

**T.C
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**GERM HÜCRELİ TESTİS TÜMÖRLÜ HASTALARDA VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN PROGNOSTİK FAKTÖR
OLARAK
TANI VE KLİNİK EVRE İLE ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Dr. Halit TALAS

**ÜROLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Yaşar BEDÜK**

ANKARA - 2008

**T.C
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**GERM HÜCRELİ TESTİS TÜMÖRLÜ HASTALARDA VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN PROGNOSTİK FAKTÖR
OLARAK
TANI VE KLİNİK EVRE İLE ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Dr. Halit TALAS

**ÜROLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Yaşar BEDÜK**

ANKARA - 2008

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
GİRİŞ ve AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
HASTALAR ve YÖNTEM.....	21
BULGULAR.....	23
TARTIŞMA	26
SONUÇLAR.....	29
ÖZET.....	30
SUMMARY.....	32
REFERANSLAR.....	34

GİRİŞ ve AMAÇ

Testis tümörü insidansı ırk, ülke ve sosyoekonomik düzey ile değişiklik göstermektedir. En sık İskandinav ülkelerinde, en az ise Afrika ve Asya'da görülmektedir. Testis tümörlerinin yıllık ortalama yaşa uyarlanmış insidansı 100000'de 2-3 olarak bildirilmektedir ancak yavaş da olsa artma eğilimindedir. Erkeklerin tüm yaşamı boyunca testis tümörüne yakalanma insidansı ise %0.2 düzeyindedir (1).

Testis tümörleri nadir görülmekle birlikte, 15-35 yaş arası erkeklerde en sık görülen malign tümördür. Erkekteki tüm malign tümörlerin %1-2'sini kapsar. Atmış yaş sonrasında ve 10 yaş altında da küçük bir pik yapmaktadırlar.

Tümörlerin %90-95'i germinal dokudan kaynaklanır. Testisin germ hücreli tümörleri saf seminom ve non-seminomatöz germ hücreli tümörler olarak sınıflandırılırlar.

En fazla görülen histolojik tip seminomun pik yaşı 35-39 yaşları arasındadır. Embriyonal karsinom ve teratokarsinom 25-35 yaşları arasında, koryokarsinom ise 20-30 yaşları arasında sık görülmektedir. Yolk sac tümör ve pür benign teratomlar erken çocukluk döneminde sık görülmekle beraber, bu iki histolojik tip diğer histolojik tiplerle kombine şekilde daha ileri yaşlarda görülür. Malign testiküler lenfomalar 50 yaşından sonra daha sık karşımıza çıkmaktadır.

Sağ testiste, yüksek kriptoorşidizm insidansına paralellik gösterecek şekilde sola göre biraz daha sık görülür. Primer testis tümörleri yaklaşık %2-3 bilateraldir ve bu eş zamanlı veya farklı zaman dilimlerinde ortaya çıkabilmektedir (2).

Son yıllarda ileri görüntüleme yöntemleri ve tümör belirteçlerinin birlikte kullanılması, cerrahi tekniklerdeki değişiklikler ayrıca çoklu ilaç kemoterapi protokollerinin kullanılması ile genel sağ kalım oranları artmaktadır. 1950'li yıllarda mortalite oranları %50'ye yakın iken günümüzde bu oran %10'un altına düşmüştür.

Tümörlerin progrese olmaları için (primer ve metastatik tümörler) oksijen ve beslenme ürünlerini almaları gerekmektedir. Tümörün ihtiyaç duyduğu oksijen ve beslenme ürünlerinin sağlanabilmesi için de anjiogenezisin olması gerekmektedir. Anjiogeneziste bazı mediatörler aracılık göstermektedir, bu mediatörlerin en aktiflerinden birisi vasküler endotelial büyüme faktörüdür (VEGF).

Çalışmamızda, Ankara üniversitesi tıp fakültesi üroloji anabilim dalımızda testis tümörü nedeniyle radikal orkiektomi yapılan hastalarda orkiektomi öncesi alınan serum VEGF düzeyi ile çıkarılan testis dokusunda histopatolojik olarak gösterilen VEGF ekspresyonu düzeylerine bakılmış ve bu değerlerin testis tümörü alt tipleri ve klinik evrelerle arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Elde edilen be değerlerle hastaların takipleri de göz önünde alındığında hastaların takibinde nüks ve metastaz açısından prognostik önemi olup olmadığı da araştırılmıştır.

GENEL BİLGİLER

1. TESTİS TÜMÖRLERİ

1.1. EPİDEMİYOLOJİ

Testis tümörü insidansı ırk, ülke ve sosyoekonomik düzey ile değişiklik göstermektedir. En sık İskandinav ülkelerinde, en az ise Afrika ve Asya'da görülmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde yılda takriben 6900 yeni testis kanseri meydana geldiği bildirilmektedir. (3). Beyazlarda hayat boyu testis kanseri gelişme ihtimalinin takriben %0.2 veya 500 de bir olduğu belirtilmiştir. (1).

Yaşlara uyarlanmış insidans çalışmalarında, 1969-1971 yılları arasında Amerikan erkekleri için yıllık ortalama yaşa uyarlanmış insidans 100.000' de 3.7 olarak bulunmuştur. Bu rakam 1937-1939 yılları arasındaki 100.000 de 2 oranının takriben iki katıdır. Siyahlardaki ortalama ise 100.000 de 0.9 olup, bu oran 1960 lardan beri değişmemiştir. Benzer eğilim Danimarka' da da görülmüştür. 1945 ve 1970 arasında yaşa uyarlanmış insidans 100.000 de 3.4 den 6.4'e yükselmiştir (4). Muir ve Nectoux (5) tarafından derlenen bilgilerde erişkin GHT lerin dünyadaki insidansında belirgin değişiklikler görülmektedir. Yaşa göre yıllık ortalama görülme insidansı Danimarka, Norveç, İsviçre, Almanya ve Yeni Zelanda da en yüksektir. Amerika ve İngiltere orta sıralardayken, Güney Afrika ve Asya da az görülmektedir.

Testis tümörü 20-40 yaş erkeklerde en sık görülen solid tümördür. 60 yaş sonrasında ve 10 yaş altında da küçük bir pik yapmaktadırlar. En fazla görülen histolojik tip seminomun pik yaşı 35-39 yaşları arasındadır. Embriyonal karsinom ve teratokarsinom 25-35 yaşları arasında, koryokarsinom ise 20-30 yaşları arasında, yolk sac tümör ve pür benign teratomlar erken çocukluk döneminde sık görülmekle beraber, bu iki histolojik tip diğer histolojik tiplerle kombine şekilde daha ileri yaşlarda görülür. Malign testiküler lenfomalar 50 yaşından sonra daha sık karşımıza çıkmaktadır. Sağ testiste, yüksek kriptoorşidizm insidansına paralellik gösterecek şekilde sola göre biraz daha sık görülür.

Primer testis tümörleri yaklaşık %2-3 bilateraldir ve bu eş zamanlı veya farklı zaman dilimlerinde ortaya çıkabilmektedir. Bu tümörlerin yaklaşık %50'sinde tek veya çift taraflı inmemiş testis öyküsü bulunmaktadır. Bilateral testis tümörlerinden en sık görülen germ hücreli tümör seminomdur. Ancak en sık rastlanılan bilateral tümör malign lenfomadır.

İlk önce insitu intratübüler neoplazi gelişir ve sonunda testiküler parankimin bir kısmını veya tamamını kaplar. Tunika albuginea, epididim ve kord tutulumunu engeller. Pure seminom hastalarının 2/3 - 3/4'ünde tümör testise lokalizedir. NSGHT'li hastaların 2/3'ünde ise tanı konulduğunda metastaz vardır. Lenfatik dağılım vasküler dağılımdan önce olmaktadır. Erken vasküler invazyon pure koryokarsinomda görülmektedir. Akciğer, karaciğer ve kemikler vasküler invazyonun sık görüldüğü organlardır. Orşiektomi sonrasında testise lokalize olduğu düşünülen vakalarda % 30 organ dışı tutulum vardır (% 80 retroperitoneal, %20 uzak organ). Yetişkinlerde rastlanan tüm germinal hücreli tümörler malign olarak kabul edilmeli ve tedavi edilmelidir. Bu hastalıkta spontan gerileme çok nadirdir ve hastalığa bağlı ölümlerin büyük çoğunluğu tanı konulduktan sonraki 3 yıl içerisinde olmaktadır.

1.2. ETYOLOJİ

Testis tümörlerinin bilinen kesin bir nedeni olmamakla beraber, germ hücreli tümörlerin etyolojisinde hem konjenital hem de edinsel faktörlerin önemli olduğu bilinmektedir. Bu faktörler içinde de en güçlü ilişkiyi kriptorşidizm (inmemiş testis) göstermektedir. Testis tümörlü hastaların %7-10'unda kriptorşidizm hikayesi vardır (6). Kriptorşidizmi olanlarda ise 5-15 misli daha fazla testis tümörüne yakalanma riski bulunmaktadır. Tek taraflı kriptorşidizmi ve testis tümörü olanlarda karşı testiste %5-15 tümör görülebilmektedir (7). Bu hastalarda sıklıkla seminom görülür. Malignite riski en yüksek intraabdominal testiste (1/20), en düşük olarak ise inguinal testistedir (1/80).

İnmemiş testisin skrotum içine indirilmesi (orşiopeksi), muayene ve tümör tanımlanmasını kolaylaştırmakla beraber malignite potansiyelini değiştirmemektedir (8,9). Gebelik sırasında dietilstilbestrol (10) veya östrojen içeren oral kontraseptif kullanan (11) kadınların erkek çocuklarında desensus anomalileri ve disgenezise rastlanmıştır. Epidemiyolojik çalışmalar dietilstilbestrol ile tedavi edilen annelerin çocuklarında testis tümörü gelişiminin rölatif insidansının %2.8-%5.3 oranında arttığını göstermiştir (12, 13).

Nonspesifik enfeksiyon veya kabakulak enfeksiyonu ile ilişkili testis atrofi veya travma gibi edinsel faktörlerin lokal hormonal dengesizliklere yol açarak malign transformasyona neden olduğu düşünülmektedir.

1.3. HİSTOPATOLOJİ

Farklı testiküler kanser klasifikasyonları kullanılmaktadır. Bunlardan sıklıkla kullanılan Dixon-Moore klasifikasyonuna göre testiküler kanserler aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır.

Primer neoplaziler:

1. *Germinal neoplaziler* (%90 - %95)

a. Seminom (%40)

(1) Klasik (tipik)

(2) Anaplastik

(3) Spermatozitik

b. Embriyonal karsinom (%20 - %25)

c. Teratom (%5 - %10)

(1) Matür

(2) İmmatür

d. Koryokarsinom (<%1)

e. Yolk sak tümörü (endodermal sinüs tümörü)

f. Mikst hücre tipi (en sık teratokarsinom) (%40)

2. *Nongerminial neoplaziler*

a. Özel gonadal stromal tümörler

(1) Leydig hücreli tümör

(2) Diğer gonadal stromal tümörler

b. Gonadoblastom

c. Diğer neoplaziler

(1) Karsinoid

(2) Adrenal rest tümör

(3) Mezenkimal neoplaziler

(4) Rete testisin adenokarsinomu

Sekonder neoplaziler:

1. Retikuloendotelyal neoplaziler
2. Metastaz

Paratestiküler neoplaziler:

1. Adenomatoid
2. Epididim kistadenomu
3. Mezenşimal neoplaziler
4. Mezotelyoma
5. Metastaz

Seminom: %40 görülme oranı ile en sık görülen tümördür. 3 histolojik alt tipi tanımlanmıştır ve %85 ile en sık klasik tip seminomlardır. Yuvarlak bir şekli ile sert elastiki yapısı vardır. Kesiti parlayan bir yüzey göstermektedir. Seminomlardaki β -hCG (human koryonik gonadotropin) üretim insidansı içerdiği sinsityotrofoblastik hücrelerle denklik göstermektedir. Öncelikle lenfojen metastaz yapar. Tümör radyoterapi ve kemoterapiye çok iyi cevap verir.

Embriyonel Karsinom: %20-25 oranında görülür. Genellikle küçük, sınırları düzensiz ve tunica vajinalisi invaze eden kitle olarak karşımıza çıkar. Makroskopik olarak yaygın kanama ve nekroz odakları görülür. Öncelikle lenfojen yolla metastaz yapar.

Koryokarsinom: %1'den daha az görülür. Karşımıza paradoksal bir biçimde küçük intratestiküler kitleye rağmen uzak metastazla gelebilir. Histolojik tanısında sinsityotrofoblast ve sitotrofoblastlar gösterilmelidir. Erken safhada hematojen yolla metastaz yaparlar ve agresif davranış gösterirler. Koryonik gonadotropin ürettikleri için β -hCG ile süratle teşhis edilebilirler. Sıklıkla diğer tiplerle kombine edilir.

Teratom: % 5-10 oranında görülür. Birden fazla germ hücre tabakası içeren teratomlar hem çocuk hem de erişkinlerde görülebilir. Sertçe homojen tümör, kas, kıkırdak ve kemik dokusu içerir. Bir kapsülle sınırlanmıştır ve çocuklarda iyi huylu görünürse de erişkinlerde potansiyel malign tümör olarak kabul edilir.

Yolk sac tümör: İnfant ve çocuklarda en sık görülen testis tümörüdür. Erişkinlerde sıklıkla diğer histolojik tiplerle kombinasyon halinde bulunur ve alfa fetoprotein (AFP) üretimiyle ilişkilidir. Homojen, sarımsı ve müsinöz görünümü vardır.

Mikst hücre tipi: %40 oranında görülürler. Çoğu teratom ve embriyonel karsinom karışımından oluşan teratokarsinomlardır.

Germ hücreli olmayan tümörler: Tüm testis tümörlerinin %5-10'unu oluşturur. En sık görüleni Leydig hücreli tümörlerdir ve bu tümör tüm testis tümörlerinin %1-2'sini oluşturur. Germ hücreli tümörlerin aksine kriptorşidizm ile ilişkili değildir. Prepubertal dönemde virilizasyona, erişkin dönemde ise endokrin imbalansa bağlı olarak feminizasyona, empotansa, azalmış libidoya ve jinekomastiye neden olabilir. Çocuklarda bening karakterdedir ancak erişkinlerde %10 maligndir.

Gonadoblastomlar, sıklıkla gonadal disgenezi olan hastalarda görülürler ve tüm testis tümörlerinin yaklaşık %0.5' ini oluşturur. Tüm yaş gruplarında görülebilmelerine rağmen özellikle 30 yaş altı görülürler. Bilateral olma olasılığı yüksek olduğundan (%50) hastalara bilateral orşiektomi yapılmalıdır. Gonadoblastomlu hastalarda prognoz çok iyidir.

Testisin Sekonder Tümörleri: Tüm testis tümörlerinin %5'ini oluşturan lenfomalar, 50 yaş üzeri hastalarda en sık görülen tümördür. Ortalama görülme yaşı 60'dır. Hastaların dörtte biri generalize semptomlarla (halsizlik, kilo kaybı, iştahsızlık) karşımıza çıkmasına rağmen, çoğunlukla testiste ağrısız büyüme ile kliniğe başvururlar. Yaklaşık yarısı bilateraldir. Bilateral hastalıkta ve diğer odaklarda da lenfoma varsa prognoz kötüdür.

Metastatik testis tümörleri: İnsidental olarak otopsilerde yaygın hastalığın metastazı olarak bulunabilirler. Oldukça nadirdirler. En sık rastlanılan odaklar sırasıyla prostat, akciğer, gastrointestinal sistem, melanom ve böbreklerdir.

1.4. TÜMÖR BELİRTEÇLERİ

Tümör belirteçleri tüm klinik onkoloji de olduğu gibi testis tümörlerinde de tanı, prognoz, tedavinin monitörizasyonu ve olası relapsları belirlemek amacıyla kullanılmaktadır.

Tümör belirteçleri ya kanser hücreleri tarafından ya da konak hücreleri tarafından kansere karşı korunmak amacıyla sentezlenen biyolojik maddelerdir. Tümörü normal dokudan ayırt etmek ya da tümörün varlığını saptamak amacıyla gösterilmektedirler. Ölçümleri kanda, sekresyonlarda, seröz sıvılarda, kimyasal, immunohistolojik (radyoimmunoassay ve/veya enzim immünoassay), hücre membranında veya sitoplazmasında bulunanlar ise immunohistolojik veya immünositolojik yöntemlerle (immünofluoresans, immünoperoksidaz ve How cytometry) gösterilmektedir. Ayrıca çok sayıda solid veya hematolojik malignitelere nükleer DNA ölçümü de yapabilmektedir. Kromozomal değişiklikler ise moleküler tanısal testlerle saptanmaktadır (14,15).

Testis kanseri kesin serum belirleyicileri olan birkaç tümörden biridir. Bunlar; beta-human chorionic gonadatropin (β -hCG), alpha-fetoprotein (AFP) ve laktat dehidrogenaz (LDH) dir.

β -hCG (human koryonik gonadotropin): Normal yetişkin erkeklerde seviyesi çok düşüktür. Bazı germ hücreli tümörlerdeki sinsityotrofoblastik dokular bu maddeyi üretirler. Bu nedenle koryokarsinomların tümünde, embriyonal hücreli karsinomlarda %40-60 ve saf seminomlarda %7 oranında tespit edilebilmektedir. Seminomlarda nadiren normalin 2 katının üzerine çıkarlar.

AFP (alpha fetoprotein): Bir onkofetal protein olup testis ve karaciğer tümörlerinde tespit edilirler. Yarı ömrü 5-7 gündür. Embriyonel karsinom, teratom, teratokarsinom, yolk sak tümörlerde yükselir. Saf seminomlarda ve koryokarsinomlarda yükselmezler.

LDH (Laktat dehidrogenaz): LDH normalde 5 izoenzimi olan hücresel bir enzimdir. Kas dokusunda, karaciğerde, böbrek ve beyinde bulunur. Testis tümörü için spesifik değildir

ancak tümörün büyüklüğü hakkında fikir verebilmektedir. İleri evre seminomların ve tümör belirleyicileri yükselmeyen persistan non-seminomatöz tümörlerin takibinde rolü olabileceği düşünülmektedir.

Bu tümör belirleyicileri hastalığın dikkatli bir takibine ve erken müdahaleye imkan verir. Testis tümörlerinin başarılı tedavi seçimlerine olanak veren ek özelliklerinden biri de çoğunlukla germ hücre kaynaklı olmalarıdır ki bunlar genellikle hem radyasyon, hem de çok geniş bir kemoterapotik ilaç grubuna duyarlıdır. Bu tümörler histolojik olarak aslından daha benign kopyalara differansiye olur ve süratli bir büyüme gösterirler. Tesbit edilebilir ve sistematik bir yayılım örneği sergilerler. Genellikle morbid bir hastalığı olmayan genç insanlarda oluştuğundan multimedial tedavi rahatlıkla tolere edilebilir.

1.5. Testis Tümöründe Klinik Evreleme

Germinal hücreli tümörlerde metastazların tesbit edilebilir bir yol izlemesi, görüntüleme yöntemleri ve biyokimyasal belirleyicilerdeki teknolojik gelişmeler 1960'lı yıllardan beri değişik klinik evrelendirme sistemleri tavsiye edilmiştir.

Seminom ve non-seminomatöz testis tümörlerinde kullanılan çok sayıdaki evreleme sistemi, klinik ve patolojik evre arasındaki farklılıklar nedeniyle güçlükler sebeptir.

1997'de seminom ve non-seminomatöz tümörler için uygulanabilir, uluslararası kabul görmüş, konsensus sağlanmış bir klasifikasyon yayınlanmıştır. Amerikan Kanseri Komitesi (AJCC), germinal hücreli tümör evrelendirmesinde anatomiye dayanan evreleme üzerine serum tümör marker'larını da ekleyerek prognostik evreleme yapmıştır (Tablo 1). Bu; tümör, nodül ve metastaz (TNMS) evrelemesi daha önceki bütün sistemlerin yerini almıştır.

Tablo 1. Amerikan Kanser Komitesi (AJCC) ve Uluslararası Kanser Derneği tarafından yapılan testis kanseri evreleme sistemi.

TNM Tanımı

Primer Tümör (T)

PTX Primer tümör ortaya konulamamış (eğer radikal orkiektomi yapılmamışsa, TX kullanılır)

pT0 Primer tümör kanıtı yok (örneğin., testiste histolojik olarak skar tesbiti)

pTis İntratübüler germ hücreli neoplazi (karsinoma in situ)

pT1 Tümör testis ve epididime sınırlı, vasküler/lenfatik invazyon yok

pT2 Tümör testis ve epididime sınırlı, vasküler / lenfatik invazyon var veya tunika vajinalis tutulumu ile tunika albuginea ötesine yayılım

pT3 Tümör spermatik korda invaze olmuş, vasküler/lenfatik invazyon var veya yok

pT4 Tümör skrotuma invaze olmuş, vasküler/lenfatik invazyon var veya yok

Bölgesel Lenf Nodları (N)

Klinik

NX Bölgesel lenf nodu saptanamamıştır

N0 Lenf nodu metastazı yok

N1 En büyük boyutu 2 cm veya daha az olan lenf nodu tutulumu veya hiçbirini 2 cm'yi geçmeyen multipl lenf nodu tutulumu.

N2 2 cm'den büyük 5 cm'den küçük tek veya herhangi biri 2 cm'den büyük 5cm'den küçük multipl lenf nodu tutulumu

N3 5 cm'den büyük lenf nodu tutulumu

Patolojik

- pN0 Lenf nodlarında tümör tutulumu yok
- pN1 En büyük boyutu 2 cm veya daha az olan lenf nodu tutulumu ve hiçbiri 2 cm'yi geçmeyen ≤ 6 lenf nodunda pozitiflik.
- pN2 En büyük boyutu 2 cm'den büyük fakat 5 cm'den küçük lenf nodu tutulumu; hiçbiri 5 cm'i geçmeyen 5 adetten fazla lenf nodunda pozitiflik; ektranodal tümör yayılımı
- pN3 5 cm'den büyük lenf nodu tutulumu

Uzak Metastaz (M)

- M0 Uzak metastaz bulgusu yok
- M1 Bölgesel olmayan lenf nodu tutulumu veya akciğer metastazı
- M2 Pulmoner olmayan organ metastazları

Serum Tümör Marker'ları (S)

	LDH	hCG(mIU/mL)	AFP (ng/mL)
S0	$\leq N$	$\leq N$	$\leq N$
S1	$< 1.5xN$	< 5000	< 1000
S2	$1.5-10xN$	$5000-50\ 000$	$1000-10\ 000$
S3	$> 10xN$	$> 50\ 000$	$> 10\ 000$

AFP, α -fetoprotein; hCG, insan koryonik gonadotropin; LDH, laktat dehidrogenaz; N, normal düzeyinin üst sınırı. (22)

1.6. TESTİS TÜMÖRLERİNDE TEDAVİ

Testis tümörlerinin tedavisinde cerrahi, radyasyon ve kemoterapi gibi tedavi alternatifleri bulunmaktadır. Lokal kontrolün sağlanmasında inguinal veya 'radikal orkiektomi' tercih edilir. İnguinal kanalın iç deliği hizasında funikulus spermatikus erkenden pense edilerek yapılan radikal veya inguinal orkiektomi primer tümörün etkin bir şekilde çıkarılması ve evrelendirilmesini sağlar. Bu tedavi histolojik tanıyı, lokal yayılım derecesini ve nadir olarak iatrogenik bir sebep yok ise %100 gerçek etkinlikle tümörün lokal kontrolünü de sağlar.

Orkiektomi spesimeni, tümör içindeki bütün elementlerin tanınabilmesine imkan verecek ve histolojik teşhisi kesinleştirecek şekilde dikkatli bir işleme tabi tutulmalıdır. Tümörün lokal yayılımını saptamak da aynı öneme sahiptir. Patolog tümörün histolojik yapısı ve tümör alt gruplarının yüzdesini belirttiği gibi, primer tümörün T evresini ve tümör kitlesi içerisinde görülen lenfatik ve vasküler invazyonu da tesbit etmelidir. Orkiektomi testise lokalize tümörlerde kür sağlar ve morbiditesi minimal olup, mortalitesi yok denecek kadar azdır.

Testis tümörlerinin histolojik yapısı bu tümörlerin seyrini belirleyen önemli bir faktördür. Seminomların %65-85'i klinik olarak testise lokalize iken, non-seminomatöz olanların %60-70'i belirgin metastazlarla müracaat eder. Seminomun nisbeten yavaş yayılması ve radiosensitif olması nedeniyle inguinal orkiektomiden sonra radyoterapi uygulaması en çok kabul gören tedavi şeklidir. Non-seminomatöz tümörlerin regional lenf nodülü metastazlarında ise, prensip olarak Avrupa'da radyasyon, Amerika da ise cerrahi yöntem kullanılmaktadır.

1.6.1. Germ Hücreli Tümörler: Tedavi Prensipleri

Germinal hücreli tümörlerde tedavi stratejisinin esası; tümörün doğal seyri, klinik evresi (hastalığın yayılımının tesbiti) ve tedavinin etkinliği üzerine kurulur. Tümör histolojisinin analizi, histolojik tiplerin miktarı ve yayılım yerleri germ hücreli tümörlerin tesbit edilebilir bazı özellikleri arasındadır. Patolojik evre, hastalığın progresyonunun bir göstergesidir. Klinik evrelemede ise patolojik evreyi tayin etmek için uygun metodlar uygulanır. Tedavi alternatiflerinin seçimi her rejimin avantaj ve dezavantajlarına bağlıdır. Tedavideki başarılı sonuçları nedeniyle geniş bir kesimde multimodal tedavinin kredisi artmış olmakla beraber, klinik evrelemenin kesin yapılabilmesi, tedaviye yetersiz yanıtın erken

tesbiti ve bu gibi yetersiz olgularda da başarılı tedavi ihtimalinin artması nedeniyle tedavi edilecek kitlenin küçültülmesine yönelik araştırmalara da hız verilmiştir.

Testis tümörlerinin tedavisinde cerrahi, radyasyon ve kemoterapi gibi majör tedavi alternatiflerinin her biri özel ancak tam olarak tanımlanmamış bir role sahiptir. Lokal kontrolün sağlanmasında radikal orkiektomi tercih edilir.

1.6.1.1. Seminom: Tedavi Prensipleri

Düşük evre seminomların klasik tedavi şekli; inguinal orkiektomiden sonra terapötik veya adjuvan radyoterapidir. Bu tedavi şekli, düşük evreli tümörlerin tedavisinde oldukça etkili ve morbiditesi az olan bir yöntemdir. Yaygın dissemine metastazlı hastalarda bile çok ilaçlı kemoterapi ile kür sağlandığından bütün evrelerdeki toplam kür oranı %90'ı aşmıştır.

Uzak metastazlı veya retroperitoneal büyük kitleleri olan hastalarda en uygunu tedaviye kemoterapi ile başlamaktır. Radyolojik olarak kitlelerin devam ettiği olgularda yapılan salvage kemoterapi, cerrahi olarak kitlelerin veya radyoterapi uygulamaları hala tartışmalıdır.

Pür seminomda evre I seminomda orkiektomiden sonra sadece takip kararı verilebilirse de, radyasyona bağlı malignite oluşumu bildirilmesine rağmen retroperitoneal bölgeye yapılan düşük doz radyoterapinin morbidite ve toksisitesi az ve sonuçlarının mükemmel olması nedeniyle birçok merkezde bu protokol tercih edilen bir tedavi şekli olmuştur. İlerlemiş hastalığı olanlarda ise ilk tedavi seçeneği cisplatin esaslı kemoterapi olmalıdır. Radyoterapi ve cerrahi tedavi kemoterapinin yetersiz kaldığı duruma saklanmalıdır.

Eğer supradiafragmatik veya ekstra lenfatik alanlarda hastalık belirtisi yok ise, retroperitoneal lenf nodüllerinin tedavisi ikinci basamak olmalıdır. Bu şekilde klinik evrelendirme de sağlanmış olur. Son zamanlarda büyük retroperitoneal metastatik oluşumlar olan pek çok hastada, tedavinin kemoterapi ile başlaması genellikle doğruluğu kabul edilen bir yöntemdir.

1.6.1.2. Nonseminomatöz Germ Hücreli Tümör: Tedavi Prensipleri

NSGHT'li hastalar genel olarak düşük evre ve ileri evre veya ilerlemiş hastalık olarak iki alt guruba ayrılır. Düşük evre NSGHT'li hastalar klinik evre, serum tümör belirleyicileri ve tümörün histolojik bulguları gibi bazı faktörlere bağlı olarak takip, kemoterapi ve retroperitoneal lenf nodülü disseksiyonu (RPLND) aday olabilir. Diğer taraftan ilerlemiş hastalığı olanlarda iyi ve kötü riskli olmak üzere iki alt gruba daha kategorize edilir. Hastalığın seyrine bağlı olarak bu her iki alt grup primer kemoterapi tedavisine alınır.

1.6.1.2.1 Evre I ve Evre IIA tümör: Düşük evre NSGHT

a. Retroperitoneal lenf nodülü disseksiyonu prensipleri:

RPLND, 1948'de Lewis tarafından NSGHT'lerin primer tedavisi olarak tanımlandı. Kimbrough ve Cook (16), testis tümürlü hastaların lokal ve regional kontrolünün sağlanmasında, inguinal orkiektomi + retroperitoneal lenfadenektominin tercih edilmesi gereken bir yöntem olduğunu vurguladı.

Tümörün testis dışı yayılımında genelde yer retroperitoneal lenf nodülleridir. Bu nedenle testis tümörlerinin tedavisinde RPLND önemli avantajlar sağlayabilir. Ayrıca bu nodüllerin çıkarılması evreleme için hala zirvede, altın standart bir yöntem olarak kalmaya devam etmektedir. Patolojik olarak kanıtlanmış evre I hastalarda yalnız cerrahi ile şifa oranı takriben %95 dir. RPLND bulguları negatif olan düşük evreli hastaların %5-10'unda relaps olabilirse de, bunlarda da kemoterapi ile yüksek oranda şifa sağlanır.

RPLND mortalite oranı %1 den az ve morbiditesi %5-25 arasında değişmektedir. Modifiye RPLND'nin standart RPLND'ye göre kabul edilebilir avantajları vardır. Bu tekniği kullanarak tümörle tutulum ihtimali fazla olan retroperitoneal alanın tam disseksiyonu yapılırken, tutulum ihtimalinin az olduğu alanlar ve ejakulasyonu etkileyecek yapılar ayrılıp korunabilir.

b. Primer Kemoterapi

T1-T3, N0, M0 hastalarda primer kemoterapi mantığı bunun RPLND kadar etkin olmasına karşılık, daha az invaziv ve aynı zamanda takip protokolündeki belirsizlikleri elimine etmesi esasına dayanır. Birçok yayınlanmış bildiri, iki kür bleomycin, etoposide ve

cisplatin alan T1-T3, N0, M0 non-seminomatöz testis tümörlü hastalardaki yaşam oranının %95-100 arasında olduğunu göstermektedir. Primer kemoterapi, retroperitoneal bölge dışındaki metastazları da tedavi etme gibi bir avantaja sahiptir. RPLND'den sonra %5-10 oranında nüks görülmesi gizli kalan bu uzak metastazların RPLND ile temizlenememesindedir.

Evre I NSGHT de primer kemoterapinin etkisini değerlendiren çalışmalar, RPLND'ye karşı randomize edilmemiş ve seçim kriterleri prognostik risk faktörleriyle (T evresi, vasküler invazyon, embriyonal kanser hacmi) standardize edilememiştir. Bununla beraber kemoterapi alan genç erişkinlerde bunun uzun süredeki etkisi belirsiz olup gerçek bir endişe olarak durmaktadır.

T1-T3,N0,M0 hastalarda adjuvan kemoterapiyi savunanlar, 2 kür bleomycin, etoposide ve cisplatin tedavisinin bazı hastalarda fazla tedaviye yol açmasına rağmen, bunlarda nüks oranının çok düşük ve takip sıklığının daha az olması gibi belirgin yararları sahip olduğunu bildirmektedir. Ayrıca adjuvan kemoterapi, relapstan sonra ihtiyaç duyulan yüksek doz kemoterapi gereksinimini de önlemiş olur (17).

1.6.1.2.2. Evre IIb NSGHT:

a. Cerrahi Tedavi

Klinik deneyimler, yalnız cerrahi eksplorasyonla lenf nodüllerinde metastaz olup olmadığını değerlendirmede %90'dan fazla doğruluk sağlandığını göstermiştir. Laparatomide şüpheli lenf nodülüne rastlanırsa, bazı seçilmiş olgularda, sinir koruyucu teknik kullanılabilirse de, komplet bilateral lenfadenektomi tavsiye edilir. Böbrek hilumu altındaki alanda çok fazla tutulum yoksa, suprarenal nodal metastaz çok seyrek görülür.

1.6.1.2.3. evre IIc ve Evre III NSGHT: iyi ve kötü riskli hastalık

Kemoterapi yapılan hastalarda prognozun değişiklikler gösterdiği belirlenmiştir. Bundan dolayı bu hastalar düşük riskli ve yüksek riskli olmak üzere iki gruba ayrılmalıdır. Değişik kemoterapi çalışmalarının geliştirilip uygulanması nedeniyle, uluslararası bir konferans düzenlenmiş ve bu toplantı sonunda "İnternasyonal germ hücre konsensus klasifikasyonu" adı verilen yeni bir sınıflandırma yayınlanmıştır. (Tablo 2). Bu toplantıda tedaviden önceki tümör marker değerlerinin de klasifikasyonda kullanılması konusunda bir

anlaşmaya varılmış ve akciğerden başka organlarda metastaz olması kötü prognostik risk faktörü olarak kabul edilmiştir. Bu sınıflandırmada iyi, orta ve kötü prognoz olmak üzere üç subklasifikasyon var ise de, klinik amaçlar için iyi riskli (iyi veya orta prognozlu) ve kötü riskli (kötü prognozlu) olmak üzere ikiye ayırmak yeterlidir.

Kemoterapi bu sınıflandırmaya göre düzenlenir. Tedaviden iyi sonuçlar alınacağı önceden tesbit ve tahmin edilen düşük riskli hastalarda amaç; bir taraftan tedavi ile ilgili toksisiteyi azaltırken, diğer yandan da şifa oranını yükseltmek olmalıdır. Minimal veya orta derecede hastalığı olanlar standart kemoterapiye %91-95 oranında cevap verirler (18). Halbuki ilerlemiş hastalığı olanlarda ise cevap oranı ancak %53 civarındadır. Bundan dolayı bu sınıflandırmaya göre, hastalığı çok ilerlemiş bu grupta oldukça agresif bir kemoterapi yapılmalıdır.

**Tablo 2. TESTİS KANSERİNDE INTERNATIONAL
GERM CELL CONSENSUS PROGNOSTİK SINIFLANDIRMA SİSTEMİ**

İyi Prognoz

Nonseminom

Primer olarak testis veya retroperitoneal
Pulmoner olmayan organ metastazı yok
AFP < 1000 ng/mL, hCG < 5000 IU/L, ve
LDH < normal limitin üst sınırının 1.5 katı

Seminom

Primer olarak herhangi bir bölge
Pulmoner olmayan organ metastazı yok
Normal AFP; hCG veya LDH

Orta prognoz

Nonseminom

Primer olarak testis veya retroperitoneal
Pulmoner olmayan organ metastazı yok
AFP 1000-10 000 ng/mL, hCG 5000-50 000 IU/L,
ve LDH normal limitin üst sınırının 1.5-10 katı

Seminom

Primer olarak testis veya retroperitoneal
Pulmoner olmayan organ metastazı
Normal AFP; hCG veya LDH

Kötü Prognoz

Sadece Nonseminom

Aşağıdaki kriterlerin herhangi biri:

Primer olarak mediastinal kaynaklı

Pulmoner olmayan organ metastazı

AFP > 10 000 ng/mL, hCG > 50 000 IU/L, ve LDH normal limitin üst sınırının 10 katından fazla olması

AFP, α -fetoprotein; hCG, human koryonik gonadotropin; LDH, laktat dehidrogenaz

1.6.1.2.4 İleri Evre GHT'lerde kemoterapi sonrası rezidüel kitlelere yaklaşım

Kemoterapiden sonra retroperitonda görülen canlı rezidüel germinal hücreli tümörlere ait kitlelerin zararları oldukça iyi tanımlanmış olsa da, bu hastalarda RPLND endikasyonu tartışmalı olup, bu konuda kesin bir kural da yoktur. Bununla birlikte kemoterapiden sonra tümör markerlarının hala yüksek olması adjuvan cerrahi için genel kabul görmüş bir kontrendikasyon olarak durmaktadır.

Rezidüel hastalığı olanlarda RPLND'nin iyi tanımlanmış ve bilinen komplikasyonları gözönüne alınarak hasta seçimi çok dikkatli bir şekilde yapılmalıdır. Görünen hastalığı olmayanlar bu tedavinin dışında bırakılmalıdır. Daha önce yapılmış olan serilerde, preoperatif sitoredüktif kemoterapi sonrası serum marker düzeyleri normale inen ileri evre NSGHT'lü hastaların yaklaşık üçte birinde çıkarılan rezidüel dokularda maligniteye rastlanmıştır (19,20).

Debono ve arkadaşları (21), primer tümörde teratomatöz elemanların bulunmadığı ve kemoterapi sonrası BT kesitlerinde retroperitondaki kitlede %90'dan fazla küçülme olan olgularda, rezeke edilen dokularda canlı GHT veya teratomun görülmediğini tesbit etmişlerdir. Bundan başka, ileri evre GHT'lü hastalarda kemoterapiden sonra yapılan RPLND, hastanın gelecekteki tedavisi ve hastaya yaklaşım konusunda önemli bilgiler vermekte; kemoterapiye cevabı belirlemekte, mevcut canlı GHT'ü ortadan kaldırmakta, dolayısıyla kür şansını artırmakta ve daha ileri tedavilere olan ihtiyacı belirlemektedir.

2.1. Anjiogenez

Tümörlerin progrese olmaları için (primer ve metastatik tümörler) oksijen ve beslenme ürünlerini almaları gerekmektedir. Tümörün ihtiyaç duyduğu oksijen ve beslenme ürünlerinin sağlanabilmesi için de anjiogenezin olması gerekmektedir (22).

Tümör kütlesi 2-3 mm çapa kadar gereksinimlerini difüzyon ile karşılar. Ancak tümör bu boyutun üzerine çıktığı zaman tümör ve morfogenezini uyarır. Anjiogenez dinamik ve karışık bir olay olup neovasküler kan akımının sağlanması birbirlerine bağımlı bir seri olay sonucu olur. Anjiogenez kapillerleri çevreleyen bazal membranda lokal yıkım olayı ile başlar. Bunu endotelial hücrelerin anjiogenik uyarı yönünde etraftaki stromaya invazyonu izler.

Endotelial hücrelerin migrasyonunu endotel hücre proliferasyonu ve ardından yeni kan damarlarının oluşumu için diğer benzer yapılarla bir araya gelmeleri izler (23). Solid tümörlerdeki vasküler yapı normal dokulardakinin aynısı değildir. Hücresel kompozisyon, geçirgenlik, damar stabilitesi ve büyümenin düzenlenmesi açısından farklılıklar mevcuttur.

Sağlıklı erişkinlerde yoğun anjiyogenezis, kadın genital sisteminde ortaya çıkmaktadır. Tümörigenezis sırasında ise yeni kapillerlerin büyümesi uyarılmaktadır (24). VEGF, 32-46 kilodalton (kD) solubl dimerik bir proteindir. Endotel hücrelerine karşı spesifik bir mitojen ve kemotaktiktir, vasküler permeabiliteyi de artıran bir faktör olarak rol oynar. VEGF birçok insan tümöründe gösterilmiş ve tümör anjiyogenezisinde önemli rolü olduğu belirlenmiştir (25).

VEGF ekspresyonu, bazı solid tümörlerde mikrodamar dansitesi ve metastaz gelişimiyle korelasyon göstermektedir (26-28).

Malign melanomda (29) ve invaziv meme kanserinde (30) metastaz olasılığı ile anjiyogenezis intensitesi arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir.

Serum VEGF'nin değişik kanserlerde, sağlıklı kontrollere göre sıklıkla yükseldiği gösterilmiştir (31). Primer meme kanserli hastalarda serum VEGF'nin yüksek olduğu ve tümör çapı ile korelasyon gösterdiği bulunmuştur (32). Kolorektal kanserli hastalarda yüksek serum VEGF düzeylerinin tümör ikilenme zamanı (*doubling time*) kısa olan hastalarda görüldüğü bildirilmiştir (33). Her ne kadar değişik tipte insan kanserlerinde serumda yüksek VEGF düzeyleri saptanıyorsa da bunun klinik önemi hakkındaki bilgi birikimi yetersizdir. Ayrıca, insan kanserlerinde serum VEGF'nin prognostik değeri ile ilgili bilgi de çok azdır.

Tümör Angiogenezinin Prognostik Önemi

Vasküler sistemde artış, tümör hücrelerinin dolaşıma geçişlerini arttırdığı gibi muhtemelen metastaz oranını da arttırmaktadır. Bir çok tümör türünde mikroskobik alandaki küçük damar sayısının metastaz ile doğru, sağ kalım ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir (34). Ancak angiogenezis “occult” metastatik hastalıklı hastaları veya muhtemel uzak metastazlı hastaları belirleme amaçlı kullanılması düşüncesi pek de gerçekçi değildir. Çünkü 1) İnsan tümörleri heterojendirler ve değişik biyolojik özellikler taşıyan hücre subpopulasyonlarından oluşurlar. 2) Metastaz olayı birbirleri ile ilişkili ancak bağımsız basamaklar zincirinden oluşurlar. Örneğin angiogenezi yoğun bir şekilde indükleyen tümör hücreleri dolaşımda sağ

kalmayabilir veya uzak organda proliferasyon olmayabilir ve sonuçta metastaz oluşturmayabilirler. Bu durumda angiogenez metastaz için gerekli bir aşama olup tek başına yeterli değildir. 3) Her ne kadar tüm angiogenik tümörler metastaz yapmasa da angiogenez inhibitörleri tümör hücrelerinin primer ve sekonder bölgelerde büyümesini önlemektedir.

Yüksek angiogenezi olan tümörler daha sonra metastaz gelişimi ile ilişkili olabileceğinden bu hastaların adjuvan tedaviden en fazla faydalanacak hastalar olarak belirlenebilir. Akciğer kanserinde yüksek angiogenez indeksi olan hastalarda adjuvan tedavinin sağ kalımı arttırdığı, ancak angiogenez indeksi düşük olanlarda sağ kalım farkı yaratmadığı görülmüştür (35). Ancak yüksek angiogenik indeksi olan tümörlerin adjuvan tedaviden fayda göreceği görüşü yaygın değildir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada meme kanserli hastalarda düşük VEGF ekspresyonu olan hastalar adjuvan tedaviye sekonder olarak daha iyi sağ kalım sağladıkları gösterilmiştir (36). Yüksek angiogenik indeksli tümörler biyolojik olarak hastalığın daha agresif bir varyantını temsil eder ki bu varyantta konvansiyonel adjuvan tedaviler etkili olamayabilirler. Belki bu hastalarda antiangiogenik tedaviler endikedir.

HASTALAR ve YÖNTEM

Testis tümörü nedeniyle Şubat 2002 ile Mayıs 2004 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda testis tümörü nedeniyle kliniğimize başvuran yaşları 18 ile 33 arasında değişmekte olup, yaş ortalaması 23 olan 26 hastaya radikal (inguinal) orşiektomi yapılmıştır.

Orkiektomisi öncesi serum vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) düzeyleri ölçülmüş ve orkiektomi spesmenlerinden immünohistokimyasal olarak VEGF ekspresyonu çalışılmıştır. Tüm immünohistokimyasal sonuçlar immün boyanma şiddeti (0,1,2,3) ve pozitif hücre yüzdesine (0,1,2,3,4) göre skorlanmış ve bu skorların çarpımıyla elde çarpıma da (0-12) doku VEGF boyanma skoru adı verilmiştir.

Hastalardan radikal orşiektomi öncesi detaylı anemnez alındı, fizik muayene ve rutin biyokimyasal testler, serum tümör belirteçleri, arka-ön akciğer grafisi tetkikleri yapıldı. Bilgisayarlı tomografi ile klinik evreler belirlendi.

Inguinal orşiektomi uygulamasından önce hastaların serumları alınarak serum VEGF düzeyleri VEGF ELISA kiti (R & D sistemleri, Minnesota, MN, USA) ile çalışıldı. Hastaların orşiektomi materyalleri immünohistokimyasal olarak VEGF İHK kiti (Neomarkers, JH121) ile 50'de 1 oranında dilüe edilerek aynı patolog tarafından değerlendirilmiştir.

Bu spesmenlerdeki VEGF ekspresyonu, dokudaki boyanma şiddeti ile pozitif boyanan hücre yüzdesinin çarpılmasıyla elde edilen boyanma skoruyla gösterilmiştir ki bu skorlama sistemi fakültemiz patoloji ana bilim dalımızca uygulanmış olan bir sistemdir. Dokudaki boyanma şiddeti: immün boyanma şiddeti 0, yok; 1, zayıf; 2, orta; 3, şiddetli olacak şekilde skorlanmıştır. Dokuda VEGF İHK kiti ile pozitif boyanan hücre yüzdesi ise: 0, yok; 1, 1-25%; 2, 26-50%; 3, 51-75%; ve 4, 76-100% olacak şekilde hesaplanmıştır. Boyanma şiddeti (0,1,2,3) ile boyanma yüzdesi (0,1,2,3,4) çarpılmasıyla elde edilen doku VEGF boyanma skoru 0 ile 12 arasında değerler almıştır ve hesaplamalarda bu skor göz önüne alınmıştır.

Hastaların orşiektomi öncesi alınan serum VEGF düzeyleri ile klinik evreler ve histopatolojik doku tanısı arasında bir ilişki olup olmadığı araştırıldı. Orşiektomi yapıldıktan sonra ise materyallerin histopatolojik değerlendirmelerine göre doku VEGF boyanma skorlarına bakılarak benzer şekilde klinik evre ve doku tanısıyla olan ilişkileri araştırılarak değerlendirilmeye alındı.

Hastaların takiplerinde anamnez, fizik muayene, rutin biyokimyasal tetkikler ve serum tümör belirteçleri, ön-arka akciğer grafisi, abdomen-pelvik ultrasonografi veya bilgisayarlı tomografi yapılarak olası metastaz ve nüksler takip edildi.

İstatistiksel Analiz:

Çalışmaya dahil edilen hastalar başlıca seminom ve non-seminomatöz testis tümörleri olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Non-seminomatöz testis tümörleri de kendi içinde alt histopatolojik tiplere ayrılarak irdelenmiştir.

Serum VEGF düzeyleri ve dokudaki VEGF ekspresyonu ile klinik evreler arasında gruplar arasındaki farkın değerlendirilmesinde “Chi-Square Test”, “Kruskal-Wallis Test” ve takip süreleri açısından farkın belirlenmesinde ise “Mann-Whitney U Test” kullanılmıştır.

BULGULAR

İnguinal radikal orşiektomi operasyonu yapılan 26 hastanın 9'u (%34,6) seminom, 17'si (%65,4) non-seminomatöz germ hücreli testis tümörü olarak histopatolojik tanı aldı.

Klinik evrelere göre hasta dağılımı ise evre I, IIa, IIb, IIc ve III için sırasıyla 17, 1, 3, 2, 3 olarak bulundu (tablo 3).

Tablo 3. Klinik evrelere göre hasta dağılımı

Kl. Evre I	Kl. Evre IIa	Kl. Evre IIb	Kl. Evre IIc	Kl. Evre III
17	1	3	2	3

Hastalar klinik evre I, II ve III olarak gruplandırıldığında serum VEGF düzeyleri sırasıyla pg/ml olarak 20,34 ($\pm 10,8$); 39,73 ($\pm 35,5$) ve 20,12 ($\pm 4,8$) olarak bulundu ve istatistiksel olarak klinik evrelerle arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,811$). Aynı şekilde bu klinik evrelerle doku VEGF boyanma skorları karşılaştırıldığında sırasıyla 2,75 ($\pm 1,3$); 4,83 ($\pm 2,4$) ve 5,01 ($\pm 2,8$) olacak şekilde tedrici bir artış görülse de klinik evre ile boyanma skoru arasında korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,559$) (tablo 4).

Tablo 4. Hastaların klinik evre I, II ve III olarak ayrıldığında serum VEGF düzeyleri ve doku VEGF boyanma skorları

Klinik evre	Serum VEGF (pg/ml)	Doku VEGF Skoru
I	20,34 (\pm 10,8)	2,75 (\pm 1,3)
II	39,73 (\pm 35,5)	4,83 (\pm 2,4)
III	20,12 (\pm 4,8)	5,01 (\pm 2,8)
<i>p</i>	0,811	0,559

Tedavi ve takip açısından önemli olan klinik evre I ve I' den büyük olan hastalarda serum VEGF ve doku VEGF ekspresyonu açısından ilişki varlığı irdelendiğinde; evre I için serum VEGF düzeyleri 20,34 (\pm 10,8) pg/ml iken evre I' den büyük hastalarda bu düzey 33,19 (\pm 29,8) olarak bulundu ve istatistiksel anlam teşkil etmedi ($p=0,525$). Yine klinik evre I ve I' den büyük olan hastalarda doku VEGF boyanma skorları sırasıyla 2,75 (\pm 1,3) ve 5,11 (\pm 2,9) olacak şekilde artmakla beraber bu artış da istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,751$) (tablo 5).

Tablo 5. Klinik evre I ve I' den büyük olan hastalarda serum VEGF düzeyleri ve doku VEGF boyanma skorları

Klinik evre	Serum VEGF (pg/ml)	Doku VEGF Skoru
I	20,34 (\pm 10,8)	2,75 (\pm 1,3)
II-II	33,19 (\pm 29,8)	5,11 (\pm 2,9)
<i>p</i>	0,525	0,751

Çoklu istatistiksel analizlerde dikkat çeken en önemli bulgu; klinik evre I (n=3) ve I' den büyük (n=7) saf EC veya EC komponenti olan mikst tip non-seminomatöz testis

tümörlü 10 hastada, serum VEGF düzeyleri açısından klinik evreler arasında fark yok iken ($p=0,651$) doku VEGF boyanma skorları dolayısıyla VEGF ekspresyonları evre I ve I'den büyük tümörlerde sırasıyla 4 (± 0) ve 6,8 ($\pm 3,9$) olacak şekilde istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,009$) (tablo 6).

Tablo 6. Saf embriyonel karsinom (EC) ya da EC komponenti olan NSGHT tümörlü 10 hastanın serum VEGF düzeyleri ve doku VEGF boyanma skorları

Klinik evre	Serum VEGF (pg/ml)	Doku VEGF Skoru
Evre I (n=3)	22,43 ($\pm 15,2$)	4 (± 0)
Evre > I (n=7)	36,21 ($\pm 30,1$)	6,8 ($\pm 3,9$)
<i>p</i>	<i>0,651</i>	<i>0,009</i>

TARTIŞMA

Testis tümörleri nadir görülmekle birlikte, 15-35 yaş arası erkeklerde en sık görülen malign tümördür. Erkekteki tüm malign tümörlerin %1-2'sini kapsar (37). Tümörlerin %90-95'i germinal dokudan kaynaklanır (38). Testisin germ hücreli tümörleri saf seminom ve non-seminomatöz germ hücreli tümörler olarak sınıflandırılırlar.

Testis tümörlerinin histolojik yapısı bu tümörlerin seyrini belirleyen önemli bir faktördür. Seminomların %65-85'i klinik olarak testise lokalize iken, non-seminomatöz olanların %60-70'i belirgin metastazlarla müracaat eder (39).

Anjiogenez kanser biyolojisinde ve ilerlemesinde, aynı zamanda tüm bu faktörlere bağlı olarak da metastaz gelişiminde önemli bir basamaktır (40).

VEGF ilk olarak 1983 yılında ciltte damar geçirgenliğini artıran homodimerik 24-42 kD'luk bir protein olarak tanımlanmıştır (41). Ferrara ve Henzel 1989 yılında sığır folliküler karaciğer hücrelerinden hazırladıkları vasatta endotel hücreleri için var olan bir büyüme faktörü izole ettiler ve VEGF adını verdiler (42). Yine aynı yıl Leung, VEGF'nin büyüme ve diferansiyasyon için gerekli olduğunu bildirmiş ve VEGF'nin biyolojik önemi anlaşılmaya başlanmıştır (43).

VEGF birçok solid tümörde kötü prognostik faktör olduğu gösterilmiş ve anjiogenezin önemli basamaklarından biri olduğu kabul edilmiştir (44).

Germ hücreli testis tümörlü hastalarda yapılmış bir çalışmada VEGF ekspresyonunun normal testis dokularına oranla tümörlü testislerde daha yüksek olduğu bildirilmiş ve testis tümörlü hastalarda metastazı öngörmeye VEGF ekspresyonunun önemli olabileceği, bunun yanında prognostik bir faktör olarak ele alınabileceği önerilmiştir (45). Buna karşılık bahsedilen veriler, serideki hastaların uzun dönem takipleriyle henüz desteklenmediğinden bu sadece bir öneri gibi kalmış görünmektedir. Dolayısıyla VEGF'nin bu tür solid tümörlerde prognostik önemi hala net olarak bilinmemektedir.

VEGF ekspresyonunun anjiogenezde ve dolayısıyla da hastalık progresyonuyla doğru orantılı olduğu aşıkardır. Ancak daha öncede belirtildiği üzere prognostik önemi hakkında yeterli veri bulunmamaktadır.

VEGF ekspresyonunun testis tümörlü 80 hastada metastazla ilişkisini irdeleyen yayınlanmış bir çalışmada, VEGF ekspresyonunun anlamlı olarak tümörlü testislerde daha

yüksek olduğu gösterilmiş, yapılan multivariate analizlerde özellikle seminomda metastaz gelişimiyle anlamlı korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (46).

Literatürde yer alan bu çalışma verilerine yapmış olduğumuz bu çalışma ile testis tümörlerinde VEGF ekspresyonu ve bunun sonuçları ile ilişkili olarak başlıca iki ana hususta katkıda bulunmaktayız. Birincisi literatürde akciğer veya meme kanseri gibi diğer solid tümörlerde serum VEGF düzeyleriyle çalışmalar bildirilmişken testis tümörlerinde bu düzeyler hakkında bildirilmiş herhangi bir veri bulunmamaktadır.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre; serum VEGF düzeyleriyle testis tümörleri arasında anlamlı bir korelasyon kurulamamıştır. Buna rağmen klinik evre I ve I' den büyük tümörlerde serum VEGF düzeyleri sırasıyla 20,34 ($\pm 10,8$) pg/ml ve 33,19 ($\pm 29,8$) olarak bulunmuştur ($p=0,525$). Her iki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasının sebebinin hasta sayısının azlığına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Bunlara ek olarak başka bir faktöründe, parakrin bir mediatör olan VEGF'nin sistemik dolaşımında anlamlı düzeylere ulaşamayıp lokal bir faktör olarak kalmasıyla açıklayabiliriz. Bu görüşümüzün daha geniş sayıdaki serilerle desteklenebileceği umundayız.

Çalışmamız sonucu olarak ortaya çıkan ve literatüre yaptığımız ikinci katkı ise, saf embriyoner karsinom veya embriyoner karsinom komponenti içeren mikst tipteki non-seminomatöz testis tümörlerinde, klinik evre I ve I' den büyük tümörlü hastalarda doku VEGF ekspresyonu açısından anlamlı fark saptanmıştır. Klinik evre I olan hastalarda doku VEGF ekspresyonu klinik evre I' den büyük olan hastara oranla daha düşük bulunmuştur ($p=0,009$). Dolayısıyla evre I' den büyük hastalığı olan ve tümör patolojisinde tek başına veya diğer tümör komponentleriyle birlikte bulunan embriyoner karsinomlu hastalarda doku VEGF ekspresyonunun daha fazla olacağı akla getirilmesi gerektiğini ve prognozu öngörmede kötü bir prognostik faktör olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Özellikle embriyoner karsinomu olan NSGHTT'lü hastalarda doku VEGF skoru yüksekliği bu olgularda daha ileri klinik evreyi yansıtmaktadır. Tüm bu bulgular göz önüne alındığında embriyoner karsinom komponenti olan olgularda doku VEGF ekspresyonu metastazı öngörmede ek bir parametre olabilir.

Yukarda bahsedilen hasta grubunda doku VEGF ekspresyonu göz önüne alındığında NSGHTT' de VEGF' nin EC gibi kötü bir prognostik faktör olarak kullanılabileceği ve metastazı öngörmede bir prediktör olabileceği fikri konusunda literatüre katkı sağladığını

düşünmekteyiz, ancak bu bulguların daha geniş sayı ve çaptaki serilerle desteklenmesi konusunda da hemfikiriz.

Aynı zamanda bu veriler klinik pratikte de kullanıldığında oldukça faydalı olabilir. Şöyle ki, doku VEGF skor yüksekliği ile birlikte embriyoner karsinomu olan NSGHT tümörlü hastalara hastalık hakkında yeterli bilgiler verilmeli, yakın takibin önemi vurgulanmalı ve daha sonra çıkabilecek olası sorunlarda hastayla paylaşarak yakın takipte hasta uyumu sağlanmalıdır.

SONUÇLAR

1. Testis tümörleri klinik evre I,II ve III olacak şekilde sınıflandırılıp serum VEGF ve doku VEGF ekspresyon düzeylerine bakıldığında, klinik evrelerle bu düzeyler arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır ve “*p*” değerleri sırasıyla 0,811 ve 0,559 bulunmuştur.

2. Benzer şekilde serum ve doku VEGF ekspresyonları, klinik evre I ve I’ den büyük evreler için araştırıldığında da anlamlı korelasyon gösterilememiş olup “*p*” değerleri sırasıyla 0,525 ve 0,751 olarak hesaplanmıştır.

3. Klinik evre I ve I’ den büyük saf EC veya EC komponenti olan mikst tip non-seminomatöz testis tümürlü hastalarda, serum VEGF düzeyleri açısından klinik evreler arasında fark yok iken ($p=0,651$) doku VEGF ekspresyonları açısından evreler arasında anlamlı ilişki bulunmuştur ($p=0,009$).

4. Özellikle embriyoner karsinomu olan NSGHT tümürlü hastalarda doku VEGF skoru yüksekliği bu olgularda daha ileri klinik evreyi yansıtmaktadır. Dolayısıyla bu gruba giren hastalar yakından takip edilmeli ve hasta bilgilendirilmesi de sağlanıp hastanın takibe uyumu sağlanmalıdır.

5. Aynı şekilde doku VEGF ekspresyon düzeyi, NSGHT tümörlerinde embriyoner karsinom komponentinin kötü bir prognostik faktör olması gibi benzer şekilde kötü bir prognostik faktör olarak kullanılabilir, bu şekilde olası metastazı öngörmede ek bir parametre olarak göz önüne alınabilir. Klinik evre I hastalarda yüksek doku VEGF skoru varlığında bu hastaların olası mikrometastazlar açısından daha dikkatli bir incelemeye tabi tutulması gerekmektedir. Bu grup hastalarda nüks ve metastaz açısından VEGF nin prediktif değerini ortaya koymak adına daha geniş çap ve sayıda serilere ihtiyaç olduğu aşikardır.

ÖZET

GERM HÜCRELİ TESTİS TÜMÖRLÜ HASTALARDA VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN PROGNOSTİK FAKTÖR OLARAK TANI VE KLİNİK EVRE İLE ARASINDAKİ İLİŞKİ

Amaç: Tümör ve metastaz gelişiminde anjiogenezin önemli rolü vardır. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) solid tümörlerdeki anjiogenezde ve hastalık progresyonunda rol alan bir faktördür. Daha önce yapılan çalışmalarda testis tümörlerinde VEGF ekspresyonunun klinik evre ve sağ kalıma etkisi konusunda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Bu çalışmada testisin germ hücreli tümörlerinde VEGF'nin klinikopatolojik bulgularla ilişkisi araştırılmıştır.

Hastalar ve yöntem: Testis tümörü nedeniyle 2002 ve 2004 yılları arasında kliniğimizde orkiektomisi yapılan ardışık 26 hastada, orkiektomi öncesi serum VEGF düzeyleri ölçülmüş ve orkiektomi spesmenlerinden immünohistokimyasal olarak VEGF ekspresyonu çalışılmıştır. Tüm immünohistokimyasal sonuçlar pozitif hücre yüzdesi ve immün boyanma şiddetine göre skorlanmış ve skorlar 0 ile 12 arasında değişmiştir.

Bulgular: Hastalardan 9'u seminom, 17'si nonseminomatoz testis tümörü (NSGHTT) idi. Klinik evrelere göre hastaların dağılımı ise; evre I, IIa, IIb, IIc ve III için sırasıyla 17, 1, 3, 2 ve 3 idi. Serum VEGF düzeyleri ve doku VEGF skorları ile klinik evreler arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0.811$, $p=0.559$). Hastalar klinik evre I ve evre I'den büyük olarak ayrıldığında da serum ve doku VEGF düzeyleri ile evreler korele değildi ($p=0.525$, $p=0.751$). Yalnızca saf embriyonel karsinom (EC) yada EC komponenti olan NSGHTT'lü 10 hastada klinik evre ile doku VEGF skorları arasında anlamlı ilişki bulundu ($p=0.009$).

Sonuçlar: Serum VEGF düzeyleri ve doku VEGF skorları klinik evreler ile korele bulunmamıştır. Özellikle EC'ü olan NSGHTT'lü hastalarda doku VEGF skoru yüksekliğinin daha ileri klinik evreyi yansıttığı görülmüştür. Doku VEGF skor yüksekliği evre I NSGHTT'de EC hakimiyeti gibi bir risk faktörü olarak rol alabilir.

Anahtar Kelimeler: germ hücreli tümör, metastaz, testis, VEGF

ABSTRACT

THE RELATION BETWEEN VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR AND THE DIAGNOSIS AND CLINICAL STAGE IN PATIENTS WITH TESTICULAR GERM CELL TUMORS AS A PROGNOSTIC FACTOR

Goals: Angiogenesis is essential for tumor growth and metastasis. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is involved in increased angiogenic activity and disease progression in solid tumors. The effect of VEGF expression with testis tumors on the clinical stage and survival is contradictory in recent studies. We evaluated the relationship between VEGF and the clinicopathologic findings of the testicular germ cell tumors in this study.

Patients and Methods: In this study, 26 patients between 2002 and 2004 who treated by radical orchiectomy due to testis tumor were included. Serum VEGF levels before the procedure and the VEGF expression on the orchiectomy specimens were recorded immunohistochemically. All immunohistochemical results were scored due to positive cell percentage and the severity of immun staining. These scores are ranged from 0 to 12.

Results: nine of the patients were seminomas while 17 were non-seminomatous germ cell testicular tumors (NSGCT). Seventeen patients were clinically stage I, 1 was stage IIa, 3 were stage IIb, 2 were stage IIc and 3 were stage III. No statistically difference was found between the serum and the tissue VEGF expression with clinical stages ($p=0.811$, $p=0.559$). when the patients were divided into two groups as clinical stage I and higher stages, no correlation was found between these two parameters ($p=0.525$, $p=0.751$). only in patients with pure Embryonal carcinoma (EC) or mix tumors including EC, statistical difference was found between tissue VEGF scores ($p=0.009$).

Conclusion: No correlation was found between serum VEGF levels and the tissue VEGF scores with the clinical stages. The higher tissue VEGF scores in the NSGCT patients with EC component reflects the high clinical stages. Tissue VEGF score levels can be used as a prognostic risk factor as EC in the patients with clinical stage I NSGCT tumors.

Anahtar Kelimeler: germ cell tumor, metastasis, testis, VEGF

KAYNAKLAR

1. Zdeb, Weaver HB. The graphoanalytic approach to selecting life insurance salesmen. *J Appl Psychol.* 1967 Jun;51(3):295-9
2. Sokal M, Peckham MJ, Hendry WF. Bilateral germ cell tumours of the testis. *Br J Urol.* 1980 Apr;52(2):158-62.
3. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin.* 2000 Jan-Feb;50(1):7-33.
4. Clemmesen J. Epidemiology in the diagnosis of cancer *Internist (Berl).* 1975 May;16(5):193-8
5. Muir CS, Nectoux J. Epidemiology of cancer of the testis and penis. *Natl Cancer Inst Monogr.* 1979 Nov;(53):157-64
6. Whitaker RH. The undescended testis - the risk of malignant degeneration. *Monogr Paediatr.* 1981;12:104-8
7. Berthelsen JG, Skakkebaek NE, von der Maase H, Sørensen BL, Mogensen P. Screening for carcinoma in situ of the contralateral testis in patients with germinal testicular cancer. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1982 Dec 11;285(6356):1683-6.
8. Martin DC. Germinal cell tumors of the testis after orchiopexy. *J Urol.* 1979 Apr;121(4):422-4.
9. Batata MA, Chu FC, Hilaris BS, Whitmore WF, Golbey RB. Testicular cancer in cryptorchids. *Cancer.* 1982 Mar 1;49(5):1023-30.
10. Coscrove MD, Benton B, Henderson BE. Male genitourinary abnormalities and maternal diethylstilbestrol. *J Urol.* 1977 Feb;117(2):220-2.
11. Rothman KJ, Louik C. Oral contraceptives and birth defects. *N Engl J Med.* 1978 Sep 7;299(10):522-4
12. Schottenfeld D, Warshauer ME, Sherlock S, Zauber AG, Leder M, Payne R. The epidemiology of testicular cancer in young adults. *Am J Epidemiol.* 1980 Aug;112(2):232-46
13. Henderson BE, Benton B, Jing J, Yu MC, Pike MC. Risk factors for cancer of the testis in young men. *Int J Cancer.* 1979 May 15;23(5):598-602.
14. Butch AW & Pappas AA: Tümör markers. In; Tretz Textbook of Clinical Biochemistry 2.Edition. Eds. Burtis CA & Ashwood ER, Saunders Company, USA, pp;483-500,1994

15. Chon DW & Sell S: Tümör markers. İn: Tietz Textbook of Clinical Biochemistry. 2. Edition. Eds: Burtis CA & Ashwood ER. Saunders Company, USA, pp: 483-500, 1994
16. Kimbrough JC, Cook FE Jr: Carcinoma of the testis. JAMA. 1953;153: 1436
17. Studer UE, Burkhard FC, Sonntag RW. Risk adapted management with adjuvant chemotherapy in patients with high risk clinical stage i nonseminomatous germ cell tumor. J Urol. 2000 Jun;163(6):1785-7.
18. Birch R, Williams S, Cone A, Einhorn L, Roark P, Turner S, Greco FA. Prognostic factors for favorable outcome in disseminated germ cell tumors. J Clin Oncol. 1986 Mar;4(3):400-7.
19. Einhorn LH, Williams SD, Troner M, Birch R, Greco FA. The role of maintenance therapy in disseminated testicular cancer. N Engl J Med. 1981 Sep 24;305(13):727-31.
20. Vugrin D, Whitmore WJ Jr, Batata M. Chemotherapy of disseminated seminoma with combination of cis-diamminedichloroplatinum (II) and cyclophosphamide. Cancer Clin Trials. 1981 Winter;4(4):423-7
21. Debono DJ, Heilman DK, Einhorn LH, Donohue JP. Decision analysis for avoiding postchemotherapy surgery in patients with disseminated nonseminomatous germ cell tumors. J Clin Oncol. 1997 Apr;15(4):1455-64.
22. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis, Semin Oncol 2002;6 Suppl 16:15-8
23. Auerbach W, Auerbach R. Angiogenesis inhibition: a review. Pharmacol Ther 1994;63:265-311
24. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. Cell 1996; 86: 1096-1103
25. Dvorak HF, Brown LF, Delmar M, Dvorak M. Vascular permeability factor/ vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. Am J Pathol 1995; 146: 1029-1039
26. Takahashi Y, Kitadai Y, Bucana CD, Cleary KR, Ellis LM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, correlates with vascularity, metastasis, and proliferation of human colon cancer. Cancer Res 1995;55: 3964-8
27. Crew JP, O'Brien T, Bradburn M, Fuggle S, Bicknell R, Cranston D, et al. Vascular endothelial growth factor is a predictor of relapse and stage progression in superficial bladder cancer. Cancer Res 1997;57:5281-5

28. Gasparini G, Toi M, Gion M, Verderio P, Dittadi R, Hanatani M, et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein in node-negative breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:139–47
29. Ohta Y, Watanabe Y, Murakami S, et al. Vascular endothelial growth factor and lymph node metastasis in primary lung cancer. *British Journal of Cancer* 1997; 76: 1041-1045
30. Fontanini G, Vignati S, Lucchi M, et al. Neoangiogenesis and p53 protein in lung cancer: their prognostic role and their relation with vascular endothelial growth factor (VEGF) expression. *Br J Cancer* 1997; 75: 1295-130
31. Srivastava A, Laidler P, Davies RP, et al. The prognostic significance of tumor vascularity in intermediate-thickness (0.76-4.0 mm thick) skin melanoma: a quantitative histologic study. *Am J Pathol* 1988; 133: 419-423
32. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 324: 1-8
33. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, et al. Relation of neovascularisation to metastasis of non-small-cell lung cancer. *Lancet* 1992; 340: 145-146
34. Offersen BV, Pfeifler P, Hamilton Dutoid S, Overgaard j, Patterns of angiogenesis in non-small-cell lung carcinoma. *Cancer* 2001;91:1500-9
35. Angeletti CA, Lucchi M, Fontenini G, et al. Prognostic signijcence of tumoral angiogenesis in completely resected late stage lung carcinoma (stage 111A-N2): impact of adjuvant therapies in a subset of patients at high risk of recurrence. *Cancer* 1996;78:409-15
36. Gasparani G, Toi M, Miceli R, et al. Clinical relevonce of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphory lase in patients with either adjuvant chemotherapy or hormone therapy. *Cancer J Sci Am* 1999;5:101-11
37. DeCastro BJ, Peterson AC, Costabile RA. A 5-year followup study of asymptomatic men with testicular microlithiasis. *J Urol*. 2008 Apr;179(4):1420-3; discussion 1423. Epub 2008 Mar 4.
38. Walsh TJ, Dall'Era MA, Croughan MS, Carroll PR, Turek PJ. Prepubertal orchiopexy for cryptorchidism may be associated with lower risk of testicular cancer. *J Urol*. 2007 Oct;178(4 Pt 1):1440-6
39. Beck SD, Cheng L, Bihrlle R, Donohue JP, Foster RS. Does the presence of extranodal extension in pathological stage B1 nonseminomatous germ cell tumor necessitate adjuvant chemotherapy? *J Urol*. 2007 Mar;177(3):944-6.

40. Fukuda S, Shirahama T, Imazono Y, Tsushima T, Ohmori H, Kayajima T, Take S, Nishiyama K, Yonezawa S, Akiba S, Akiyama S, Ohi Y. Expression of vascular endothelial growth factor in patients with testicular germ cell tumors as an indicator of metastatic disease. *Cancer*. 1999 Mar 15;85(6):1323-30.
41. Senger DR, Galli SJ, Dvorak M, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*. 1983 Feb 25;219(4587):983-5
42. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989 Jun ;161(2):851-8
43. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*. 1989 Dec 8;246(4935):1306-9
44. Takahashi Y, Kitadai Y, Bucana CD, Cleary KR, Ellis LM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, correlates with vascularity, metastasis, and proliferation of human colon cancer. *Cancer Res*. 1995 Sep 15;55(18):3964-8.
45. Viglietto G, Romano A, Manzo G, Chiappetta G, Paoletti I, Califano D, Galati MG, Mauriello V, Bruni P, Lago CT, Fusco A, Persico MG. Upregulation of the angiogenic factors PlGF, VEGF and their receptors (Flt-1, Flk-1/KDR) by TSH in cultured thyrocytes and in the thyroid gland of thiouracil-fed rats suggest a TSH-dependent paracrine mechanism for goiter hypervascularization. *Oncogene*. 1997 Nov 27;15(22):2687-98.
46. Fukuda S, Shirahama T, Imazono Y, Tsushima T, Ohmori H, Kayajima T, Take S, Nishiyama K, Yonezawa S, Akiba S, Akiyama S, Ohi Y. Expression of vascular endothelial growth factor in patients with testicular germ cell tumors as an indicator of metastatic disease. *Cancer*. 1999 Mar 15;85(6):1323-30.