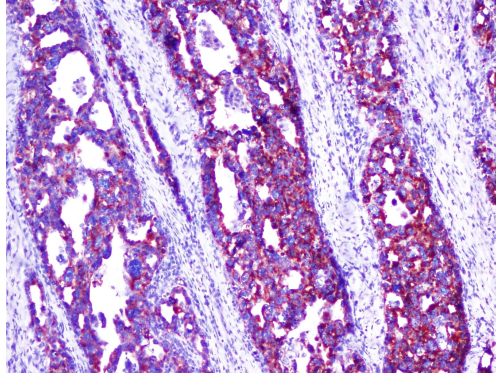
Resim 13. Adenokarsinomlu olguda VEGF ekspresyonu (x200)



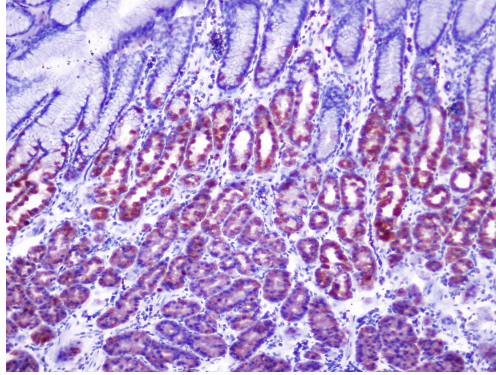
Resim 14. Taşlı yüzük hücreli karsinomda VEGF ekspresyonu (x400)



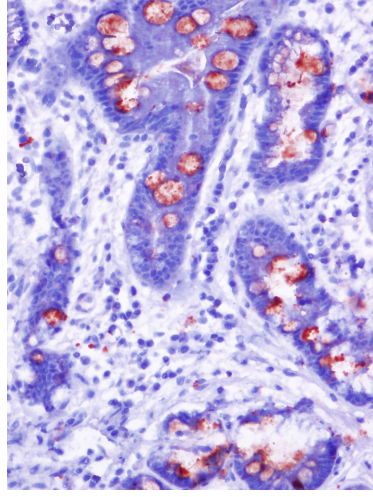
Resim 15. Normal mukozada şiddetli VEGF pozitifliği (x200)



Resim 16. Adenokarsinomlu olguda VEGF ekspresyonu (x100)



Resim 17. Normal mukozada yüzeydeki ve derindeki kriptlerde VEGF ekspresyon farkı (x100)



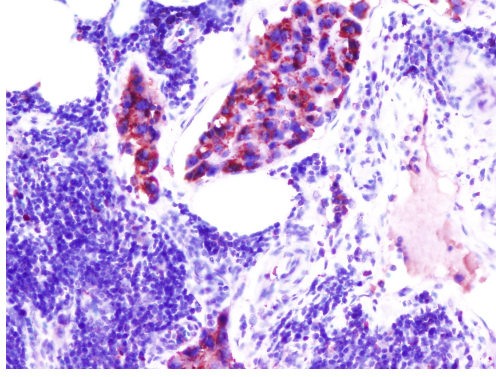
Resim 18. Fokal intestinal metaplazik değişikliler içeren alanlarda VEGF pozitifliği (x200)

Normal mukoza, karsinom grubuna kıyasla VEGF ile daha yüksek oranda pozitiflik gösterdi. Aralarındaki bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı ($p=0,05$).

VEGF ekspresyonununun yaş, damar invazyonu, tümör çapı, tümör derecesi, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodu sayısı ve komşu mukoza değişiklikleri gibi klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Lenf nodu metastazı pozitif olguların VEGF boyanma derecesi ortalaması $3,32\pm 0,302$ olarak bulundu (Tablo XVII, Resim 19).

Tablo XVII. Lenf nodu metastazı pozitif olguların lenf nodlarında VEGF boyanma derecesi

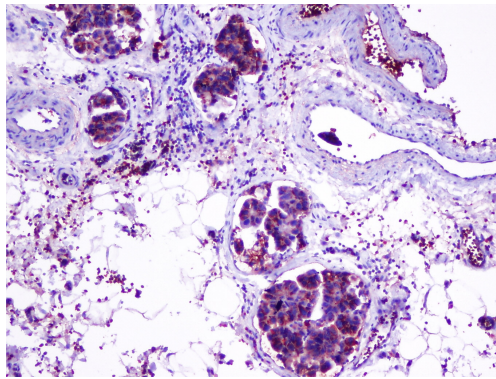
Lenf nodu boyanma derecesi	Vaka sayısı (%)
1	2 (9,1)
2	4 (18,2)
3	1 (4,5)
4	15 (68,2)



Resim 19. Lenf nodundaki metastaz odağında VEGF pozitifliği (x 200)

Lenf nodunda VEGF boyanma derecesinin yaş, damar invazyonu, tümör çapı, tümör derecesi, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodu sayısı ve komşu mukoza değişiklikleri gibi klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

VEGF ile damarlarda fokal immun reaktivite izlendi. Damar invazyonu pozitif olgularda damar içindeki tümör adalarında da VEGF ekspresyonu saptandı (Resim 20).



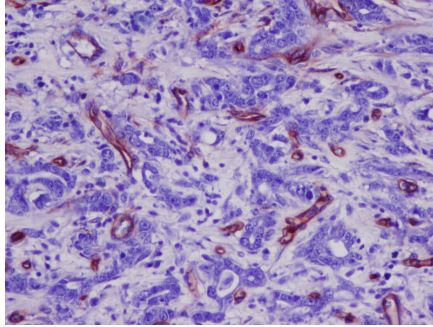
Resim 20. Damar invazyonu pozitif olguda tümör adalarında VEGF pozitifliği (x100)

CD34:

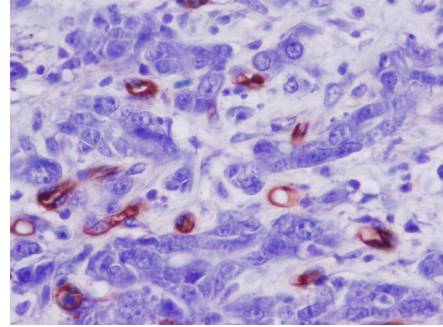
MVD derecesi tümöre kıyasla mukozada daha fazla idi (Resim 21-24). Aralarındaki fark istatistiksel olarak da anlamlıydı ($p<0,01$) (Tablo XIII). Tablo XVIII'da tümör, mukoza ve lenf nodu metastazlarının MVD derecesi dağılımları gösterilmektedir.

Tablo XVIII. Tümör, mukoza ve lenf nodu metastazlarının MVD derecesi

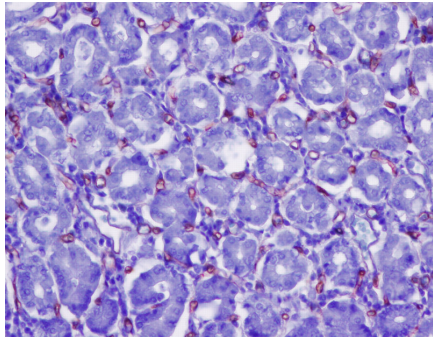
MVD Derecesi	Tümör (33 vaka) Vaka Sayısı (%)	Mukoza (33 vaka) Vaka Sayısı (%)	Lenf Nodu Metastazı (22 vaka) Vaka Sayısı (%)
1	20 (60,6)	7 (21,3)	17 (51,5)
2	8 (24,2)	12 (36,3)	5 (15,2)
3	5 (15,2)	14 (42,4)	0 (0)



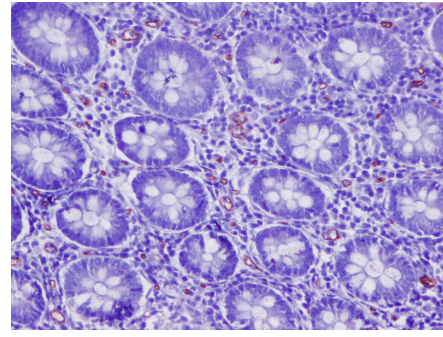
Resim 21 .Adenokarsinomlu olguda endotel hücrelerinde CD34 pozitifliği (x200)



Resim 22. Adenokarsinomlu olguda endotel hücrelerinde CD34 pozitifliği (x400)



Resim 23. Mukozada endotel hücrelerinde CD34 pozitifliği (x100)



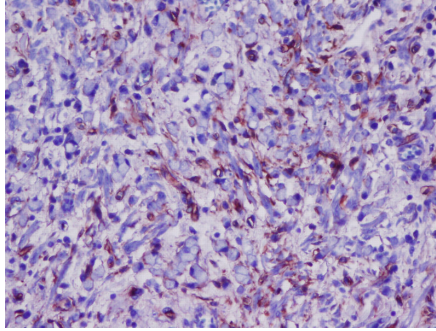
Resim 24. İntestinal metaplazi çevresindeki endotel hücrelerinde CD34 pozitifliği (x200)

İyi ve orta diferansiye mide karsinomları ile kötü diferansiye karsinomlar arasında MVD derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p < 0,05$) (Tablo XIX, Resim 25).

Tablo XIX. İyi ve orta diferansiye mide karsinomları ile kötü diferansiye karsinomların MVD derecesi ortalaması

Tümör Derecesi	MVD Derecesi \pm SEM
İyi-Orta	1,22 \pm 0,10
Kötü	1,93 \pm 0,23*

* $p < 0,05$ Kötü diferansiye karsinomlar-iyi ve orta diferansiye karsinomlar



Resim 25. Taşlı yüzük hücreli karsinomda CD34 pozitifliği (x200)

MVD derecesi ile yaş, damar invazyonu, tümör çapı, tümör derecesi, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodu sayısı ve komşu mukoza değişiklikleri gibi klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

V. TARTIŞMA

Karsinogenezis genetik düzeyde çok basamaklı bir olaydır (60). Malign neoplazm aşırı büyüme, lokal invazyon ve uzak metastaz yapma yeteneği gibi çeşitli özelliklere sahiptir. Bu özellikler aşamalı bir şekilde kazanılır ve olay tümör progresyonu olarak adlandırılır. Genetik değişiklikler sadece gelişimi düzenleyen genleri değil, aynı zamanda anjiogenez, invazyon ve metastazı düzenleyen genleri de etkiler. Tümör içinde barındırdığı tüm genetik anomalilere karşın 1-2 mm çaptan daha fazla büyüemez (61).

COX enzimi, araşidonik asitten prostaglandin H₂ sentezinde hız sınırlayıcı adımı katalizleyen enzimdir (32,40). Kanser ve COX enzimleri arasındaki ilişki son zamanlarda popüler çalışma konularından birisidir. Bu çalışmalar epidemiyolojik, klinik, deneysel ve histopatolojik incelemelerden ibarettir. Özellikle COX-2'nin hücre büyümesinin kontrolünde, apoptozisi önlemede, hücre motilitesi, adezyon, anjiogenezis ve kanser oluşumundaki rolü araştırılmaktadır.

COX-2 kanser gelişiminde önemli olan birçok basamağı etkiler (62). Bu yüzden COX önemli bir tedavi hedefi haline gelmiştir. Son on yılda COX enziminin kanseri önlemede terapötik hedef olacağını destekleyen çalışmalar yapılmıştır (63). Epidemiyolojik çalışmalar düzenli aspirin kullanımının, kolorektal karsinom insidans ve mortalitesini azalttığını göstermiştir. Özefagus, mide, meme, akciğer, prostat, mesane ve over karsinomlarında non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİ) ile düşük ölüm hızı arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (64,65). Bu ilaçların etki mekanizması bilinmemekle birlikte prostaglandin biyosentezindeki anahtar enzim olan COX-2 enzim inhibisyonunun olası bir mekanizma olduğu düşünülmektedir (66-69).

COX-2'nin epitel hücre proliferasyonunu ve anjiogenezisi uyararak ve apoptozisi inhibe ederek karsinogeneziste rol oynadığı düşünülmektedir. Hücre invazivliğini, mutajen üretimini ve metastazı arttırarak immüsupresyona aracılık ederek de karsinogeneziste önemli rol oynadığı düşünülmektedir (70).

COX-2 arasıdonik asitin prostaglandin E₂'ye dönüşümünü indükler. Prostaglandin E₂'nin ise neoanjiogenez ve VEGF gibi anjiogenik faktörlerin sentezini stimüle ettiği düşünölmektedir (71). Prostaglandin E₂ intrasellöler siklik adenzin monofosfat birikimini indükler. Bunun sonucunda da protein kinaz A sinyal yolu aktivasyonuyla hücre büyümesi stimüle edilir, ve böylece hücre adezyonunda değışiklik olur (72).

Mide kanserinin patogenezi kompleks bir süreç olduğu için hala tam olarak anlaşılamamıştır (73). Bir hipoteze göre mide kanseri çok basamaklı bir süreçtir. Sırasıyla kronik aktif gastrit, gastrik atrofi, intestinal metaplazi, displazi ve son olarak da kanser gelişir (74).

Mide adenomlarında ve adenokarsinomlarında COX-2 ekspresyonunun normal mukozaya kıyasla arttığına dair çok sayıda çalışma vardır. Cianchi ve ark. normal mukozada COX-2 protein seviyesinin mide adenokarsinomlarına kıyasla düşük olduğunu göstermişlerdir (75). Lim ve ark. (2000) ile Han ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada normal mukozaya kıyasla mide kanserlerinde COX-2 ekspresyonunun arttığını tespit etmişlerdir. Bu bulguya dayanarak COX-2 ekspresyonunun mide karsinogenezisinde rol alabileceğini ileri sürmüşlerdir (76,77). Lim ve ark. aynı zamanda metaplastik ve adenomatöz prekanseröz lezyonlarda COX-2 ekspresyonu olduğunu, buna bağılı COX-2'nin karsinogenezisin başlangıç safhasından sorumlu olabileceğini ileri sürmüşlerdir (77).

COX-2 seviyeleri ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişkiyi araştıran çelişkili pek çok çalışma vardır. Fujita ve ark. kolon karsinomlarında COX-2 seviyesinin hem tümör boyutu hem de invazyon derinliğı ile ilişkisi olduğunu öne sürmüşlerdir (78). Aksine Lim ve ark. ise mide kanserlerinde COX-2 overekspresyonunun TNM stage, tümör tipi, lenfatik invazyon gibi klinikopatolojik parametrelerle ilişkisinin olmadığını savunmuşlardır (77). Benzer şekilde Murata ve ark. yaptıkları bir çalışmada COX-2 overekspresyonunun çap, uzak metastaz, derece, invazyon derinliğı ve damar invazyonu gibi parametrelerle ilişkisinin olmadığını göstermişlerdir (79). Koga ve ark. mide kanserlerinde COX-2 ekspresyonu ile evre, tümör histolojisi ve vasköler invazyon arasında bir ilişki

olmadığını savunmuşlardır (80). Bu yüzden COX-2 ekspresyonunun bağımsız bir prognostik faktör olmadığını öne sürmüşlerdir (80).

Tatsuguchi ve ark. gastrik karsinom olgularında COX-2 ekspresyonu ile yaş, lenf nodu metastazı ve serozal invazyon arasında doğru orantılı bir ilişki vardır. Bu yüzden sağ kalımı belirlemede COX-2 bağımsız bir prognostik faktördür (81). Aynı çalışmada COX-2'nin anjiogenezisi arttırarak ve apoptozisi inhibe ederek kanser gelişimine yardımcı olduğu vurgulanmıştır (81).

COX-2 ilk keşfedildiğinde, in vitro deneyler COX-2'nin prostoglandin seviyelerini arttırarak inflamasyonda rolü olduğunu göstermiştir. Makrofaj, fibroblast gibi inflamatuvar hücrelerde eksprese edilmesini de bir kanıt olarak sunmuşlardır (74).

Murata ve ark. erken gastrik karsinomlu olgularda komşu mukozada COX-2 protein ekspresyonunun daha yüksek olduğunu gözlemişlerdir (79). Uefuji ve ark. immunoblot analizi ile normal gastrik mukozada sporadik COX-2 reaksiyonu olduğunu saptamışlardır. Aynı çalışmada COX-2 ekspresyonu ile tümör evresi ve prognozu arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. Bu çalışmada COX-2 ekspresyonu ile kanser gelişimi arasında belirgin bir ilişki saptamamışlardır (82).

COX-2 mRNA, granülasyon dokusu ve mide ülserlerinin akut fazında artmaktadır. H.pilori gastritinde lamina propriayı infiltre eden iltihabi hücreler ile fibroblastlarda COX-2 immun reaktivitesi mevcuttur. Tüm bu bulgular COX-2'nin doku tamirinde de rol aldığını gösterir (74). Bilindiği üzere 1994'den bu yana H.pilori mide kanser etyopatogenezinde rol alan bir numaralı karsinojen olarak kabul edilmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda mide mukozasında H.pilori'nin COX-2 ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur (83,84). COX-2 ekspresyonunun, intestinal metaplazi ve kanser hücrelerinde sınırlı olup olmadığı konusu çok net değildir. Sung ve ark. H.pilori ile ilişkili kronik aktif gastrit ve intestinal metaplazi olgularında epitelyal ve stromal hücrelerde COX-2 ekspresyonu izlendiğini bildirmişlerdir. Kronik aktif gastrit, gastrik atrofi, intestinal metaplazi ve gastrik adenokarsinom olgularında COX-2 boyanması açısından anlamlı bir fark izlememişlerdir (83).

Biz çalışmamızda COX-2 ekspresyonunun normal mukozada %96,6, karsinom grubunda %87,8 olduğunu gördük. Mukozadaki COX-2 boyanma grade'i tümördeki göre daha yüksekti. Ancak aralarında istatistiksel olarak fark izlenmedi. Bu bulgular Sung ve ark.'nın görüşünü desteklemektedir (83). Damar invazyonu pozitif olguların metastatik lenf nodunda COX-2 ile boyanma skoru damar invazyonu negatif olgulara göre daha yüksek idi. Aralarındaki bu ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı. Literatürde lenf nodlarındaki metastaz odağında COX-2 ekspresyonuna ilişkin çalışma bulunmamaktadır. Yaptığımız çalışmada, metastatik lenf nodundaki COX-2 derecesi ile tümör çapı, tümör derecesi, invazyon derinliği ve metastatik lenf nodu sayısı gibi parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı.

COX-2'nin normal mukozada tümöre göre daha fazla eksprese olmasının 2 sebebi olduğuna inanmaktayız;

1. Biz kontrol grubunu mide kanserli hastaların tümöre komşu mukozasından seçtik. Literatürde bazı çalışmalardaki kontrol grubu, mide kanseri olmayan tamamen sağlıklı gönüllülerden oluşmaktadır. Tümöre komşu mukoza H.pilori ilişkili gastrit, atrofik gastrit, intestinal metaplazi, ülser, rejeneratif atipi, displazi gibi değişiklikler içermektedir. Çalışmamızda COX-2 ekspresyonunu mukozada daha yüksek oranda izleme nedenimiz tümör gelişimi öncesindeki inflamatuvar süreç ile ilişkili olabilir. Bu hipotezi güçlendirmek için daha geniş serileri içeren çalışmalar yapılması gerektiğini düşünüyoruz.
2. COX-2'nin karsinogenezisin erken dönemlerinde tümöre komşu mukozada tümör hücrelerine karşı lokal immüniteyi sağlamak amacıyla ekspresyonunun arttığı, tümör oluşuktan sonra da overekspresyonun azaldığı ihtimali üzerinde durmaktayız. Ancak bizim çalışmamızda intraepitelyal neoplazi ve erken gastrik karsinom içeren olgu sayımız kısıtlıydı. Bu hipotezi desteklemek için daha geniş olgu içeren, daha kapsamlı ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Büyüme faktörleri kanserdeki anjiogeneizde en önemli rolü oynarlar. Büyüme faktörleri aktif endotelden otokrin ve neoplastik hücrelerin parakrin etkisiyle salınır. Tümör tarafından sekrete edilmiş büyüme faktörleri, stromal hücrelerdeki çözünür büyüme faktörleri ile birleştikten sonra proteolitik enzimler salgırlar. Böylece tümör bu alanı istila eder (85). Anjiogeneiz ile ilgili bir çok faktör olmasına rağmen VEGF ailesi tümör neovaskularizasyonu ile ilişkili en güçlü endotelial hücreye spesifik mitojendir (86). VEGF heparine bağlanan dimerik glikoproteindir (50,86-88). Kromozom 6p21.3'te lokalizedir (89,90). Endotel hücreden etkin olarak sekrete edilir ve mitozu başlatır (50,86). VEGF salınımının hipoksik tümör dokusunda ve nekroza komşu alanlarda en fazla olduğu bulunmuştur. Bu nedenle incelenen tümör dokusunun heterojenitesi sonuçları etkileyebilir. Tümörün değişik bölgelerinde değişik anjiogenik aktivite vardır (50,86).

VEGF ailesi endotel hücrelerinin büyümesini regüle eden büyüme faktörlerindedir. Kolorektal karsinomlarda ilk olarak Brown ve ark. in situ hibridizasyon yöntemiyle malign epitelyal hücrelerin kuvvetli bir şekilde VEGF mRNA eksprese ettiğini, immünohistokimyasal olarak da tümör hücrelerinin VEGF ile kuvvetli boyandığını göstermişlerdir (91). VEGF'nin insan karsinomlarının patogeneiz ve prognozunda rol aldığı birçok araştırmacı tarafından öne sürölmektedir. Deneysel bilgiler yüksek VEGF ekspresyonu olan tümörlerin hızlı büyüdüğü ve metastatik yetenek kazandığı yönündedir. VEGF ekspresyonu lokal doku hipoksisi, sitokinler, onkogenler, tümör süpressör genler ve değişik büyüme faktörleri ile düzenlenir (92-95).

Tashiro ve ark. 2000 yılında yayınladıkları bir makalede VEGF-C ve VEGF-D mRNA seviyelerinin tümörle kıyaslandığında normal akciğer dokusunda daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu iki büyüme faktörünün normal akciğer damarlanmasının homeostazında rolleri olabileceğini düşünmüşlerdir (92). George ve ark. yaptıkları çalışma ile VEGF-D mRNA ekspresyonun kolorektal karsinom ve poliplerde normal mukozaya göre daha düşük olduğunu bulmuşlardır (93).

Berse ve ark. in situ hibridizasyon yöntemi ile akciğer, karaciğer, böbrek, adrenal bez, kalp ve mide mukozası gibi pek çok organda VEGF geninin eksprese edildiğini göstermişlerdir. Bu organlarda VEGF mRNA ekspresyonundaki belirgin artışın mikrovasküler geçirgenliği düzenleyerek, artıkların uzaklaştırılmasında ve doku beslenmesinde temel rolü olduğunu düşündürmüştür. Tümörsüz dokuda VEGF mRNA'nın bulunması normal fizyolojik süreçte VEGF'nin rolü olduğunu desteklemiştir. Normal mikrosirkülasyonda permeabilitenin düzenlenmesinde rolü olabileceği hipotezini öne sürmüşlerdir Bu hipoteze göre; VEGF mikrovasküler geçirgenliği düzenlerken, aynı zamanda normal dokuların endotel hücre artışından da sorumlu olabilir. Ayrıca embriyonik gelişim, iyileşme ve neoplazilerdeki yeni damar gelişiminde de rolü olabilir (96). Ballie ve ark. tümöre komşu normal bronşial epitelde ve stromal hücrelerde güçlü VEGF ekspresyonu olduğunu görmüşlerdir (97).

Anjiogenezis pozitif ve negatif anjiogenik faktörlerin dengelediği dinamik bir süreç olup çeşitli şartlara göre değişebilir (98). Ayrıca VEGF'nin endotel hücrelerinde mitojenik etkisi dışında da pek çok aktivitesi vardır (99). Bu da literatürdeki VEGF ile ilgili çelişkili bulguları açıklamaktadır.

Solid tümörlerin büyümesi ve metastazı pek çok faktörün rol aldığı kompleks biyolojik bir olaydır (100). VEGF'nin bu süreçte nerede rol aldığı henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

Biz çalışmamızda normal mukoza karsinom grubuna kıyasla VEGF ile daha yüksek oranda pozitiflik gösterdi. Aralarındaki bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı. VEGF'ün tümöre kıyasla mukozada daha yüksek oranda eksprese olması bize VEGF'ün normal mide damarlanmasının homeostazında rolü olabileceğini düşündürmektedir. VEGF ekspresyonu ile yaş, damar invazyonu, tümör boyutu, tümör derecesi, invazyon derinliği, komşu mukoza değişikliği gibi parametreler arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi. Lenf nodu VEGF derecesi ile tümör çapı, tümör derecesi, invazyon derinliği ve metastatik lenf nodu sayısı gibi parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı. Yano ve ark. bizim çalışmamıza benzer şekilde derece, TNM klasifikasyonu, damar

invazyonu, tümör tipi ve prognoz ile VEGF ekspresyonu arasında pozitif bir ilişki saptamamışlardır (101).

Transmembran protein olan CD34, endotelial hücrelerin yüzeyinde bulunur. Lenfohematopoetik progenitör hücreler, küçük damarlar, embriyonik fibroblastlar, perivasküler stromal hücreler gibi farklı mezenkimal hücreleri de boyadığı için spesivitesi sınırlıdır ve MVD değerlerinde yalancı yüksek değerler elde edilebilir (102).

Bir çok solid neoplazilerde anjiogenezis araştırma konusu olmuş ve tümör progresyonunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Meme kanserlerinde anjiogenezisin, metastaz yeteneği ile ilişkili olduğu, tümörün metastatik potansiyelinin belirlenmesinde ve antianjiogenik tedavi alacak hastaların seçiminde önemli olduğu gösterilmiştir. İnvaziv meme karsinomlarında anjiogenezis hem uzak metastaz hem de aksiller lenf düğümü metastazının bağımsız bir göstergesi olarak bulunmuştur (102).

Vasküler endotelin çok farklı antijenik ekspresyonu vardır. Antijenik ekspresyon sadece dokunun malign ya da benign olmasına bağlı değildir. Aynı zamanda damar tipi ve hangi organda yer aldığı da önemlidir (101).

Kumar ve ark. anti-CD34 antikorunun hem normal damarları hem de aktive damarları boyadığını bildirmişlerdir (103). Reda ve ark.'nın görüşüne göre CD34 pek çok mezenkimal hücreyi boyadığı için spesifik vasküler marker değildir. Shigang ve ark. CD34'ün anjiogeneziste önemli bir rolü olmayabileceğini belirtmişlerdir (104). CD34 kullanılarak yapılan klinikopatolojik araştırmalarda MVD ve tümör progresyonu arasında tutarsız sonuçlar çıkabileceğini vurgulamışlardır. CD34'ün hem benign hem de malign süreçle ilişkili mikrodamarlarda güçlü bir şekilde eksprese edildiğini; CD34 ile ölçülen MVD'nin uzak metastaz ve lenfovasküler invazyonla ilişkisi olmadığını, ancak CD105 ile ölçülen MVD'nin bu parametrelerle ilişkisi olduğunu tespit etmişlerdir (104-106).

Kumar ve ark. meme kanserlerinde anti-CD105 antikorunu kullanarak ölçülen MVD'nin postoperatif survey ile korele olduğunu, ancak anti-CD34 antikorunu ile ölçülenin korele olmadığını belirtmişlerdir (103).

Bazı çalışmalarda VEGF ekspresyonunun vaskülarite ile korele olduğu, bazı çalışmalarda da korele olmadığı iddia edilmiştir. Ballie ve ark. VEGF ile MVD arasında bir ilişki bulamamışlardır (97). Ayrıca akciğer ve meme tümörlerinde von Willebrand faktör, CD34, CD31 gibi antikorlarla ölçülen MVD değerinin anjiogenezisi yansıtmadığı görüşüne varmışlardır (97). Valente ve ark. sinonazal karsinomlarda MVD ile VEGF ekspresyonu arasında pozitif bir korelasyon saptamışlardır (98).

Shi ve ark. ise mide kanserlerinde COX-2 ekspresyonu ile VEGF ve MVD arasında ilişki olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu çalışmaya göre MVD değerleri COX-2 ve VEGF pozitif grupta daha yüksek iken, COX-2 ve VEGF negatif grupta daha düşüktür (107).

Li ve ark. da gastrik karsinomlarda MVD ile COX-2 ekspresyonu arasında pozitif bir korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmaya göre bu iki antite tümör çapı ve histolojik tip ile korelasyon göstermemekte, ancak lenf nodu metastazı ve invazyon derinliği ile korelasyon göstermektedir (108). Kawabe ve ark. mide kanserlerinde COX-2 ile VEGF ekspresyonu arasında herhangi bir korelasyon saptamamışlardır (109).

Çalışmamızda kötü diferansiye karsinomlardaki MVD derecesi iyi ve orta diferansiye karsinoma göre anlamlı olarak yüksekti. Tümöral dokuda VEGF ekspresyonu ile MVD derecesi arasında pozitif bir korelasyon saptadık, ancak bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kawabe ve ark.'nın sonuçlarına benzer şekilde COX-2 ve VEGF ekspresyonu ile MVD arasında anlamlı bir ilişki tespit etmedik. Çalışmamızda MVD derecesi, mukozada tümöre kıyasla daha fazla idi. Aralarındaki bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı.

Literatürdeki bazı çalışmalar MVD'nin prognozu gösteren iyi bir marker olduğunu iddia ederken, başka çalışmalarda da tam tersini savunmaktadır (101,105,110,111). Bize göre literatürdeki bu görüş farklılıklarının sebepleri şunlardır:

1. Tümör vaskülarizasyonunun niceliği, morfometrik yöntemlerle ölçülen kör bir kesitte gelişigüzel sayılan mikrodamar sayısına bağlıdır. Pek çok araştırmacı damar sayımını "hot spot" adını verdikleri damarlanmanın en yoğun olduğu alanlarda yapmaktadır. Bu yöntemler damarların basısı ve kıvrımlanmaları gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir.
2. "Hot spot" denilen damarlanmanın en yoğun olduğu alanın seçimi gözlemciye bağlı olduğu için hatalara neden olabilmektedir.
3. MVD sayımında farklı metod ve teknikler kullanılmaktadır.
4. MVD sayımında farklı panendotelyal markerler kullanılmaktadır: CD31, CD34, von-Willebrand faktör, CD105 gibi.

Mukozadaki MVD derecesini tümöre göre daha yüksek bulduğumuz için MVD derecesini ölçmede CD34'ün iyi bir antikor olmadığı sonucuna vardık. CD34'ün sadece yeni oluşan damarları değil, perivasküler stromal hücreler de dahil pek çok mezenkimal hücreyi boyuyor olabilir. Bunun yanı sıra CD34 hem benign hem de malign dokudaki kan damarlarında eksprese edildiği için tümörle ilişkili endotelyal hücreleri göstermede daha spesifik bir antikorun kullanılması daha yararlı olacaktır.

Sonuç olarak COX-2, VEGF ve CD34 antikorları ile tümöre kıyasla mukozada daha yüksek boyanma oranları elde ettik. VEGF ve CD34 ile bu korelasyonu istatistiksel olarak anlamlı da bulduk. COX-2, VEGF ve CD34 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamadık. Lenf nodu COX-2, VEGF, MVD derecesi ile tümör çapı, tümör derecesi, invazyon derinliği,

metastatik lenf nodu, uzak metastaz, sağ kalım gibi parametreler arasında istatıksel olarak anlamlı bir ilişki tespit etmedik.

Gözlemlerimize göre tümör heterojenitesi, değişik metodların kullanılması ve antikorların spesivitesindeki farklılıklar bu uyuşmazlığa neden olabilecek faktörlerdir.

Kullanılan metodları standardize ederek daha geniş, kapsamlı seriler ve ileri yöntemlerle daha net sonuçlara varabiliriz.

VI. SONUÇLAR

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar maddeler halinde aşağıda özetlenmiştir.

1- COX-2 ile normal mukoza %96,9, karsinom grubu %87,8 oranında pozitif boyandı. Tümördeki boyanma derecesi ile mukozadaki boyanma derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. Damar invazyonu pozitif olguların COX-2 ile lenf nodu boyanma derecesi daha yüksek idi. Aralarındaki bu korelasyon istatistiksel olarak da anlamlıydı ($p<0.01$).

2- VEGF ile karsinom grubu %93,9 normal mukoza %100 oranında pozitif boyandı. Normal mukozadaki boyanma derecesi, karsinom grubuna kıyasla anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,05$).

3- MVD derecesi tümöre kıyasla mukozada daha fazla idi. Aralarındaki fark istatistiksel olarak da anlamlıydı ($p<0,01$). Kötü diferansiye karsinomlar, iyi ve orta derecede diferansiye karsinomlara göre anlamlı olarak daha yüksek MVD derecesine sahipti ($p<0,05$).

4- COX-2 ve VEGF boyanma derecesi ile MVD derecesi arasında herhangi bir ilişki saptanmadı.

5- COX-2, VEGF ve MVD derecesinin yaş, damar invazyonu, tümör çapı, tümör derecesi, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodu sayısı ve komşu mukoza değişiklikleri gibi klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

6- Metastatik lenf nodlarındaki COX-2, VEGF ekspresyonu ve MVD derecesi ile yaş, damar invazyonu, tümör çapı, tümör derecesi, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodu sayısı ve komşu mukoza değişiklikleri gibi klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı. VEGF, COX-2 ve CD34 boyanma dereceleri arasında herhangi bir ilişki tespit edilmedi.

VII.ÖZET

Amaç:

Siklooksijenazlar, prostaglandin biyosentezinde anahtar enzim olarak rol alırlar. COX-2 sitokin, mitojen, büyüme faktörlerini içeren bir çok stimulus tarafından indüklenir ve inflamatuvar bölgelerde prostaglandin üretiminden sorumludur. Son çalışmalar COX-2'nin hücre proliferasyonu, apoptoz, anjiogenez, immün sistem modülasyonu ve ekstraselüler matriks adezyonunu içeren birçok farklı mekanizma yoluyla karsinogenezi etkilediğini göstermiştir.

VEGF tümör vaskülarizasyonu ile ilişkili endotel hücreye spesifik en güçlü mitojendir. Hipoksi, pH'da azalma, büyüme faktörleri ve tümör süpresör gen kaybı gibi çeşitli faktörler VEGF'nin artmasında rol oynar. VEGF, endotel hücre diferansiyasyonu, proliferasyonu, migrasyonu, ekstraselüler matris formasyonu gibi anjiogenezin hemen tüm basamaklarında rol alan endotel büyüme faktörüdür. Meme, kolon, over, serviks, böbrek, mide ve küçük hücreli dışı akciğer karsinomu gibi pek çok solid tümörde VEGF ve reseptörlerinin ekspresyonunun arttığı ve kötü prognozla ilişkili olduğu kabul edilmektedir.

Son yıllarda mide karsinomlarında anjiogenezin de önemli bir prognostik parametre olduğu saptanmıştır. Anjiogenez üreme, gelişme ve onarımda temel bir süreçtir. Fizyolojik anjiogenez sıkı kontrol altında tutulur. Neoplastik olaylarda görülen patolojik anjiogenez kan damarlarının sürekli büyümesi, yani kontrolden çıkmış bir neovaskülarizasyondur. MVD anjiogenezisi tayin eden bir marker olarak kabul edilir ve tümör prognozunu belirlemede kullanılabilir.

Materyal ve Metod:

Bu çalışmada 33 gastrik karsinomlu olguda immünohistokimyasal yöntemlerle COX-2, VEGF ekspresyonu ve CD34 ile belirlenen MVD derecesi incelendi. Elde edilen bulguların klinikopatolojik parametreler ve prognoz ile ilişkisi araştırıldı.

Bulgular:

COX-2 ile normal mukoza %96,9, karsinom grubu %87,8 oranında pozitif boyandı. Tümördeki COX-2 boyanma derecesi ile mukozadaki COX-2 boyanma derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. Damar invazyonu pozitif olguların COX-2 ile lenf nodu boyanma derecesi daha yüksek idi. Aralarındaki bu korelasyon istatistiksel olarak da anlamlıydı ($p<0,01$).

VEGF ile normal mukoza %100, karsinom grubu %93,9 oranında pozitif boyandı. Normal mukoza karsinom grubuna kıyasla VEGF ile daha yüksek oranda pozitiflik gösterdi. Aralarındaki bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı ($p=0,05$).

MVD derecesi tümöre kıyasla mukozada daha fazla idi. Aralarındaki bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı ($p<0,01$). Kötü diferansiye karsinomlar, iyi ve orta derecede diferansiye karsinomlara göre anlamlı olarak daha yüksek MVD derecesine sahipti ($p<0,05$).

COX-2 boyanma derecesi, VEGF boyanma derecesi ve MVD derecesi arasında herhangi bir ilişki tespit edilmedi. COX-2, VEGF ve MVD derecesinin yaş, damar invazyonu, tümör çapı, tümör derecesi, tümörün invazyon derinliği, metastatik lenf nodu sayısı ve komşu mukoza değişiklikleri gibi parametrelerle ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Metastatik lenf nodlarında COX-2, VEGF ve MVD derecesi arasında herhangi bir ilişki tespit edilmedi.

Sonuç:

Bu sonuçlara göre gastrik karsinomlarda MVD derecesi artarken, tümör diferansiasyonu azalıyor olabilir, fakat COX-2 ve VEGF' nin gastrik karsinom gelişimindeki rolü henüz tam olarak anlaşılammıştır. COX-2, VEGF ve MVD derecesinin gastrik karsinogenezis sürecindeki yerini ve birbirleriyle ilişkilerini tam olarak açığa kavuşturabilmek için daha geniş serilerle ileri çalışmalara gereksinim vardır.

VIII. SUMMARY

Purpose:

Cyclooxygenase is a key enzyme in prostaglandin biosynthesis. COX-2 is induced by mitogens, cytokines and growth factors and is primarily responsible for prostaglandins produced in inflammatory sites. Recent studies have demonstrated that COX-2 could affect carcinogenesis via several different mechanisms, including cell proliferation, apoptosis, modulation of the immune system, angiogenesis and adhesion to the extracellular matrix.

VEGF, the most well-characterized potent angiogenic-mitogenic factor for endothelial cells which is closely associated with neovascularization in cancers. The expression of VEGF is shown to be induced by hypoxia, growth factors, mutation of tumor suppressor genes and decrease in pH. VEGF has been regarded as a general endothelial growth factor acting on all processes of angiogenesis such as extravasation, proliferation, migration, tube formation and differentiation of endothelial cells. High levels of expression of VEGF and their receptors are found in many solid tumors including breast, colon, ovary, cervix, kidney, gastric and non-small cell lung carcinoma. VEGF expression in cancers are associated with poor prognosis.

In recent years, it is found out that angiogenesis is also an important prognostic indicator for gastric carcinoma. Angiogenesis is a basic process in reproduction, development and repair. Physiologic angiogenesis is kept under control strictly. Pathologic angiogenesis seen in neoplastic cases is the constant growth of blood vessels, that is, uncontrolled neovascularization. Microvessel density (MVD) is regarded as a surrogate marker for angiogenesis and has been used for tumor prognosis.

Material and Methods:

In this study, COX-2, VEGF expression and MVD grade that was identified by antibodies against CD34 were investigated immunohistochemically

in 33 patients with gastric carcinoma. Their relation with clinicopathological parameters and prognosis were determined.

Results:

The expression of COX-2 protein was %96,9 in normal mucosa and %87,8 in gastric carcinoma. Although COX-2 expression in mucosa was higher than in carcinoma, the difference was not statistically significant. The COX-2 positivity rates in the lymph nodes were significantly higher in patients with vascular invasion ($p<0,01$).

The expression of VEGF protein was %100 in normal mucosa and %93,9 in gastric carcinoma. VEGF levels in normal mucosa were significantly higher than in carcinoma ($p=0,05$).

The results of CD34 staining were similar. MVD grade in mucosa was significantly higher than in gastric carcinoma ($p<0,01$). MVD values were significantly higher in poorly differentiated carcinomas carcinoma than in well differentiated and moderately differentiated carcinoma ($p<0,05$).

There was no association between COX-2, VEGF expression and MVD grade. There was no correlation between COX-2, VEGF, CD34 expression (MVD grade) and clinicopathological parameters such as age, tumor dimension, grade, lymph node metastasis, depth of invasion, vascular invasion and alterations of adjacent mucosa. Also no significant relation was detected between COX-2, VEGF expression and MVD grade in metastatic lymph nodes.

Conclusion:

Our results suggest that the density of microvessels in gastric carcinoma may correlate with tumour grade, but the precise roles of COX-2 and VEGF in gastric cancers is not yet fully understood. Further studies with large case series are needed to clarify importance of COX-2, VEGF and MVD in progress of cancers and their relation with each other.

IX. KAYNAKLAR

1. Hamilton R.S, Aaltonen LA (eds), Tumors of Stomach In:Pathology and Genetics of Tumors of the Digestive System, IARCPress Lyon, 2000:39-52.
2. Kumar V. Abbas A, Fausto N. Cellular Adaptations, Cell Injury and Cell Death. In: Kumar V., Abbas A., Fausto N., eds. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed. Elsevier Philadelphia, 2005:810-827.
3. Rosai J. Gastrointestinal Tract. In: Rosai J, ed. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 9th ed. Mosby Edinburg, 2004: 662-672.
4. Göçmen E KH: Mide Kanseri Epidemiyolojisi. Türkiye Klinikleri Cerrahi Dergisi 2000;15:161-162.
5. Doğusoy GB. Mide Karsinomunda Neoplastik Sürece Onkopatolojik Yaklaşım. 18. Ulusal Patoloji Sempozyumu, 2006:81-86.
6. Stoicov C, Saffarri R, Cai X, Hasyagar C, Houghton J. Molecular biology of gastric cancer: Helicobacter infection and gastric adenocarcinoma: bacterial and host factors responsible for altered growth signaling. Gene 341;2004:1-17
7. Naumann M, Crabtree JEE. Helicobacter pylori-induced epithelial cell signaling in gastric carcinogenesis. Trends in Microbiology 2004;36:12-29.
8. Mitchell RN, Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Hastalığın Patolojik Temeli cep Kitabı. Philadelphia, Elsevier Saunders.2008:410-445.
9. Boddie AW.Jr, McBrideCM, Balch CM.Gastric Cancer. The American Journal of Surgery. 1989;157:595-606.
- 10.Japanese Gastric Cancer Association: Japanese Classification of Gastric Carcinoma. 2nd Eng Ed.Gastric Cancer. 1998;1:10-24.
11. Ruge M, Sonego F, Panozzo M. Pathology and ploidy in the prognosis of gastric cancer with no extranodal metastasis. Cancer 1994;73(4):1127-1133.

12. Correa P, Chen VW. Gastric Cancer. Trends in cancer incidence and mortality, (Eds) Doll R, Fraumeni Jr JF, Muir CS. Cold Spring Harbor Laboratory Pres. 1994:55-76.
13. David A.Owen. The Stomach. In:Mills S, Carter D, Reuter V, Greenson J, Stoler M, Oberman H (eds), Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology, Lippincott Williams&Wilkins Philadelphia, 4rd ed, 2004 pp;1455-1461.
14. Cunningham D. Gastric Cancer-The recognition of chemosensitive tumor. Br. J. Cancer 1988;58:695-699.
15. Maruyama K, Gunven P, Okabayashi K.Lymph Node Metastasis of gastric cancer. Ann. Surg., 1989;210:596-602.
16. Ming SC. Gastric Carcinoma. A pathobiological classification. Cancer 1977;39:2475-85.
17. Çetin SE. Mide Karsinomlarında Sınıflama, Evreleme, Prognostik Faktörler ve Moleküler Patoloji, Gastrointestinal Sistem Patolojisi Günleri, 2005:57-62.
18. Landown M, Quirke P, Dixon MF. High grade dysplasia of the gastric mucosa: a marker for gastric carcinoma. Gut. 1990;31:977-983.
19. Nie D, Tang K, Diglio C. Eicosanoid regulation of angiogenesis: role of endothelial arachidonate 12-lipoxygenase. Blood 2000;95:2304-2311.
20. Fidler LJ, Ellis LM. The implications of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis. Cell 1994;79:185-188.
21. Mangi MH, Newland AC. Angiogenesis and angiogenic mediators in haematological malignancies. Br J Haematol 2000;111:43-51.
22. Anlar M, Han Ö. Anjiogenezis ve Tümör Gelişimindeki Rolü. Seminer Çalışması. 2003:1-8.
23. Özuysal S. Tümöral Anjiogenesis. Türk Patoloji Dergisi. 2001;17(3-4):90-93.

24. Abulafia O, Sherer DM. Angiogenesis of the endometrium. *Obstet Gynecol* 1999;94:148-153.
25. Weidner N, Folkman J, Poza F. Tumor Angiogenesis: A new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. 1992;84:1875-1887.
26. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Eng J Med* 1971;285:1182-1186.
27. Weidner N, Semole JP, Welch WR. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive breast carcinoma. *N Eng J Med* 1991;324:1-8.
28. Liotta LA, Saidel MG, Kleinerman J. The significance of hematogenous tumor cell clumps in the metastatic process. *Cancer Res* 1976;36:889-894.
29. Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nature Med* 1995;1:149-153.
30. O'Byrne KJ, Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Cox G, Turley H, Steward WP, Gatter, Haris AL. Vascular endothelial growth factor, platelet derived endothelial cell growth factor and angiogenesis in non small cell lung cancer. *Br J Cancer* 2000;82:1427-1432.
31. Pezella F, Gatter KC, Pastorino U. Angiogenesis in lung cancer In: Brambilla C, Brambilla E, ed. *Lung tumors fundamental biology and clinical management*. New York:Marcel Dekker Inc. 1999:383-398.
32. Brooks P, Emery P, Evans JF. Interpreting the clinical significance of the differential inhibition of cyclooxygenase-2. *Rheumatology* 1999;38:779-788.
33. Costa C, Soares R, Reis-Filho JS. Cyclooxygenase-2 expression is associated with angiogenesis and lymph node metastasis in human breast cancer. *J Clin Pathol* 2002;55:429-434.

34. Xue YW, Zhang QF, Zhu ZB, Wang Q FU SB. Expression of cyclooxygenase-2 and clinicopathologic features in human gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9(29):250-253.
35. Joo YE, Oh WT, Rew JS, Park CS, Choi SK. Is associated with well-differentiated and intestinal-type pathways in gastric carcinogenesis. *Digestion* 2002;66:222-229.
36. Crofford Lj. COX-1 and COX-2 Tissue expression: Implication and predictions. *The Journal of Rheumatology*. 1997; (suppl 49):24;15-19.
37. Van Rees BP, Saukkonen K, Ristimaki A, Polkowski W. Cyclooxygenase-2 expression during carcinogenesis in the human stomach. *J Pathol* 2002;196:171-179.
38. Saukkonen K, Rintahaka J, Sivula A, Buskens CJ. Cyclooxygenase-2 and gastric carcinogenesis. *APMIS* 2003;:111:915-925.
39. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors and lessons from the clinic. *FASEB J*.2004;18:790-804.
40. Buskens CJ, Sivula A, Van Rees BP Haglund C, Offerhaus GJ. Comparison of Cyclooxygenase-2 expression in adenocarcinomas of the gastric cardia and distal oesophagus. *Gut* 2003;52;1678-1683.
41. Honjo S, Kase S, Osaki M, Ardyanto TD, Kaibara N. Cyclooxygenase-2 expression in human gastric tubular adenomas and carcinomas; correlation with intratumoral microvessel density and apoptotic index. *Anticancer research* 2004;24:1439-1444.
42. Kaplan B, Klostermeyer BS. The Cyclooxygenase-2 inhibitors : safety and effectiveness. *Ann Pharmacother* 1999;33:979-986.
43. Leung WK, To KF, Go MY, Chan, Chan KK. Cyclooxygenase-2 upregulates vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis in human gastric carcinoma. *International Journal of oncology* 2003;23:1317-1322.

44. Cheng T, Cao W, Wen r, Steinberg R%H, Lavail MM. Prostaglandin E2 induces vascular endothelial growth factor expression and basic fibroblast growth factor mRNA expression in cultured rat muller cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:581-591.
45. Ben-Av P, Crofford LJ, Wilder , Hla T. Induction of vascular endothelial growth factor expression in synovial fibroblast by prostaglandin E and interleukin-1:a potential mechanism for inflammatory angiogenesis. *FEBS Lett* 1995;372:83-87.
46. Shida A, Fujioka S, Ishibashi Y, Kobayashi K, Nimura H, Mitsumori N. Prognostic signifance of vascular endothelial growth factor D in gastric carcinoma. *World J Surg* 2005;29:1600-1607.
47. Saito H, Tsujitani S. Angiogenesis, angiogenic factor expression and prognosis of gastric carcinoma. *Anticancer research*. 2001;21:4365-4372.
48. Maeda K, Chung YS, Ogawa Y, Takatsuka S, Kang SM, Ogawa M. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma. *Cancer* 1996;77:858-863.
49. Traxler P, Allergini PR, Brandt R, Brueggen J, Cozens R. A dual family epidermal growth factor receptor /ErbB2 and vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor with antitumor and antiangiogenic avtivity. *Cancer research* 2004;64:4931-4941.
50. Ohta Y, Watanabe Y. Current concept of angiogenesis and non-small cell lung cancer. *Lung cancer* 2000;199-210.
51. Nor JE, Christensen J, Money DJ, Polverini PJ. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated angiogenesis is associated with enhanced endothelial cell survival and induction of Bcl-2 expression. *Ann J Pathol* 1999;154:375384.
52. Kraft A, Weindel K, Ochs . Vascular endothelial growth factor in the sera and effusions of patients with malignant and nonmalignant disease. *Cancer* 1999;178-187.

53. Freeman MR, Schneck FX, Gagnon ML. Peripheral blood lymphocytes and lymphocytes infiltrating human cancer Express vascular endothelial growth factor: A potential role for T cells in angiogenesis. *Cancer Res* 1995;55:4140-4145.
54. Poon RTP, Fan TS, Wong J. Clinical imoplications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *J Clin Oncol* 2001;19:1207-1225.
55. Cox G, Jones JL, Walker RA. Angiogenesis and non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2000;27:81-100.
56. Yamamoto S, Yasui W, Kitadai Y, Yokozaki, Karuma K. Expression of vascular endothelial growth factor in human gastric carcinomas. *Pathology International* 1998;48:499-506.
57. Duff SE, Li C, Jesiorka M, Kumar S, Saunders M, Sherlock D. Vascular endothelial growth factors C and D and lymphangiogenesis in gastrointestinal tract malignancy. *British Journal of Cancer* 2003;89:426-430.
58. Weidner N, Semole JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastases correlation in invasive breast carcinoma. *N Eng J Med* 1991;324:1-8.
59. Bosari S, Lee AK, De Lelli S, Willey BD, Heatly GJ, Silverman ML. Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma *Hum Pathol* 1992;23:755-761.
60. Tuncer İ, Burgut R, Bozdemir N, Coşar EF. Türkiyede kanser sıklığı. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi*, 1994:22-29.
61. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 1989;339:58-61.
62. Dannenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO. Cyclooxygenase-2; a pharmacological target for the prevention of cancer. *Lancet Oncol* 2001;2:544-552.

63. Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, Zweifel BS, Settle SL, Woerner Bm, Edwards DA, Flickinger AG, Moore RJ, Seibert K. Antiangiogenic and antitumor activities of Cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res* 2000;60:1306-1311.
64. Moran EM. Epidemiological and clinical aspects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cancer risks. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 2002;21:193-201.
65. Thun MJ, Henley SJ, Patrono C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic and clinical issues. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94:252-266.
66. Oulgalkov A, Yamashita K, Mai M, Minamoto T. Oncogenic B catenin and MMP 7 Cosegregate in late-stage clinical colon cancer, *Gastroenterol* 2002;122:60-71.
67. Sakuma K, Fujimori T, Hirabayashi K, Terano A. COX-2 immunoreactivity and relationship to p53 and ki67 expression in colorectal cancer, *J Gastroenterol* 1999;34:189-194.
68. Ota S, Bamba H, Kato A, Kawamoto C, Yoshida Y, Fujiwara K. , Review article: COX-2, prostanoids and colon cancer, *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16 Suppl 2:102-6.
69. Peek R.M. Enzymology; selective COX inhibition down regulates VEGF dependent tumor mechanisms, *Angiogenesis*, 2003,24.
70. Bottone F.G., Martinez JM., Alston-Mills B., Eling T.E. Gene modulation by COX-1 and Cox-2 specific inhibitors in human colorectal carcinoma cancer cells, *Carcinogenesis*, 2004,25:349-357.
71. Murray G, Duncan M.E, Arbuckle E, Melvin M.T, Forthergil J.E. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gastric cancer, *Gut.* 1998;43:791-797.
72. Jon K.P, Gouw A, Peeters P, Bulthuis M, Menkema L, Portre R, Slooff M, Van Goor H, Van den Berg A. p53 mutation analysis of colorectal liver

metastases: Relation to actual survival, angiogenic status, and p53 overexpression, *Clin Cancer Res*, 2005;11:4067-4072.

73. Ristimäki A, Honkanen N, Jankala H, Sipponen P, Harkonen M. Expression of Cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer Research* 1997;57:1276-1280.

74. Guida K, Sakamoto C. The role of Cyclooxygenase in gastric mucosal protection. *Digestive Diseases and Sciences*. 2005;50:16-23.

75. Cianchi F, Cortesini C, Bechi P, Fantappiè O, Vannachi MA, Sadri I, Baroni G, Boddi V, Mazzanti R, Masini E. Up-regulation of COX-2 gene expression correlates with tumor angiogenesis in human colorectal cancer, *Gastroenterol*, 2001;121:1339-1347.

76. Han SL, Tang HJ, Hua YW, Ji SQ, Lin DX. Expression of COX-2 in stomach cancers and its relation to their biological features. *Dig Surg* 2003; 20:107-114.

77. Lim HY, Joo HJ, Choi JH, Yi JW, Yang MS, Cho DY, Kim SH, Nam DK, Lee KB, Kim HC. Increased expression of Cyclooxygenase-2 protein in human gastric carcinoma. *Clinical cancer research* 2000;6:519-525.

78. Fujita T, Matsui M, Takaku K, Vetake H, Ichikawa W, Taketo M, Sugihara K. Size and invasion dependent increase in cyclooxygenase 2 levels in human colorectal carcinomas. *Cancer Res* 1998;58:4823-4826.

79. Murata H, Kawano S, Tsuji S, Tsuji S, Sawaoka H, Kimura Y, Shiozaki H, Hori M. Cyclooxygenase-2 overexpression enhances lymphatic invasion and metastasis in human gastric carcinoma. *The American Journal of Gastroenterology* 1999;94:451-455.

80. Koga T, Shibahara K, Kabashima A, Sumiyoshi Y, Kimura Y, Takahashi I, Kakeji Y, Maehara Y. Overexpression of Cyclooxygenase-2 and tumor angiogenesis in human gastric cancer. *Hepato-Gastroenterology* 2004;51:1626-1630.

81. Tatsuguchi A, Matsui K, Shinji Y, Guids K, Tsukui T, Kishida T, Guids K, Tsukui T, Kishida T, Fukuda Y, Sugiasaki Y, Tokunaga A, Tajiri T, Sakamoto C. Cyclooxygenase-2 expression correlates with angiogenesis and apoptosis in gastric cancer tissue. *Human Pathology* 2004;35:488-495.
82. Uefuji K, Ichikura T, Mochizuki H, Shinomiya N. Expression of Cyclooxygenase-2 protein in gastric adenocarcinoma. *Journal of Surgical Oncology* 1998;69:168-172.
83. Sung JJY, Leung WK, Go MYY, To KF. Cyclooxygenase-2 expression in helicobacter pylori-associated premalignant and malignant gastric lesions. *American Journal of Pathology* 2000;157:729-735.
84. Tatsuguchi A, Sakamoto C, Wada K, Akamatsu T, Miyake K, Futagami S, Kishida T, Fukuda Y, Yamanaka N, Kobatashi N. Localisation of cyclooxygenase 2 in Helicobacter pylori related gastritis and gastric ulcer tissues in humans. *Gut* 2000;46:782-789.
85. Hannekan A, Maher P, Baird A. High affinity immunoreactive FGF receptors in the extracellular matrix of vascular endothelial cells-implications for the modulation of FGF-2. *J Cell Biol* 1995;128:1221-1228.
86. Andre T, Kotelevets L, Vaillant JC, Coudray AM, Weber L, Prevot S, Parc R, Chastre E. VEGF, VEGF-B, VEGF-C, and their receptors KDR, FLT-1 and FLT-4 during the neoplastic progression of human colonic mucosa. *Int J. Cancer* 2000;86:174-181.
87. Roman J. Cellular mechanisms of lung development. In: Fishman AP (ed). *Fishman's Pulmonary Disease and Disorders*. 3rd edition. New York: McGraw-Hill Book Co, 1998:73-89.
88. Konig EJ, Tolnay E, Wiethage T, Müller M-K. Co-expression of vascular endothelial growth factor and its receptors flt-1 in malignant pleural mesothelioma. *Respiration* 2000;67:36-40.

89. Brash A. Arachidonic acid as a bioactive molecule, *J.Clin. Inves* 2001;107: 1339-1345.
90. Liu CH, Chang S-H, Nako K, Trifan O, Wu mt, Smith E, Haundenschild C, Chatzaki E, Georgouilas V, Kakolyris S. Overekspression of cyclooxygenase- 2 sufficient to induce tumorigenesis in transgenic mice, *J Biol Chem* 2001; 276: 18563-18569.
91. Brown LF, Guidi AJ, Schnitt SJ. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and vascular stroma formation in neoplasia: insight from in situ hybridisation studies. *J Histochem Cytchem* 1998;46:569-575.
92. Niki T, Iba S, Tokunou M, Yamada T, Matsuno Y, Hirohashi S. Expression of vascular endothelial growth factors A,B,C and D and their relationship to lymph node status in lung adenocarcinoma. *Clinical Cancer research* 2000;6:2431-2439.
93. George ML, Tutton MG, Jansen F, Arnaout A, Abulafi AM, Eccles SA. VEGF-A, VEGF-C and VEGF-D in colorectal cancer progression. *Neoplasia* 2001;3:420-427.
94. Kaklamanis L, Trichas M, Amarantidis K, Spathari N, Micheli A, Karayiannakis A, Chatzaki E, Georgouilas V, Kakolyris S. VEGF expression in the colorectal adenoma-carcinoma sequence, *Oncol Res.* 2006;15:445-451.
95. Perez R, Wu N, Klipfel A, Beart R. A better cell cycle target for gene therapy of colorectal cancer: Cyclin G, *J Gastrointest Surg* 2003;7(7):884-889.
96. Berse B, Brown LF, Water L, Dvorak HF, Senger DR. vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages and tumors. *Molecular Biology of the Cell* 1992;3:211-220.
97. Ballie R, Carlile J, Pendleton N, Schor AM. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol* 2001;54:116-120.

98. Valente G, Mamo C, Bena A, Btechn EP, Cavaliere BS, Comino A, Palestro G, Isidoro C, Beatrice F. Prognostic significance of microvessel density and vascular endothelial growth factor expression in sinonasal carcinomas. *Human pathology* 2006;37:391-400.
99. Konno H, Baba M, Tanaka T, Kamiya K, Ota M, Oba K, Shoji A. Overexpression of vascular endothelial growth factor is responsible for hematogenous recurrence of early-stage gastric carcinoma. *EUR Surg Res* 2000;32:177-181.
100. Du JR, Jiang Y, Zhang YM, Fu H. vascular endothelial growth factor and microvascular density in esophageal and gastric carcinomas. *World J Gastroenterol* 2003;9:1604-1606.
101. Yano T, Tanikawa T, Fujie T, Masutani M, Horie T. vascular endothelial growth factor expression and neovascularisation in non-small cell lung cancer. *European Journal of cancer* 2000;36:601-609.
102. Warren RS, Yuan H, Matli MR, Gillet NA, Ferrara N. Regulation by vascular endothelial growth factor of human colon cancer tumorigenesis in a Mouse model of experimental liver metastasis. *J Clin Invest* 1995;95:1789-1797.
103. Kumar S, Ghellal A, Li C, Byrne G, Haboubi N, Wang JM, Bundred N. Breast Carcinoma: Vascular density determined using CD105 Antibody correlates with tumor prognosis. *Cancer Research* 1999;59:856-861.
104. Ding S, Li C, Lin S, Yang Y, LiuD, Han Y, Zhang Y. Comparative evaluation of microvessel density determined by CD34 or CD105 in benign and malignant gastric lesions. *Human Pathology* 2006;37:861-866.
105. Tanaka F, Otake Y, Yanagihara K, Kawano Y, Miyahara R, Li M, Yamada T, Hanaoka N, Inui K, Wada H. Evaluation of angiogenesis in non-small cell lung cancer: comparison between anti-CD34 antibody and anti-CD105 antibody. *Clinical Cancer Research*;7:3410-3415.

106. Saad RS, Gohary Y, Memari E, Liu YL, Silverman JF. Endoglin (CD105) and vascular endothelial growth factor as prognostic markers in esophageal adenocarcinoma. *Human Pathology* 2005;36:955-961.
107. Shi H, Xu JM, Hu NZ, Xie H. Prognostic significance of expression of Cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in human gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:1421-1426.
108. Li XH, Chang XM, Song ZJ, He SX. Correlation between expression of Cyclooxygenase-2 and angiogenesis in human adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:674-677.
109. Kawabe A, Shimada Y, Uchida S, Maeda M, Yamaki S, Kato M, Hashimoto Y, Ohsuho G, Matsumoto M, Imamura M. Expression of Cyclooxygenase-2 in primary and remnant gastric carcinoma: comparing it with p53 accumulation, helicobacter pylori infection and vascular endothelial growth factor expression. *Journal of Surgical Oncology* 2002;80:79-88.
110. Chandrachud LM, Pendelton N, Chisholm D, Horan MA, Schor AM. Relationship between vascularity, age and survival in non-small-cell lung cancer. *Br. J. Cancer* 1997; 76:1367-1375.
111. Pastorino U, Andreola S, Tagliabue E, Pezella F, Incarbone M, Sozi G, Buyse M, Manart S. Immunocytochemical markers in stage I lung cancer: relevance to prognosis. *J Clin Oncol* 1997;15:2858-2865.