

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

91434

İLERİ EVRE MİDE ADENOKANSERLERİNDE
TÜMÖR ANJİOGENEZİS VE BCL-2
EKSPRESYONUNUN
SAĞKALIM VE TEDAVİYE CEVAP ÜZERİNE
ETKİLERİ

(UZMANLIK TEZİ)

YÜCE İKTİSADİ EĞİTİM KURUMU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

DR. YUSUF ERZİN



İSTANBUL-1999

Bu tez projesi, T-671 / 190299 protokol numarası ile, *İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu*'nun desteği ile gerçekleştirilmiştir.

Yaptığımız çalışmalarda, bize ihtiyaç duyduğumuz desteği veren ve Türk tıbbının ilerlemesine katkıda bulunan *İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu*'na teşekkürlerimizi sunarız.

Dr. Yusuf ERZİN

EY TÜRK GENLIĐİ!

Birinci vazifen Türk istiklalini, Türk cumhuriyetini,
ilelebet, muhafaza ve müdafaa etmektir.

Muhtaç olduĐun kudret, damarlarındaki asil kanda mevcuttur.

Mustafa Kemal ATATÜRK

Uzmanlık eğitimim boyunca, her zaman bilgi ve tecrübelerine başvurduğum ve yararlandığım İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine;bu tezin hazırlanmasında yapıcı eleştirileriyle bana her zaman yol gösteren Onkoloji Bilim Dalı öğretim üyeleri başta **Prof. Dr. Nil Molinas MANDEL** ve **Doç. Dr. Gökhan DEMİR** olmak üzere **Prof. Dr. Süheyla SERDENGEÇTİ**, **Prof. Dr. Evin BÜYÜKÜNAL**, **Prof. Dr. Fuat DEMİRELLİ** ve **Doç. Dr. Mustafa ÖZGÜROĞLU**'na; hasta grubunun oluşturulması ve laboratuvar değerlendirmesi aşamasında yardımlarını aldığım **Dr. Sedef BELENTEPE**, **Lab. Selda GÖÇENER** ve **Prof. Dr. Süha GÖKSEL**'e; iyi hekim olma yolunda bana sonsuz destek veren **Prof. Dr. Hasan İLKÖVA** ve **Prof. Dr. Burhan FERHANOĞLU**'na; dört yılı aşan eğitimim döneminde bana güleryüzleriyle insan ve yaşama sevgisi aşılayan tüm asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.....

Dr. Yusuf ERZİN

İÇİNDEKİLER

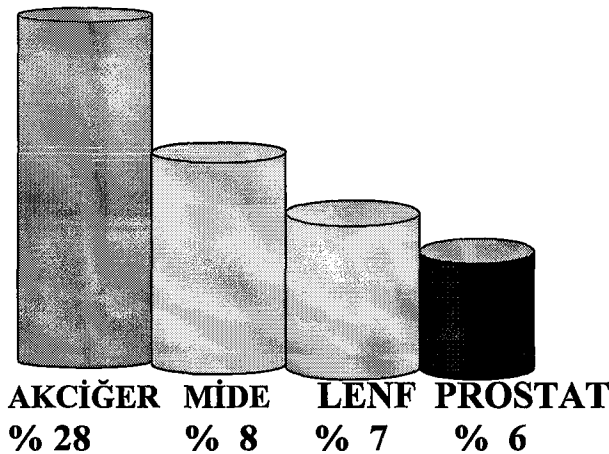
GİRİŞ.....	1
HASTALAR VE YÖNTEM.....	8
SONUÇLAR.....	11
TARTIŞMA.....	19
ÖZET.....	25
SUMMARY.....	27
KAYNAKLAR.....	28

GİRİŞ

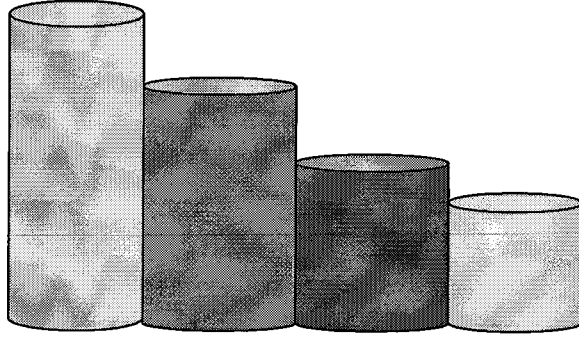
Yurdumuzda ve tüm dünyada en sık karşılaşılan ölüm nedenleri içinde, kalp ve damar hastalıklarının ardından çeşitli kanser türleri karşımıza çıkmaktadır.

Mide kanserleri, T.C. Sağlık Bakanlığı'nın 1995 verilerine göre, yurdumuzda tüm kanser ölümleri arasında *üçüncü* sırada yer almaktadır. *Mide kanserlerinde* dikkat çekici olan, son altmış yıl içinde, hastalığın görülme sıklığındaki belirgin düşüştür. Geçen yıllar içinde, mide kanserlerine bağlı ölüm sıklığı, Amerika Birleşik Devletleri'nde erkeklerde 100 000'de 28'den, 100 000'de 5'e kadar gerilemiş, kadınlarda ise 100 000'de 27'den, 100 000'de 2.3'e kadar düşmüştür. Tüm bu yüz güldüren gerilemeye rağmen, 1996 yılında, bu ülkede 22 800 yeni *mide kanseri* vakası teşhis edilmiş ve 14 000 kişi bu hastalık nedeniyle ölmüştür(1).

Japonya'da karşılaşılan tüm kanser vakalarının yarısını *mide kanserleri* oluşturmakta ve 100000'de 67 ölüm sıklığı ile dünyada ilk sırada gelmektedir. Türkiye'de ise *mide kanserleri* erkeklerde en sık ikinci, kadınlarda ise dördüncü kanser türüdür(2,3,4)(Şekil I ve II).



**ŞEKİL I. ÜLKEMİZDE EN SIK GÖRÜLEN KANSER TÜRLERİ
ERKEKLER (1994)**



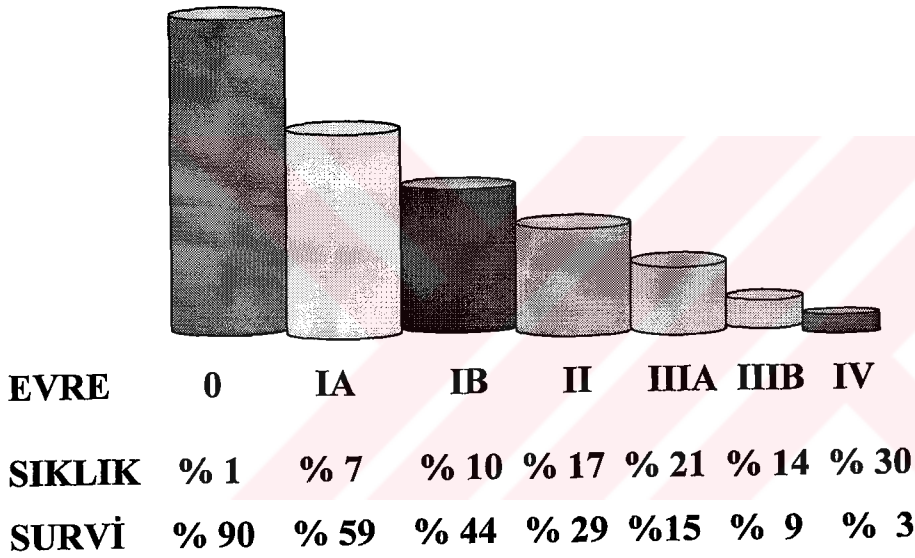
MEME RAHİM AKCİĞER MİDE
% 15 % 11 % 7 % 6
ŞEKİL II.ÜLKEMİZDE EN SIK GÖRÜLEN KANSER TÜRLERİ
KADINLAR (1994)

Mide neoplazmlarının çoğu malign tümörlerdir.Vakaların büyük çoğunluğunu % 95 ile adenokarsinomlar, geri kalan % 5'inin yarısını ise non-Hodgkin lenfomalar, diğer yarısını ise yassı hücreli karsinom, leiomyosarkom, karsinoid tümör ve adenoakantom gibi seyrek görülen maligniteler oluştururlar(5,6).

Mide adenokarsinomaları diffüz ve intestinal tipte olmak üzere kabaca, iki sınıfa ayrılabilirler. Diffüz tipte lezyonların sıklığı hemen hemen tüm popülasyonlarda benzer oranda iken, intestinal tipte olanlar ise yüksek riskli gruplarda daha sık karşımıza çıkmaktadırlar. Nitrattan zengin gıdaların uzun süreli alımı ve bunların *Helicobacter pylori* gibi bakteriler tarafından karsinojen nitritlere dönüştürülmesinin, gastrik adenomatöz poliplerin, özellikle pernisiyöz anemi ile birlikte görülen kronik atrofik gastritlerin ve subtotal gastrektomi sonrası gelişen hipoasiditenin *mide kanseri* için önemli risk faktörleri olduğu bilinmektedir. (7, 8, 9). Histamin antagonistlerinin yaygın ve uzun süreli kullanımına bağlı olarak gelişen iyatrojenik aklorhidrinin ise ileride intestinal tip kanserlerin sıklığında artışa neden olup olmayacağı ise şu aşamada tartışmaya açık gözükmemektedir.

Tıp alanındaki tüm gelişmelere ve erken tanı yöntemlerine rağmen, mide kanserleri karşımıza genellikle ilerlemiş olarak çıkmaktadırlar. Tanıda kullanılabilecek en basit yöntem ise çift kontrastlı bir baryum grafisi yapılmasıdır. Ancak konvansiyonel radyoloji ile vakaların % 15'inin atlanabildiği bildirilmiştir.(10,11) Ayrıca bazı habis lezyonları selim olanlardan ayırtetmek mümkün olamamaktadır. Bu nedenle tüm ülser vakalarında endoskopi ve biyopsi önerilmektedir. Evreyle ters orantılı olarak sağkalım kısalmaktadır (Şekil III).

KARŞILAŞILAN EVRE YÜZDESİ VE 5 YILLIK SAĞKALIM ORANLARI (ŞEKİL III)



Mide kanserlerinde makroskopik ve morfolojik sınıflama ilk kez 1926 yılında Borrmann tarafından yapılmıştır (12,13). Kabul gören histolojik sınıflama ise Broder sınıflamasıdır.

Tümör dokusunun ve komşu lenf bezlerinin cerrahi rezeksiyonu, şifa için tek şanstır. Maalesef ki hastaların ancak üçte birinden azı bu şansa sahiptir. Uygulanacak cerrahi teknik ise henüz tartışmalıdır. Cerrahi girişim sonrası hastalığın prognozunu etkileyen en önemli faktörler ise mide duvarında ki penetrasyonun derecesi, bölgesel lenf bezi tutulumu, damar

invazyonu, flow cytometry yöntemi ile hesaplanabilen anormal DNA içeriği (anöploidi) olarak kabul edilmektedir(14, 15, 16, 17, 18).

Mide kanserlerinde radyoterapi ise daha çok ağrı palyasyonu ile sınırlı kalmaktadır. Mide rezeksiyonlarından sonra kür oranlarının % 5 ile %30 arasında verilmesi, adjuvan kemoterapi uygulamasını gündeme getirmiştir(19, 20, 21, 22, 23). Bu uygulamasının amacı, bölgesel nüksleri ve uzak metastazları engellemek veya geciktirmektir. Küratif cerrahi uygulanan vakalarda 1950'den beri tek ajanlı ve kombine kemoterapi rejimleri uygulanmış ancak tedavi almayan grupla sağkalım açısından önemli bir fark görülmemiştir(24,25). Tüm bu bulguların ışığında, adjuvan kemoterapi, küratif cerrahi uygulanan vakalarda, standart tedavi olarak henüz kabul görmemiştir.

Metastatik hastalıkta uygulanan kemoterapi şemalarında ise bilgi adjuvan kemoterapi rejimlerine göre daha netleşmiştir.Kombine kemoterapi rejimleri ile % 20 ile % 50 arasında cevap, 4-11 ay arası median sağkalım süreleri elde edilmiştir(26). Ancak bugün, diğerlerine üstünlüğü kabul edilmiş olan belirli bir kemoterapi rejimi yoktur.

Her türlü hücrenin çoğalması ve hayatını devam ettirebilmesi için ilk şart, yeterli büyüme faktörü bulunması ve toksik maddelerin hücre ortamından uzaklaşmasıdır.Tümör boyutlarının her yönde 2 mm'in üzerine çıkabilmesi için yeterli miktarda damarlanmanın oluşması gerekmektedir.Bu olaya *anjiogenezis* denmektedir. *Anjiogenezis* süreci yaklaşık olarak beş dekaddan beri araştırmacıların ilgisini çeken bir olay olmuştur. Coman ve Sheldon sıçanlara sinjeneik sarkom hücreleri transplante etmiş ve tümör dokusu etrafındaki hiperemi ve damarlanmaya dikkat çekmişlerdir(27). 1966'da Warren ve Shubik, hamsterlere transplante ettikleri insan melanomları etrafındaki yeni damarlanmanın şekil ve yapısını incelemişlerdir. Bu bölgede iki tür damarlanma görülmüştür. Birinci tip tümörün tamamıyla çevresini besleyen ve tümörün hızlı büyümesi halinde tümör dokusunun santral nekrozunu

engelleyemeyen, ikinci tip tümör dokusunun merkezine doğru ilerleyen damarlanmadır(28). Liotta ark. ise sıçanlara sinjenik sarkomlar transplante etmiş ve tümör dokusu etrafında oluşan küçük damarları beş gün sonra göstermişlerdir. Venöz akımda sarkom hücreleri ancak neovaskülarizasyon sürecinin tamamlanmasından sonra saptanabilmiştir. İlginç olan, perfüzyonu sağlayan yeni damarların çapı ve tümörden çevreye yayılan tümör hücre ve kümelerinin miktarı arasında direkt korelasyon saptanmasıdır (29). Folkman ve Tyler ise ancak vaskülarize tümörlerin metastaz yapabileceğini belirtmiştir(30). Tüm bu çalışmalar *tümör neovaskülarizasyonunun, tümör yayılımının öncüsü* olduğunu düşündürmüştür. Anjiogenezisin başlaması konak ve tümör hücresi tarafından salınan çok sayıda mediatörler tarafından etkilenmektedir. *FGF*(fibroblast büyüme faktörü), *VEGF*(vasküler endotelial büyüme faktörü), *VPF*(vasküler permeabilite faktörü), *IL-8*(interlökin 8), *angiogenin*, *angiotropin*, *EGF*(epidermal büyüme faktörü), *fibrin*, *nikotinamid*, *PD-ECGF*(trombosit endotelial büyüme faktörü), *TGF-alfa* (transforme edici büyüme faktörü), *TGF-beta*, *TNF-alfa* (tümör nekrozis faktörü) bunlardan başta gelenlerdir.

Anjiogenezisin derecesi onu inhibe eden ve indükleyen faktörler arasındaki dengeye bağlıdır. Normal dokularda inhibitör etki ön plandadır. Buna karşılık çoğu neoplastik dokuda inhibitör ortamın stimüle edici bir forma kayması söz konusudur(31,32,33). Çeşitli çalışmalarda onkogenlerin tümör gelişimine, büyüme faktörleri ve anjiogenik faktörleri aktive ederek katkıda bulundukları görülmüştür. Tümör vaskülarizasyonunda ki artış, sistemik dolaşıma giriş ve sonuç olarak metastaz riskini de arttırmaktadır(34). Meme kanseri hücrelerinin sadece endotel yüzeyinde bulunan bir protein olan Faktör VIII ile immunhistokimyasal boyanması sonucu, Weidner ve arkadaşları mikrodamar yoğunluğunu saptamayı becermişlerdir(35,36). Daha sonra çeşitli kanser türlerinde yapılan çalışmalarda, tümör damarlanması ile prognoz arasında ki bağımsız ilişkiye dikkat

çekilmiştir(37,38,39,40,41,42). Son yıllarda *anjiogenezis* inhibe edici faktörlerin kemoterapi şemaları içinde sıklıkla yer almaya başlaması, bu konuya verilen önemin bir başka kanıtı olsa gerekir.

İnsan organizmasında bir organın sahip olduğu hücre sayısı ciddi bir kontrol altındadır. Ancak spesifik genetik lezyonlar hücre siklusunda anormal progresyona neden olarak, anormal hücre proliferasyonu ve genetik stabilite kaybında etken olmaktadır. Tümör dokusunda hücre sayısını etkileyen bir diğer önemli belirleyici ise hücre ölümüdür. Bu hücre ölümünün çoğunluğu ise programlı hücre ölümü '*apoptozis*' ile olmaktadır. *Apoptozis* çeşitli hücresel genlerin kontrolü altındadır. Bu genler tümör gelişim ve yayılımı, tümörün kemoterapiye rezistansı üzerinde önemli bir role sahiptir. Bundan dolayı hücresel ölümü kontrol eden mekanizmalar kemoterapötik ajanların önemli bir hedefi olmalıdır.

myc, *fos*, E2F gibi onkogenlerin hücrede ortak etkisi, siklustaki hızlı progresyon ve buna normal hücrenin cevabı *apoptozistir*. Diğer bir deyişle bu mekanizma sayesinde aktive protoonkogenlerden etkilenmiş hücrelere karşı mücadele edilmesi söz konusu olmaktadır.

IL-3 gibi büyüme faktörleri (44), hormonlar(45) veya *ras*(46), *raf*(47), *bcr-abl*(48) gibi mutasyona uğramış kuvvetli onkogenlerin varlığında normalde ölmesi gereken hücre, *apoptozisin* supresyonu sonucu, yaşar.

Apoptozis ile ilgili önemli genlerden bir tanesi de *bcl-2*' dir. Folliküler lenfomalarda *bcl-2* genini, immunglobulinlerin hafif zincirinin transkripsiyonel kontrolü altına koyan, bir t (14;18) translokasyonu söz konusudur(49). Transjenik hayvanlarda, lenfoid hücrelerdeki *bcl-2*'nin artmış ekspresyonu, hücrelerin yaşam süresini arttırmakta, sellüler proliferasyonu ise etkilememekte bu da bu genin tümör progresyonundaki etkisinin ön planda hücre viabilitesini arttırarak olduğuna işaret etmektedir. Birçok çalışmada *bcl-2*'nin, hücrede radyoterapi, kemoterapi, ısı uygulanması, steroid kullanılması gibi nedenlerle gerçekleşmesi beklenen

apoptozisi bloke ettiği saptanmıştır(50). bcl-2, yüksek p 53(tümör supressor gen) eşliğinde dahi etkili olabilmektedir.

Tüm bu literatür verilerinden de anlaşılabileceği gibi, *anjiogenezis* ve *apoptozis* zellikle son yirmi yıl içinde, tümör progresyonu ve metastazlarında, ilgi ile araştırılan bir konu olmuştur.

Toplumumuzda ilk defa, aynı kemoterapi rejimini almış, ileri evre mide adenokanserlerinde *anjiogenezis* ve *apoptozisin* araştırılması, bunların sağkalım ve tedaviye cevap ile ilişkilerinin ortaya konulması, bu çalışmaya temel oluşturan ana fikirler olmuşlardır.



HASTALAR VE YÖNTEM

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Onkoloji Poliklinik ve Servisi'nde 1996-1999 tarihleri arasında izlenmiş ve D1-3 5-Fluouracil 375 mg/m², Leucovorin 20 mg/m², İnterferon alfa 2 b 3 M.Ü s.c (ve ikinci kemoterapiye kadar haftada üç defa 3 M.Ü s.c), D3 Cisplatin 50 mg/m²' den oluşan *aynı kemoterapi* rejimi uygulanmış 29 mide kanseri olgusu araştırmaya alınarak retrospektif olarak incelendi. Her hastayla ilgili olarak yaş, cins, kemoterapi başlama tarihi, tümör lokalizasyonu, tümör histolojisi, evre, metastaz yeri belirlendi. Düzenli hasta takibi ile hastaların kemoterapiye verdiği cevap, son geliş tarihleri, son durumları, sağkalım süreleri hesaplandı. Bu hastaların endoskopi veya operasyon sırasında elde edilmiş biopsi materyallerinde ise *vascular endothelial growth factor (VEGF)*, *bcl-2 düzeyi* ve *damar sayısı* saptandı.

Her tedavi öncesi hastaların fizik muayenesi, tam kan sayımı ve tam kan biokimyası tekrar edildi. Üçüncü ve altıncı kemoterapi dozlarından sonra hastalar, ölçülebilir lezyonların yerine göre bilgisayarlı karın tomografisi, akciğer grafisi veya gerekiyorsa bilgisayarlı akciğer tomografisi çekilerek değerlendirildiler.

Metastatik zeminde kemoterapi uygulanmış hastalarda, metastazların tamamen kaybolması tam cevap, ölçülebilen lezyonların toplamında % 50 veya daha fazla gerilemesi kısmi cevap olarak değerlendirildi. Adjuvan amaçlı kemoterapi uygulanmış grupta ise, postoperatif cevap değerlendirilebilecek lezyon kalmadığı için sadece sağkalım süresi hesaplamalara katıldı.

Preparatların hazırlanmasında, parafin bloklarından 5 mikronluk kesitler alınarak bir gece boyunca 37 C'lik etüvde bekletildi ve bu sayede deparafinize olan bloklara citrate buffer ile antijen retrieval uygulanarak immunhistokimyaya hazır hale getirildi.

LAB VİSİON kit ve NEO-MARKERS antikorlar kullanılarak immunhistokimya uygulandı. Bunun için deparafinize edilen lamlar %3'lük H₂O₂'de 10-15 dakika bekletildi. Phosphate buffer saline(PBS) ile iki yıkama yapıldı ve citrate buffer ile antijen retrieval uygulandı. Microwave'de 5 dakika oda ısısında bekletildi, PBS ile tekrar yıkandıktan sonra primer antikorlar *VEGF*, *bcl-2*, *CD 31* 30-60 dakika süresince uygulandı.

Antikor uygulaması sonrası PBS ile lamlar dört defa daha yıkanıp, Brotynlated goat anti-mouse ile on dakika oda ısısında inkübe edildi. PBS ile tekrar edilen dört yıkama sonrası streptavidin peroxidase ile on dakika oda ısısında bekletildi ve tekrar dört defa PBS ile yıkandı. Bu işlemler sonrasında kromojen olarak AEC beş ila yirmi dakika ve karşıt boya olarak Mayer hematoksilen kullanıldı. Gliserin jel ile kapatılan preparatlar incelemeye hazır hale getirildiler.

İmmunhistokimya sonrası preparatların hepsi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda, hastaların klinik durumu hakkında herhangi bir bilgisi olmayan, tek bir patolog tarafından incelendi. Tümör hücrelerinde *bcl-2* ve *VEGF* ile sitoplazmik reaksiyon veren hücrelerin oranı kaydedildi. Yine bir endotel markeri olan *CD 31* ile reaksiyon veren damar grupları sayılarak değerlendirildi ancak tümör etrafındaki damarlanmalar hesaplamalara katılmadı. Tümör stroması içinde pozitif reaksiyon veren endotel hücrelerinden oluşan gruplar büyük büyütmede 4 mm² başına sayıldı ve ortalamaları alındı.

Çalışmadan elde edilen tüm veriler Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Bioistatistik Anabilim Dalı'nda değerlendirmeye alındı. Veri analizleri SPSS programı kullanılarak yapıldı ve bağımsız gruplar arasındaki karşılaştırmalar t-testi, farklı değişkenler arasındaki korelasyonlar

ise Spearman korelasyon katsayıları kullanılarak hesaplandı. Sayısal olmayan değerler arasındaki karşılaştırmalar ise ki kare testi ile yapıldı. Sağkalım eğrileri Kaplan-Meier metodu ile çizildi ve gruplar arasındaki karşılaştırma log rank yöntemi ile yapıldı. Sağkalıma çeşitli değişkenlerin etkisi ise Cox proportional hazards yöntemi ile belirlendi.



SONUÇLAR

1996-1999 tarihleri arasında Cerrahpaşa İç Hastalıkları Anabilim Dalı Medikal Onkoloji polikliniğine mide adenokanseri tanısıyla başvuran 29 hasta araştırmaya alındı. 24 hastalık metastatik grupta (*Grup I*), hastaların hepsi evre IV, küratif cerrahi sonrası başvuran, beş hastalık adjuvan kemoterapi grubunda (*Grup II*) ise hastaların biri evre I, ikisi evre II, ikisi evre III olarak belirlendi. Metastatik grupta yaşları 25 ve 76 arasında değişen (ortalama $55 \pm SD 14$) 17 erkek ve 7 bayan, adjuvan grupta ise yaşları 32 ve 62 arasında değişen (ortalama $47 \pm SD 11$) 3 erkek ve 2 bayan hasta bulunmaktaydı (Tablo I).

	VAKA SAYISI	CİNSİYET	ORTALAMA YAŞ $\pm$	SD
GRUP I	24	17 E, 7 K	55 $\pm$	14
GRUP II	5	3E, 2 K	47 $\pm$	11

TABLO I: Gruplarda cinsiyet ve yaş dağılımı

24 hastalık metastatik grupta (*Grup I*) 14 hastanın lenf bezi, 9 hastanın periton, 12 hastanın karaciğer, 2 hastanın akciğer, 1 hastanın kemik, 2 hastanın sürrenal metastazı bulunmaktaydı. 24 hastadan 16'sının (%67) multiple metastazları mevcuttu (Tablo II).

METASTAZ GERÇEKLEŞEN BÖLGE SAYISI			
	I	II	III
GRUP I	8(%33)	13(%54)	3(%13)

TABLO II: Grup I' de metastaz dağılımı

Her iki grup beraber ele alındığında mide tümörlerinin 15 hastada antrumda, 7 hastada kardiada, 7 hastada ise diffüz olduğu belirlendi(Tablo III).

LOKALİZASYON			
	ANTRUM	KARDİA	DİFFÜZ
GRUP I	10 (% 40)	7 (% 30)	7 (% 30)
GRUP II	5(%100)	-	-
TOPLAM	15 (% 52)	7 (% 24)	7 (% 24)

TABLO III: Gruplarda tümör lokalizasyonları

Hastaların tümör differansiyasyonu ise Broder sınıflamasına göre iyi, orta, kötü ve indifferansiye olmak üzere ayrıldı. Gruplara göre ve toplamdaki dağılım şöyle gerçekleşti(Tablo IV).

TÜMÖR HİSTOLOJİSİ			
	İYİ	ORTA	KÖTÜ DİFFERANSİYE
GRUP I	2 (% 8)	7 (% 30)	15 (% 62)
GRUP II	1(%20)	2 (% 40)	2 (% 40)
TOPLAM	3(% 10)	9 (% 31)	17 (% 59)

TABLO IV: Gruplarda tümör histolojisi dağılımı

Alfa-interferon, cisplatin, 5-fluouracil ve folinik asitten oluşan kemoterapi protokolü uygulanan metastatik hastalarda elde edilen cevap komple ve parsiyel cevap olarak değerlendirildi. Cevapsız hastalar ise stasyonere ve progresyon gösterenler olarak gruplandı. Küratif cerrahi operasyonu geçiren ve adjuvan tedavi alan grup ise takip lezyonu kalmadığı için bu değerlendirmeye alınmadı (Tablo V).

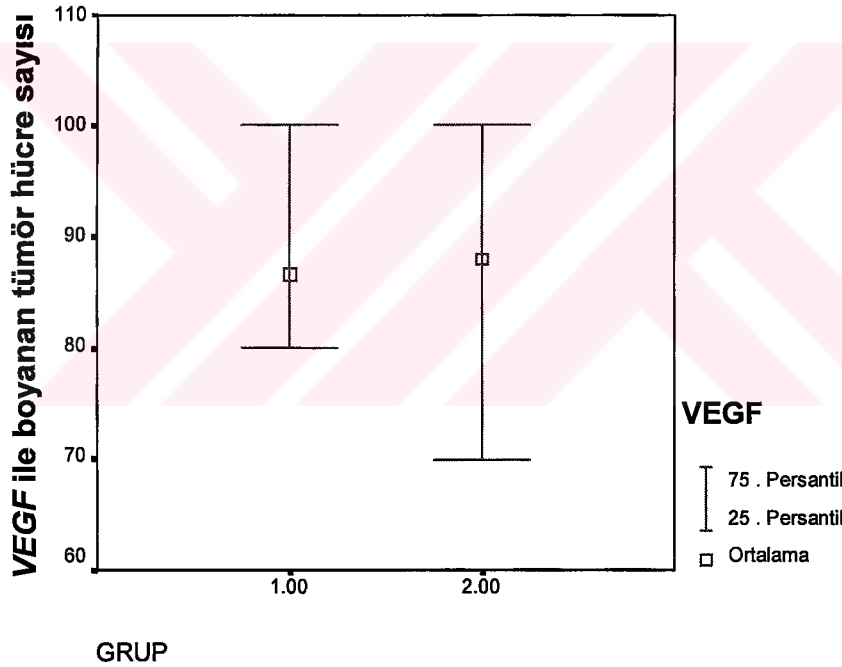
CEVAPLI 3(%12,5)		CEVAPSIZ 21(%87,5)	
TAM CEVAP	KİSMİ CEVAP	STASYONER	PROGRESSİF
GRUP I	1(%4,2)	2(%8,3)	6(%25)
TOPLAM	1(%4,2)	2(%8,3)	6(%25)

TABLO V: Metastatik grupta kth/cevap dağılımı

Metastatik grupta(Grup I) ortalama takip süresi 344 gün(median 284 gün), adjuvan grupta ise (Grup II) ortalama 602 gün olarak gerçekleşti. 30/11/1999 tarihi itibariyle hastaların son durumları şu şekilde belirlendi (Tablo VI).

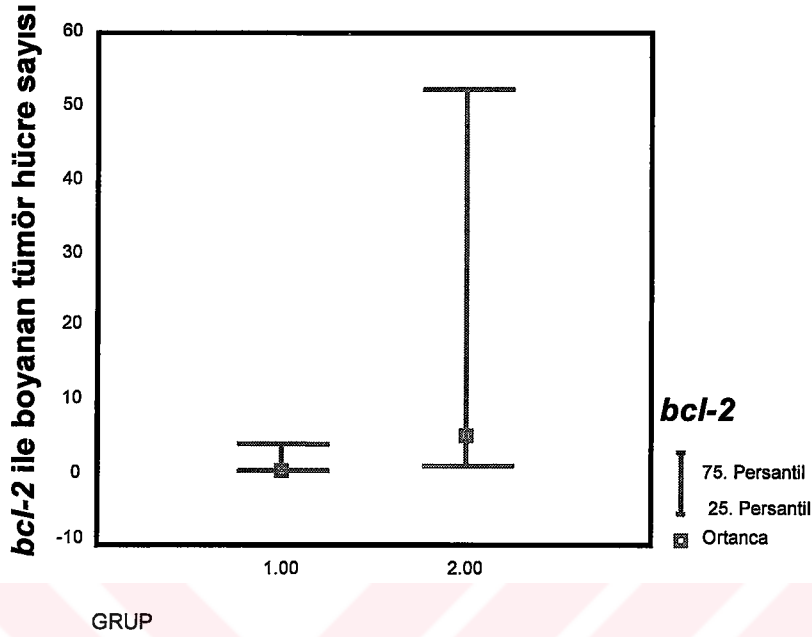
	ÖLÜM	HASTALIKLI SAĞ	HASTALIKSIZ SAĞ
GRUP I	20 (% 84)	4 (% 16)	-
GRUP II	1 (%20)	-	4 (%80)
TOPLAM	21 (%72)	4 (% 14)	4(% 14)

TABLO IX: Tüm gruplarda 30/11/1999 tarihi itibariyle sürvi



Şekil IV: Grup I ve II' de VEGF ile boyanan tümör hücresi sayısı ortalamaları ve güvenilirlik aralıkları

Her iki grupta VEGF tutan hücrelerin sayısı karşılaştırıldığında, metastatik grupta (*Grup I*) ortalama 86 ± 23 SD, adjuvan tedavi grubunda (*Grup II*) ise 88 ± 21 SD hücrede boyanma olduğu saptandı. Uygulanan t-test sonuçlarına göre anlamlı istatistiksel fark bulunmadı. ($p=0,827$) (Şekil IV)



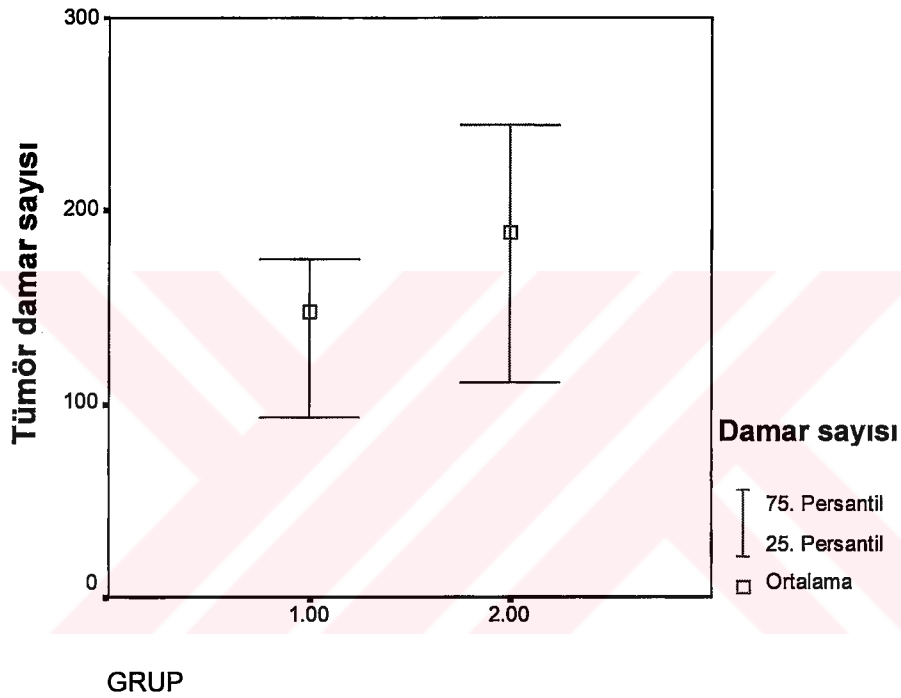
Şekil V: Grup I ve II' de *bcl-2* ile boyanan tümör hücrelerinin ortanca değerleri ve güvenilirlik aralıkları

Her iki grupta, toplam 29 hastanın 9' unda (% 31) *bcl-2* pozitifliği saptandı. Gruplar arasında t-test ile anlamlı istatistiksel farklılık görülmedi ($p = 0,806$). Spearman korelasyonunun da ise başvuru evresinin artmasıyla birlikte *bcl-2* ile boyanan hücre sayısında anlamlı düşüş olduğu görüldü ($rs = -0,4280$; $0,01 < p < 0,05$)

Spearman korelasyonlarına göre, tümör lokalizasyonuna göre sınıflama yapıldığında, antrum tümörleri en iyi, linitis plastica şeklinde yaygın tutulum yapan tümörler ise en kötü prognoza sahiptiler ($rs = -0,373$; $0,01 < p < 0,05$). Yine ileri evre ile başvuran hastalarda, anlamlı olarak, diffüz tutulumu daha sık rastlanırken, daha erken evrelerde başvuranlarda ise antrum lokalizasyonu daha sık görülmekteydi ($rs = 0,3840$; $0,01 < p < 0,05$).

Hastaların başvuru evreleri ne kadar ileriye sağkalımın ters orantılı olarak etkilendiği görüldü ($rs = -0,5540$; $p < 0,01$). Metastatik grupta, kemoterapiye verilen cevap ne kadar kötüyse, sağkalım anlamlı olarak kısa olmaktaydı ($rs = -0,4578$; $0,01 < p < 0,05$).

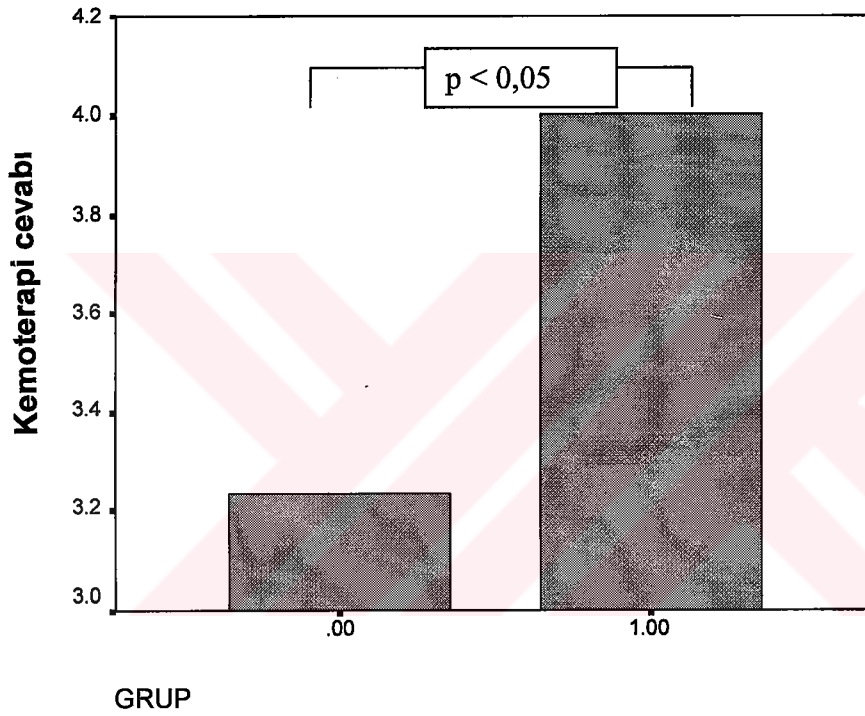
Metastatik grupta (*Grup I*) *VEGF* tutan tümör hücresi sayısı ne kadar fazlaysa, metastaz gerçekleşen bölge sayısı düz orantılı olarak artmaktaydı ($r_s = 0,4666$; $0,01 < p < 0,05$). Metastaz yaygınlığı ne kadar ileriye, sağkalım ters orantılı olarak azalma gösteriyordu ($r_s = - 0,4402$; $0,01 < p < 0,05$).



Şekil VI: Grup I ve II' de tümör damar sayılarının ortalama değerleri ve güvenilirlik aralıkları

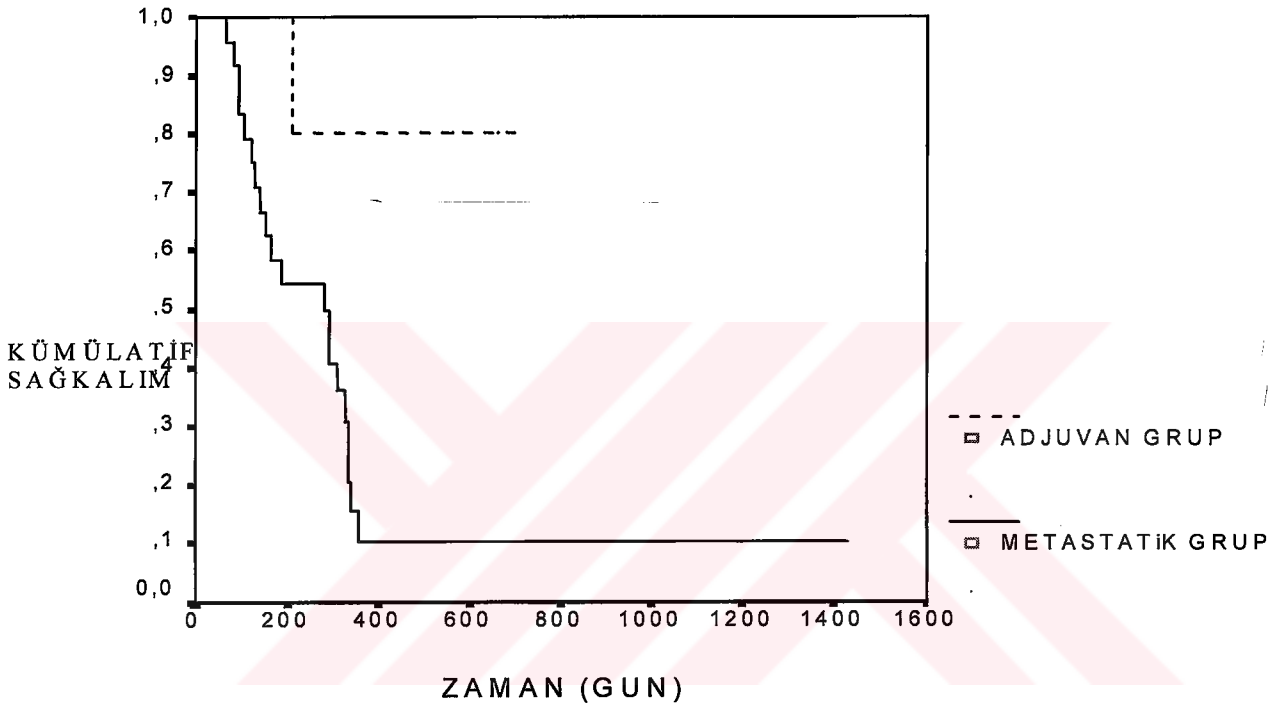
Gruplarda tümör damar sayısına bakıldığında, *Grup I* de ortalama 147 ± 82 SD, *Grup II* de ise 188 ± 74 SD damar görüldü. Gruplar arasında t-test ile anlamlı istatistiksel fark saptanmadı ($p = 0,986$). Cox proportional hazards yöntemi ile bakılan çeşitli değişkenler ve sağkalım arasındaki korelasyonlarda ise, tümör damarlanması en önemli, bağımsız prognostik kriter olarak belirlendi ($p < 0,03$).

29 hastalık bütün çalışma grubunda tümör damar sayısı ortalaması 155 / 4 mm² olarak bulundu. Bu sayının üzerinde damar içeren olguların (Grup I'), bu sayının altında damarlanmaya sahip olgulara (Grup 0) göre, kemoterapiye istatistiksel olarak anlamlı kötü cevap verdikleri gözlemlendi ($r_s = - 0,4951$; $0,01 < p < 0,05$) (Şekil VII).



Şekil VII: Grup 0 (hipovasküler grup) ve Grup I' 'in (hipervasküler grup) kemoterapiye verdikleri cevapların karşılaştırılması
(➡Vertikal aksta artış kötüleşen kemoterapi cevabını göstermektedir)

Gruplarda saptanan sağkalım eğrileri ise Kaplan Meier metodu ile çizilmiştir. (Şekil VIII).



Şekil VIII: Metastatik grupta (GrupI) ve adjuvan tedavi grubunda (Grup II) sağ kalım eğrileri görülmektedir.

TARTIŞMA

Mide tümörlerinin görülme yaşı sıklıkla dördüncü dekad olarak bildirilmesine rağmen, artan yaşla beraber mide tümörlerinin insidansında belirgin bir artış olmakta ve sıklıkla yedinci dekadda zirvesine ulaşmaktadır. Tanı konulan ortalama yaşı 55-60 olduğu ve erkeklerde kadınlara göre kabaca iki kat daha fazla görüldüğü bildirilmektedir (51,52).

Dupont ve arkadaşlarının 1497 mide adenokarsinomunu tarayarak oluşturdukları seride median yaş 65 olarak verilmekte ve en genç hastanın yaşı 20 ve en yaşlı hastanın yaşı 99 olarak bildirilmektedir. Kadın erkek oranının ise 2,3/1 olduğu vurgulanmaktadır (53). Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Bölümü'nde yapılan bir çalışmada, Tuncer yaş ortalamasını 58 bulduğunu ve kadın erkek oranının 2,3/1 olduğunu bildirmektedir(54).

Çalışma grubumuzda 29 hastanın yaş ortalaması 54 olarak bulunmuştur ve yabancı kaynaklarla uyumlu bir veri olarak göze çarpmaktadır. Erkek ve kadın oranı da bu yayınlarla uyumlu olarak, 2,23 / 1 olarak bulunmuştur.

Anatomik lokalizasyon dağılımına bakıldığında ise antrum ve pilor bölgesinden kaynaklanan tümörlerin tüm vakaların % 50'sini oluşturduğu saptanmıştır. Kardia tutulumu % 25, linitis plastika tarzında diffüz tutulum ise vakaların geri kalan % 25'inde görülmüştür. Çalışmada karşılaşılan önemli bir veri, başvuru evresinin artmasıyla birlikte kardial bölgenin ve diffüz tutulumun anlamlı olarak ($0,01 < p < 0,05$) artmasıdır. Tüm evreler ele alınarak yapılan geniş çaplı çalışmalarda en sık antral bölge tutulumundan bahsedilirken, kardial kaynaklı tümörlerin sıklığı % 10 civarında bildirilmektedir (51,52). Bazı dış literatürlerde ise özellikle son onbeş yıl içinde özefagogastrik bileşke tümörlerinin sıklığındaki artıştan söz edilmektedir (55, 60).

Chadli ve arkadaşlarının 583 mide kanseri vakası ile yaptıkları çalışmada antral tutulum % 68, diffüz tutulum % 10, kardial tutulumu ise %22 oranında bildirilmektedir (56, 57). Çalışmamızda diffüz tutulum ve kardial tutulumunun literatür verilerine göre daha yüksek bulunmasının, hastaların çok büyük bölümünün lokal ilerlemiş ve metastatik evrelerden seçilmiş olmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

29 hastalık çalışma grubumuzda elde edilen bir diğer anlamlı veri, antral kaynaklı tümörlerle, kardial kaynaklı ve diffüz tutulum yapan tümörler karşılaştırıldığında, diffüz tutulumun sağkalım süresini olumsuz olarak etkilediği yolunda olmuştur ($0,01 < p < 0,05$). Bu bilgi de mide adenokanserleri ile ilgili yapılan çalışmalarla uyumlu olarak değerlendirilmiştir (61).

Mide tümörlerinin histopatolojik sınıflamalarında çeşitli öneriler bulunmaktadır. Lauren sistemi intestinal ve diffüz tip ayırımı yapmakta, WHO papiller, müsinöz, tübüler ve taşlı yüzük hücreli tipler arasında sınıflama önermektedir (58). Broder'in önerdiği histolojik sınıflamayı ön plana alan tiplene sağkalım üzerine en etkili sınıflama olarak kabul edilmektedir (59). Bizim de çalışmamızda diferansiyasyon ön plana alınmış ve tümörler iyi, kötü, orta, nöroendokrin diferansiyasyon gösterenler olarak gruplanmıştır. Vakalarımızın çoğunu kötü (% 59) ve orta (% 31) diferansiye karsinomlar oluşturmuş ve tümör histolojisi ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. Literatürde verilen genel bilgi ise mide adenokanserlerinde diferansiyasyon derecesinin önemli bir parametre olduğu şeklindedir (62).

Moertel ve arkadaşlarının Mayo Klinik'te metastatik mide kanseri olan olgularda yaptıkları bir çalışmada kötü diferansiye tümörlü hastalarda ortalama sağkalım 4 ay, iyi diferansiye tümörlü hastalarda ise 7 ay olarak bildirilmiş ve bu fark anlamlı olarak bulunmuştur. Çalışma

grubunda histoloji ve sağkalım arasında anlamlı korelasyon saptanamamasının en başta gelen nedeni olarak vaka sayısının sınırlılığını düşünmekteyiz.

Takip lezyonları olan metastatik grupta, 5-fluouracil, cisplatin, folinik asit ve alfa-interferondan oluşan kemoterapiye verilen cevap değerlendirildiğinde, vakaların %12,5'u cevaplı ve %87,5'u cevapsız olarak değerlendirilmiştir.

Onkolojide; tüm malignitelerde olduğu gibi hastaların başvuru evrelerinin ileri olması, kemoterapiye verilen cevabın kötü olması, bizim çalışma grubumuzda da sağkalım üzerinde anlamlı olarak kısaltmaya neden olmuştur ($p < 0,01$).

Metastatik grupta prognozu etkileyen en önemli faktörlerden bir tanesi olarak, metastaz gerçekleşen bölgelerin yaygınlığı bulunmuştur. Metastaz gerçekleşen bölge sayısı arttıkça sağkalım anlamlı olarak azalmıştır. ($p < 0,05$)

Mide adenokarsinomlarında tümör anjiogenezisinin önemini ortaya koyan bir diğer önemli sonuç, metastazların yaygınlığı ile tümör dokularındaki *VEGF* yoğunluğunun düz orantılı ve anlamlı bir ilişki içinde bulunması olmuştur. 24 hastalık metastatik grupta (*Grup I*), *VEGF* yoğunluğunun artmasıyla bağlantılı olarak, metastaz gerçekleşen bölge sayısı da artmıştır ($r_s = 0,4666$; $0,01 < p < 0,05$).

Çalışmamızda *VEGF* ve tümör damarlanması arasında ise anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. Bugüne kadar, özellikle Japon bilimadamları tarafından yürütülmüş olan, yüksek hasta sayılı serilerde ise; *VEGF* ve tümör vaskülarizasyonu ve sağkalım arasındaki sıkı ilişkiye dikkat çekilmiş ve *VEGF* önemli ve bağımsız bir prognostik belirteç olarak kabul edilmiştir.

Saito ve arkadaşları, 101 ileri evre mide adenokanserli hastada tümör dokusunda *VEGF* düzeyinin artmasıyla paralel olarak tümör damarlanmasının arttığını göstermiş ancak *VEGF*'in sağkalım üzerindeki etkisini kanıtlayamamıştır (64).

Aynı grup, daha sonra yaptığı bir araştırmada ise *VEGF* ve bir tümör supressor gen olan p 53'ün, tümör dokusunda düz orantılı olarak arttığına ve p 53'ün kötü prognostik kriter olduğuna işaret etmiştir(65).

Saito ve ark. daha sonra, küratif rezeksiyon geçirmiş mide adenokanseri vakalarında, *VEGF*, *tümör damarlanması* ve hematojen metastaz arasındaki ilişkiyi araştırmış, sonuç olarak *VEGF* ve *tümör damarlanması* arasındaki düz orantılı ilişkiye dikkat çekmiştir. Yine bu çalışmada *VEGF* bağımsız prognostik faktör olarak saptanmış ve hematojen uzak metastazlarla arasındaki korelasyon gösterilmiştir (70).

Maeda ve ark. 129 hastalık bir grupta, *VEGF*'in prognostik değerini araştırmış, *VEGF* düzeyi yüksek olgularda metastazların yaygın olduğunu, *tümör damarlanmasının* arttığını, sağkalımın ise anlamlı olarak kısaldığını saptamıştır (67).

İkeguchi ve ark., Takahashi ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda da, *VEGF* ve *tümör damarlanması* arasında ki ilişki saptanmış, ancak her iki çalışmada da *VEGF* ile sağkalım arasında anlamlı korelasyon görülmemiştir (68,71).

Tanigawa ve ark.'nın çalışmasında ise 163 mide kanseri olgusu ele alınmış, *VEGF* ve *tümör vaskülaritesi* düz orantılı bulunmuş, vaskülarite en önemli prognostik faktör olarak belirtilmiş, tümör *VEGF* düzeyinin ise sağkalımı etkilemediği belirlenmiştir (73).

29 hastalık çalışma grubumuzda, CD 31 düzeyi ile belirlenen *tümör mikrodamarlanması*, en önemli prognostik, bağımsız kriter olarak saptanmıştır ($p<0,03$). Bir diğer önemli veri, hipervasküler tümörlerin hipovasküler olanlarla karşılaştırıldığında, antianjiogenik ajan içeren kemoterapi rejimine, anlamlı olarak daha kötü cevap verdiği olmuştur ($p<0,05$).

Yukarıdaki çalışmaların büyük bölümünde *tümör damarlanması* ve *VEGF* düzeyleri arasında saptanan ilişki, çalışmamızda görülmemiştir. Bunun en önemli sebebi hasta sayısının kısıtlı olması olabilir.

Yine çalışma grubunda saptanan önemli bir özellik, hastaların tümünde *VEGF* ekspresyonunun saptanması olmuştur. Halbuki yurtdışında yapılan çalışmalarda, tüm evreler dikkate alındığında bu oran % 50 ile % 70 arasında değişmektedir. Bu derece yüksek *VEGF* ekspresyonu, toplumumuza özel olabilmesi açısından araştırmaya değer bir bulgudur. Bu nedenle araştırmanın yeni hastalar katılarak genişletilmesine karar verilmiştir. Hasta grubumuzda yüksek oranda, kuvvetli pozitif bulunan *VEGF* düzeyi, sağkalım üzerinde anlamlı etki göstermemiştir.

Tümör damarlanmasının, mide kanserlerinde, önemli bir prognostik faktör olması ise daha önce bir çok çalışmada kanıtlanmış bir gerçektir (66,73).

bcl-2 ise antiapoptotik etkisi ile ön plana çıkan ve tümör gelişiminde önemli katkısı olduğu düşünülen bir proteindir. İlk olarak diffüz folliküler lenfomalarla olan ilişkisi araştırılmış ve daha sonra bir çok kanser türü ile ilişkisi irdelenmiştir.

Çalışma grubumuzda *bcl-2* ekspresyonu % 35 oranında saptanmış ve erken evrede başvuran hastalarda anlamlı olarak daha yüksek düzeylerde saptandığı görülmüştür ($0,01 < p < 0,05$). *bcl-2* proteininin tümör histolojisi, lokalizasyon, kemoterapiye verilen cevap, sağkalım üzerinde ise anlamlı etkisi saptanmamıştır.

bcl-2 ekspresyonu ve mide adenokarsinomları arasındaki ilişkiyi araştıran en geniş çalışma, Müller ve ark. tarafından 413 kütatif rezeksiyon geçirmiş vaka üzerinde yürütülmüştür. Vakaların % 11,4' ünde *bcl-2* pozitifliği saptanmış, anlamlı olarak intestinal tip ve iyi diferansiye adenokanserlerde daha sık görülmüş ama sağkalım üzerine etkisi gösterilememiştir (74).

Aizowa ve ark. 221, İnada ve ark. ise 84 ileri evre mide adenokanseri olgusunda, *bcl-2*' nin düşük apoptotik indeks ile ilişkili olduğunu ve sağkalımı olumlu etkilediğini bulmuşlardır (75, 77).

Nakata ve ark. 23 hastalık çalışmada, operasyon sonrası 5-Fluouracil ve cisplatin alanlar arasında, *bax* ve *bcl-2* pozitif olanların kemoterapiye daha kötü cevap verdiğini savunmuştur (76).

Lauwers ve ark. 64 hastalık gruplarında % 72 oranında *bcl-2* pozitifliği saptamış, intestinal tipte daha sık olduğunu ancak sağkalımla ilişkisi olmadığını göstermişlerdir(78).

Yukarıda verilen tüm örneklerden anlaşılabileceği gibi, *tümör anjiogenezis* ve *bcl-2* ekspresyonu, özellikle son on yılda, tüm kanser türlerinde ilgi çeken ve yoğun araştırılan ancak tartışma konularının sık olduğu bir bölüm olmuştur.

Bugüne kadar yapılan araştırmalar içinde, ileri evre mide adenokanseri olan olgularda, antianjiogenetik ajan içeren, aynı kemoterapi rejimini almış, benzer özellikler taşıyan bir hasta grubunda, ilk defa *anjiogenezis*, *VEGF*, *bcl-2* ekspresyonunu birarada araştırmış bulunmaktayız. En önemli prognostik kriter olarak tümör vaskülarizasyonunu saptamamız dışında, *VEGF*'nin diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında, toplumumuzdaki yüksek ekspresyonunu ve metastaz yaygınlığı ile direkt ilişkisini göstermiş bulunmaktayız.

Farklı yöresel özellikler ve toplumsal farklılıkları ile dikkat çeken mide adenokanseri olgularında, çalışmamızı genişleterek devam ettirmek en büyük amacımız olacaktır.

ÖZET

Bu çalışmada Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Medikal Onkoloji Bilim Dalı Servis ve Polikliniğinde, takip ve tedavi edilmiş, 24' ü uzak metastazlı, 5'i küratif cerrahi sonrası başvurmuş ve 5-fluouracil, cisplatin, leucovorin, alfa-interferondan oluşan aynı kemoterapi rejimi uygulanmış, toplam 29 mide adenokanseri olgusu değerlendirilmiş; biopsi materyallerinde immunhistokimyasal boyama ile tümör damarlanması, vascular endothelial growth factor (*VEGF*), *bcl-2* düzeyleri saptanıp, bu parametreler ile sağkalım ve kemoterapi protokolüne verilen cevap arasında ki ilişki araştırılmıştır.

Yaşları 25 ve 76 arasında değişen (ortalama 54), 20 erkek ve 9 kadın hasta, metastatik grupta ortalama 344 gün, adjuvan kemoterapi alan grupta ise ortalama 602 gün izlenmiş, tümör damarlanması en önemli, bağımsız, prognostik kriter olarak saptanmıştır. ($p < 0,03$) Ayrıca ortalamanın (büyük büyütmede 155/ 4 mm²) üzerinde *tümör damarlanması* olan olguların olmayanlara göre; kemoterapiye belirgin kötü cevap verdiği gözlemlenmiştir. ($0,01 < p < 0,05$)

VEGF düzeyi ve tümör damarlanması arasında korelasyon saptanmamış, ancak *VEGF* düzeyi ve metastaz yaygınlığı arasında düz orantılı bir ilişki gösterilmiştir. ($0,01 < p < 0,05$) *VEGF* ve *bcl-2* düzeyi ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmamış ancak *bcl-2* düzeyleri erken evrede başvuran hastalarda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. ($0,01 < p < 0,05$)

Çalışmada elde edilen bir diğer ilginç sonuç ise tüm hastalarda *VEGF* ekspresyonunun pozitif saptanması olmuştur. Bunun toplumumuza özgü bir farklılık olup olmadığını araştırmak amacıyla, çalışmanın genişletilerek sürdürülmesi kararı alınmıştır.

SUMMARY

In this study, 29 patients with gastric carcinoma (20 males and 9 females), who have been followed up and treated in the department of Medical Oncology, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, were evaluated. Considering our patients 24 of them (*Group I*) had distant metastases and the rest (*Group II*) was admitted to our department after curative surgery.

They had all received the same chemotherapy protocol, consisting of 5-fluouracil, cisplatin, leucovorin and alfa-interferon. We investigated the *microvessel density*, *vascular endothelial growth factor* and *bcl-2* levels in biopsy specimens by immunohistochemical staining and evaluated the relationships between all these parameters, response to chemotherapy and patient outcome.

Our patients, whose ages were between 25 and 76 with a mean of 54 years, were followed up for a mean period of 344 days in the metastatic group (*Group I*) and for 602 days in the adjuvant group (*Group II*).

The Cox proportional hazards model identified *intratumoral vessel count* as the most significant and independent prognostic indicator among various clinicopathological factors ($p<0,03$). In addition to this, cases with a *microvessel density* above the mean (155 / 4 mm² under x200 field) compared to the ones below , had a significantly lower response rate to chemotherapy ($0,01<p<0,05$).

No close correlation was found between *microvessel density* and *VEGF* levels. On the other hand, there was a positive correlation between the extent of metastases and *VEGF* levels. ($0,01<p<0,05$)

We could not prove any correlations between *VEGF* and *bcl-2* levels and patient outcome, but patients admitted to our department at early stages had significantly higher *bcl-2* levels, compared to the ones in the metastatic group. ($0,01 < p < 0,05$)

Another interesting result of the study was the high incidence of *VEGF* expression among our patients. Our aim is to expand this study, to investigate, whether this is a special circumstance of our population.



KAYNAKLAR

- 1)Mayer Robert J. Harrison's Principles of Internal Medicine 14th edition, Volume I, chapter 92, s.569-571
- 2)Correa P, Haenszel W. Cancer of Stomach. Epidemiology and incidence. Sherman Diseases of the gastrointestinal tract and liver. Second edition, Churchill Livingstone, Chapter 12, s. 333, 1989
- 3)David J, Shearman C, Niall D, Finlayson C. Cancer of Stomach, Clinical features, Shearman Diseases of the gastrointestinal tract and liver. Second edition, Churchill Livingstone, Chapter 12. s 341-342, 1989
- 4)Fırat D, Çelik İ.Cancer statistic in Turkey and in the world.(1993-1995); s 12, 1995
- 5)Borrmann R, Henke F, Lubarsko O. Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie. Volume 4, Berlin-Springer Verlag s. 865, s.1926
- 6)Douglas HO. Current management of gastric cancer, analysis of recent advances. Curr. Concepts Oncol, fall 1986
- 7)Robbins and Kumar. Basic Pathology s 680, 1987
- 8)Siipponen P et al. Atrophic chronic gastritis and intestinal metaplasia in gastric carcinoma. Comparison with a representative sample. Cancer 52: 1062, 1983
- 9)Schrumpf E. et al. Mucosal changes in the gastric stump, 20-25 years after partial gastrectomy. Lancet 2: 467, 1977
- 10)Laufer E. Double contrast gastrointestinal radiology. Saunders, Philadelphia 1979
- 11)Edward S, Marascaux J. Cancer of the Stomach. Ann Chir. 46 561-569, 1992

- 12)Borrman R, Henke F, Lubarsko O. Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Volume 4, Berlin Springer Verlag, s.865, 1926
- 13)Teixera C R, Haruma K, Teshima H et al. Endoscopic therapy for gastric cancer patients more than 80 years old. Am J of Gastroenterol; 86; 725-728; 1991
- 14)Nanus DM, Kelsen DP, Niedzwiecki D. et al. Flow cytometry as a predictive indicator in patients with operable gastric cancer. J Clin Oncol 7: 1105, 1989
- 15)Fabrizio G, De Sants M, Molinari B et al. Total gastrectomy with lymph node excision and Roux-Or esophago-jejunal reconstruction, its role in the therapy gastric cancer. G Chir, 13: 239-241; 1992
- 16)Martinelli V, Piermattei A, Fidenza F, et al. Total parenteral nutrition undergoing total gastrectomy in cancer of stomach, a clinical study. Minerva Chir, 45: 183-188; 1990
- 17)Guy D. Eslick, Lynette L, Julie E. Bules et al. Association of Helicobacter pylori infection with gastric carcinoma: A Meta-analysis. Am J Gastroenterol, Vol 94, No 9, s 2373-2379, 1999-12-20
- 18)Serlin O, Keelin RJ, Higgins GA, et al. Factors related to survival following resection for gastric carcinoma. Cancer 40: 1318, 1978
- 19)Douglas HO. Adjuvant therapy of gastric cancer. Have we made any progress.. Ann Oncol, 5 suppl 3: 49-57, 1994
- 20)Moertel CG, Engström P, Lavin PT. Chemotherapy of gastric cancer and pancreatic carcinoma. Surgery 85; 509; 1979
- 21)Gohmann JJ, Mac Donald JS. Chemotherapy of gastric cancer. Cancer Invest, 7;39, 1989
- 22)Galiano R, Mc Cracken JD, Cher T. Adjuvant chemotherapy with FU, adriamycin and mitomycin (FAM) in gastric cancer. Proc Am Soc Clin Oncol, 2;114, 1983

- 23) Carrato A, Diaz-Rubio E, Medrano J, Calpera R, Marcuello E, Sanz J, Cervantes A. Phase III trial of surgery versus adjuvant chemotherapy with mitomycin C starting within the first week after surgery, for gastric adenocarcinoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 14; 198; 1995
- 24) Coombs R, Schein P, Chilves C et al. A randomized trial comparing adjuvant fluorouracil, doxorubicin and mitomycin with no treatment in operable gastric cancer. *J Clin Oncol* 1990; 8; 1362
- 25) De Vita V, Hellman S, Rosenberg S; Principles and practice of oncology, Cancer; Chapter 323; s 1044
- 26) Coman DR, Sheldon WF. The significance of hyperemia around tumor implants. *Am J Pathol* 1946; 22; 821
- 27) Warren BA, Shubik P. The growth of blood supply to melanoma. *Lab Invest* 1966; 15: 464
- 28) Liotta LA, Kleinerman J, Saidel GM. Quantitative relationships of intravascular tumor cells, tumor vessels and pulmonary metastases following tumor implantation. *Cancer Res* 1974; 34; 1997
- 29) Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors, *Science* 1987; 235: 444
- 30) Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other diseases. *Nature Med* 1995; 1; 27
- 31) Dameron KM, Volpert OV, Tainsky MA, Bank N. Control of angiogenesis in fibroblasts by p 53 regulation of thrombospondin-1. *Science* 1994; 265; 1502
- 32) Rak J, Mitsuhashi Y, Baykol et al. Mutant ras oncogenes upregulate VEGF/VPF expression: implications for induction and inhibition of tumor angiogenesis. *Cancer Res.* 1995; 55; 4575
- 33) Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG. Cancer metastasis and angiogenesis, an imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 1991; 64; 327

- 34)Weidner N, Semple JP, Welch JR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastases- correlation in invasive breast cancer. *N Engl J Med* 1991; 324; 1
- 35)Weidner N, Folkman J, Pozzi F et al. Tumor angiogenesis: a new significant and prognostic indicator in early stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84; 1875
- 36)Weidner N, Carroll PR, Flax J, Flumenfeld W, Folkman J. Tumor angiogenesis correlates with metastases in invasive prostate carcinoma. *Am J Pathol* 1993; 143; 401
- 37)Fregene TA, Kanuja PS, Noto AC et al. Tumor associated angiogenesis in prostate cancer. *Anticancer Res* 1993; 13; 2377
- 38)Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol* 1995; 147; 9
- 39)Graham CH, Rivers J, Kerbel RS, Stankiewicz KS, While WL. Extent of vascularisation as a prognostic indicator in thin (<0,76 mm) malignant melanomas. *Am J Pathol* 1994; 145: 510
- 40)Hollingsworth HC, Kohn EC, Steinberg SM, Rothenberg ML, Meriono MJ. Tumor angiogenesis in advanced stage ovarian carcinoma. *Am J Pathol* 1995; 147; 33
- 41)Maeda K, Chang YS, Takatsuka S et al. Tumor angiogenesis and tumor cell proliferation as prognostic indicators in gastric adenocarcinoma. *Br J Cancer* 1995; 72: 319
- 42)Debbas M, White E. Wild-type p 53 mediates apoptosis by E1A, which is inhibited by E1B. *Genes Dev.* 1993; 7: 546
- 43)Canman C, Gilner T, Coutts S et al. Growth factor modulation of p 53 mediated growth arrest versus apoptosis. *Genes Dev* 1995; 9: 600
- 44)Williams G, Smith C, Spooncer E et al. Haemopoietic colony stimulating factors promote cell survival by supressing apoptosis. *Nature* 1990; 343:76

- 45) Lin H, Eviner V, Prenderfast G et al. Activated H-ras rescues E1A induced apoptosis and cooperates with E1A to overcome p 53-dependent growth arrest. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 4536
- 46) Cleveland J, Troppmair J, Packham G et al. v-RAF supresses apoptosis and promotes growth of interleukin-3 dependent myeloid cells. *Oncogene* 1994; 9: 2217
- 47) Cortez D, Kadlec L, Pendergast A. Stuructural and signaling requirements for bcr-abl mediated transformation and inhibition of apoptosis. *Moll Cell Biol* 1995; 15: 5531
- 48) Tsujimoto J, Finger L, Yunis J et al. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t (14;18) chromosome translocation. *Science* 1984; 226: 1097
- 49) Craig R. The bcl-2 gene family. *Semin Cancer Biol* 1995; 6: 35
- 50) Hermans J, Bonenkamp J J, Boon M C et al. Adjuvant therapy after curative resection for gastric cancer; metaanalysis of randomized trials. *J Clin Oncol*, 11: 1441-1447, 1993
- 51) Alexander HR, Kelsen DP, Tepper JE. Cancer of Stomach, *Cancer Princiotes and Practice of Oncology*. De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA. 4th edition, Lippincot, Philedelphia, chapter 28, s 818-848, 1993
- 52) Dupont JB, Lee RJ, Burton GR, Cohn I. Adenocarcinoma of the stomach, review of 1497 cases. *Cancer* 43 (3): 941-947, 1978
- 53) Tuncer M. Gastrik karsinoma. Yan dal uzmanlık tezi, İstanbul, 1993
- 54) Meyers WC, Damiano RJ, Postlethweit et al. Adenocarcinoma of the stomach. *Ann Surgery*, 205; 1: 1987
- 55) Chadli A, Mzabi-Regaya S, Makni MK. Malignant tumors of the stomach: apropos of 583 anatomo-clinical cases. *Arch Inst Pasteur Tunis* 1986 Dec; 63 (4): 457-476

- 56) Polkowski W, Ciechanski A, Wallner G, Dubrowski A, Pawlowski A, Chibonski D, Misiura P. Stomach and esophageal neoplasm. Changes over 16 years in clinical materials. *Wiad Lek.* 1997; 50 Su 1 Pt 2: 388-393; 1997
- 57) Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma, diffuse and so called intestinal type carcinoma. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 64: 31, 1965
- 58) Broder A. Carcinoma, grading and practical application. *Arch Pathol*, 2: 376, 1926
- 59) Cady B, Rossi RJ, Silverman MC et al. Gastric adenocarcinoma. A disease in transition. *Arch Surg* 124; 303: 1989
- 60) Higgins GA, Serlin O, Amadeo JH et al. Gastric cancer factors in survival. *Surg Gastro* 10: 393; 1976
- 61) Schmitz-Moorman P, Heider AA, Thomas C: Cancer of the stomach- prognosis independent of therapy, in Herfarth C, Schlag P (eds): *Gastric Cancer*, Berlin, Springer Verlag 1979
- 62) Moertel CG, Childs DS, Rietemeier RJ et al. Combined 5-fluorouracil and supravoltage radiation therapy of locally unresectable gastric cancer. *Lancet* 2: 865, 1969
- 63) Saito H, Tsujitani S, Oka S, Kondo A, Ikeguchi M, Maeta M, Kaibara N. The expression of transforming growth factor-beta 1 is significantly correlated with the expression of vascular endothelial growth factor and poor prognosis of patients with advanced gastric cancer. *Cancer* 1999 Oct 15; 86 (8): 1455-1462
- 64) Saito H, Tsujitani S, Ikeguchi M, Maeta M, Kaibara N. Neoangiogenesis and relationship to nuclear p 53 accumulation and vascular endothelial growth factor expression in advanced gastric carcinoma. *Oncology* 1999; 57 (2): 164-172

- 65)Maeda K, Kang SM, Onodo N, Ogawa M, Kato Y, Sawada T, Chung KH. Vascular endothelial growth factor expression in preoperatoir biopsy specimens correlates with disease recurrence in patients with early gastric carcinoma. *Cancer* 1999 Aug 15; 86 (4): 566-571
- 66)Maeda K, Chung Y, Ogawa Y, Takatsuka S, Kang S, Ogawa M, Sawada T, Sava M. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma. *Cancer* 1996 Mar 1 : 77 (5): 858-863
- 67)Ikeguchi M, Oka S, Saito H, Kondo A, Tsujitani S, Maeta M, Kaibara N. The expression and proliferative activity of cancer cells in gastric cancer. *Langenbecks Arch Surg* 1999 Jn; 384 (3): 264-270
- 68)Tomada M, Maehara Y, Kakaji Y, Ohno S, Ichiyoshi Y, Sugimachi K. Intratumoral neovascularisation and growth pattern in early gastric carcinoma. *Cancer* 1999 Jun 1; 85 (11): 2340-2346
- 69)Saito H, Tsujitani S, Kondo A, Ikeguchi M, Maeta M, Kaibara N. Expression of vascular endothelial growth factor correlates with hematogenous recurrence in gastric carcinoma. *Surgery* 1999 Feb; 125 (2): 195-201
- 70)Takahashi Y, Cleary KY, Mai M, Kitadai Y, Bucana CD, Ellis LM. Significance of vessel count and vascular endothelial growth factor and its receptor KDR in intestinal type gastric cancer. *Clin Cancer Res* 1996; 2 (10): 1679-1684
- 71)Maeda K, Kang SM, Onoda N, Ogawa M, Sawada T, Nakata B, Kato Y, Chung YS, Sowa M. Expression of p 53 and vascular endothelial growth factor associated with tumor angiogenesis and prognosis in gastric cancer. *Oncology* 1998 Nov-Dec; 55 (6): 594-599
- 72)Tanigawa N, Amaya H, Matsamura M, Shimomatsuya T. Correlation between expression of vascular endothelial growth factor and tumor vascularity and patient outcome in human gastric carcinoma. *J of Clin Oncol*, Vol 15, No 2, 1997: 826-832

- 73)Müller W, Schneiders A, Hommel G, Gobbert HE. Prognostic value of bcl-2 expression in gastric cancer. *Anticancer Res* 1998 Nov-Dec; 18 (63): 4699-704
- 74)Aizawa K, Ueki K, Suzuki S, Yabusaki H, Kanda T. Apoptosis and bcl-2 expression in gastric carcinomas: correlation with clinicopathological variables, p 53 expression, cell proliferation and prognosis. *Int J Oncol* 1999 Jun; 14 (1): 85-91
- 75)Nakata B, Mugurama K, Hirakawa K et al. Predictive value of bcl-2 and Bax protein expression for chemotherapeutic effect in gastric cancer. A pilot study. *Oncology* 1998 Nov-Dec; 55 (6): 543-547
- 76)Inada T, Kikuyama S, Ichikawa A, Igarashi S, Ogata Y. Bcl-2 expression as a prognostic factor of survival of gastric carcinoma. *Anticancer Res* 1998 May-Jun; 18 (33): 2003-2010
- 77)Lauwers GY, Scott GV, Karpek MS. Immunohistochemical evaluation of bcl-2 protein expression in gastric adenocarcinomas. *Cancer* 1995 May 1; 75 (9): 2209-2213