

İNVAZİF SERVİKS KARSİNOMLARINDA ANJİOGENEZİN PROGNOSTİK FAKTÖRLER ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Özlem SARAYDAROĞLU*, Dr. Semra ÖZUYSAL*, Dr. Tufan BİLGİN**

ÖZET: İnvaziv servikal karsinomda anjiogenezis ile sürvi ve klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki değerlendirildi. 1995-2000 yılları arasında servikal karsinom tanısı almış 55 olgu çalışmaya dahil edildi. Olguların 11' inde (%20) punch biyopsi; altısında (%10.9) total abdominal histerektomi, 38' inde (%69.1) Wertheim operasyonu yapılmıştı. İmmünohistokimyasal olarak Faktör VIII-related antijen ekspresyonu incelendi. Küçük büyütmede (x100) mikrodamarlanmanın en fazla olduğu alan belirlenerek, büyük büyütmede (x400) yapılan sayımla her tümörün mikrodamar dansitesi mikrodamar dansitesi saptandı. Mikrodamar dansitesi değerleri yüksek, orta ve düşük gruplar şeklinde değerlendirildi. İstatistiksel analizler yapıldı. Mikrodamar dansitesi artışı ile lenf nodu metastazı arasında pozitif bir ilişki bulundu ($p<0.05$). Mikrodamar dansitesi artışı ile yaş, tümör çapı, histopatolojik tip, grade ve klinik evre arasında farklılık saptanmadı. Düşük, orta ve yüksek gruplardaki mikrodamar dansitesi değerleri arasında anlamlı bir farklılık yoktu. Sonuç olarak servikal karsinomlarda artmış anjiogenezisin, lenf nodülü metastazı ile ilişkili olduğu ve metastatik potansiyeli belirlemede faydalı bir prognostik parametre olabileceği kanısına varıldı.

ANAHTAR KELİMELEER: Servikal karsinom, anjiogenezis, mikrodamar dansitesi, metastaz

SUMMARY: THE EFFECT OF ANGIOGENESIS TO THE PROGNOSTIC FACTORS IN INVASIVE CERVIX CARCINOMAS: Association among angiogenesis, survival and clinicopathologic parameters in invasive cervical carcinoma was evaluated. 55 patients who had been diagnosed as cervical carcinoma, from 1995 to 2000, were included in the study. Punch biopsies were performed in 11 (20%) of the cases and Wertheim operation was performed in 44 (80%) of the patients. Factor VIII-related antigen expression was examined using immunohistochemistry. The area with the most intensified microvasculature was determined under low-power (x100) magnification, and the count of this area under high-power (x400) magnification was determined as microvessel density (MVD) of the tumor. The value of MVD was grouped as high, middle and low. Statistical analysis was performed. There was positive correlation between MVD increase and lymph node metastasis ($p<0.05$). There were no differences between MVD and age, dimension of the tumor, histopathological type, grade and clinical stage. No significant difference was established between the groups with low, moderate and high MVD. In conclusion, we agree that in cervical carcinomas, increased angiogenesis is associated with lymph node metastasis and it can be a beneficial prognostic parameter in predicting metastatic potential of cervical carcinoma.

KEYWORDS: Cervical carcinoma, angiogenesis, microvessel density, metastasis

GİRİŞ

Anjiogenez, mevcut olan vasküler ağdan yeni kapillerlerin gelişmesidir (1,2,3).

Menstrüasyon, ovulasyon, gebelik, prenatal ve postnatal doku gelişimi ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik durumların yanı sıra, enflamasyon, dejeneratif ve metabolik hastalıklar ile neoplaziler gibi patolojik olaylarda önemli bir rol oynamaktadır (1,2,4-6). Fizyolojik anjiogenez, düzenleyici parakrin uyarılar tarafından kontrol altında tutulur. Tümörlerde gözlenen patolojik anjiogenez ise devamlı ve ilerleyicidir (7).

Anjiogenez, spesifik stimülatör (anjiogenik) moleküller ile başlatılır ve spesifik inhibitör (anjiostatik) moleküller tarafından durdurulur. Anjiogenik ve anjiostatik moleküller endotel hücre döngüsü sırasında devamlı olarak ve birlikte faaliyet gösterir (8).

Anjiogenez, tümör hücrelerinin beslenmesini ve metabolik ürünlerin taşınmasını kolaylaştırmaktadır. Tümör çevresindeki kapillerlerdeki defektif yapı ve sızıntıdan dolayı malign hücrelerin invazyonu kolaylaşmaktadır. Yani metastaz süreci, yeni kapillerlerin bazal membranındaki parçalanma ve sızıntı sayesinde gerçekleşmektedir (9). Tümör damarlanmasındaki artış dolaşıma daha fazla hücrenin girmesine izin vermektedir (10).

Anjiogenez, tümör büyümesi ve metastaz için anahtar rol oynayan bir faktördür (11-15). Mikrodamar yoğunluğu (MDD) tümör anjiogenezinin bir ölçütü olup, tümör tipleri-

nin bir çoğunda metastazın tahmin edilebilmesinde prognostik öneme sahiptir (15,16).

GEREÇ VE YÖNTEM

1995-2000 yılları arasındaki Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivi tarandı ve serviks karsinomu tanısı almış 55 olgu çalışma kapsamına alındı.

Olgular yaş, tümör boyutu, tümör tipi, klinik evre, histolojik grade, lenf nodu tutulumu ve sürviye göre sınıflandırıldı. Olguların yaş, tümör boyutu ve klinik evrelerine ait bilgiler biyopsi raporları ve klinik dosyalarından elde edildi. Tüm olguların Hematoksilen-Eozin (H.E) ile boyalı kesitleri tanı, histolojik grade ve lenf nodülü tutulumu açısından yeniden değerlendirildi. Tanı ve gradelemede WHO kriterleri (17) kullanıldı. Olgular FIGO klinik evreleme (18) protokolüne uygun olarak evrelendirilmişti.

H.E. ile boyalı kesitlerin incelenmesinde her olgu için tümör-stroma ilişkisini en iyi gösteren preparat seçildi ve bu preparatın patoloji arşivindeki parafin bloğundan yapılan kesitlere Streptavidin-Biotin tekniği ile Faktör VIIIrAg immünohistokimyasal boyaması uygulandı.

Mikrodamar yoğunluğunu belirlemede, pek çok çalışmada olduğu gibi Weidner ve ark.'nın ortaya koyduğu yöntem kullanıldı (19). Işık mikroskopu altında her olguya ait preparatlar tarandı ve FVIIIrAg ile kahverengi boyanan kapillerler ve venüller gözlemlendi. Tümörlerin sahip oldukları mikrodamarların dağılımı heterojen olduğu için, küçük büyütmede (40x ve 100x) en yoğun damarlanma gösteren tümöre bitişik alan (hot spot) seçildi. En yoğun boyanma gösteren alanlardaki pozitif boyanan mikroda-

* Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

** Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi KHD Anabilim Dalı

(The Turkish Journal of Pathology)

marlar büyük büyütmede (400x) oküler mikrometre (Zeiss-Netzmicrometer 134008) yardımı ile sayıldı. Tek tek boyanan ya da kümeler oluşturmuş endotel hücreleri de sayıma dahil edildi. Pozitif boyanan tek tek ya da kümeler oluşturmuş hücreler eğer lümenleri gözlenemiyorsa, ayrı mikrodamarlar olarak kabul edildi. Sayma işlemi farklı zamanlarda iki kez yapıldı. Her olgu için iki sayımda elde edilen değerlerin ortalaması alındı ve bulunan değer, o tümörün mikrodamar dansitesi (MDD) olarak belirlendi.

MDD'si 15'in altında olanlar düşük, 15 ve 30'un arasındakiler orta ve 30'un üzerindekiiler yüksek yoğunluklu olarak gruplandırıldı. (Resim 1, 2, 3)

Elde edilen MDD değerleri, yaş, tümör boyutu, tümör tipi, klinik evre, histolojik grade, lenf nodu tutulumu ve sağ kalım süresi ile korele edildi. Klinikopatolojik parametrelerin MDD ile karşılaştırılmasında, istatistiksel olarak Mann-Whitney ve Kruskal-Wallis testleri, anjiyogeneze ve sağkalım süreleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmede Kaplan-Meier metodu kullanıldı. Total sürvi, başlangıç cerrahi ile en son takip arasında geçen zaman olarak kabul edildi.

BULGULAR

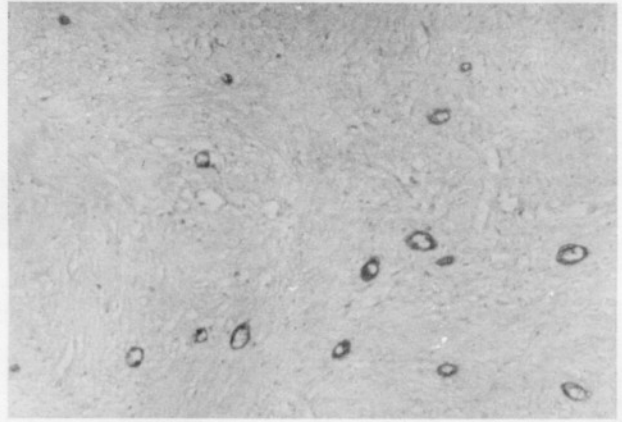
Olguların 23'ü (% 41.9) keratinize, 23'ü (%41.9) non-keratinize yassı epitel hücreli karsinom, 7'si (%12.7) adenokarsinom (2'si müsinöz, 2'si endometrioid, 1'i villoglandüler, 2'si spesifiye edilmemiş), 2'si (%3.5) glassy hücreli karsinom idi.

Olguların yaşları 37-72 arasında değişmekte olup, ortalama 49'du. Tümör boyutu belirlenirken, her olgu için en büyük çap dikkate alındı. Olgular içinde en büyük tümör çapı 7 cm, en küçük tümör çapı ise 0.3 cm idi. Olguların 11'ine (%20) punch biyopsi, 6'sına (%10.9) total abdominal histerektomi (TAH), 38'ine (%69.1) Wertheim operasyonu yapılmış olup, biyopsi yapılan 11 olgunun tümör boyutuyla ilgili bilgi edinilemedi. Klinik evrelemede 40 olgu (%72.7) evre I, 12 olgu (%21.8) evre II, 3 olgu (%5.5) evre III idi. Evre IV olgu mevcut değildi. Olguların 19'u (%34.5) grade 1, 25'i (%45.5) grade 2, 11'i (%20) grade 3 olarak değerlendirildi. Wertheim prosedürü içinde pelvik-periaortik lenf nodülü diseksiyonu yapılan 38 olgunun 15'inde (%39.5) lenf nodülü metastazı saptandı. Kalan 23 (%60.5) olgunun lenf nodülleri benign reaktif özellikteydi. Başlangıç cerrahiden sonra olgular ortalama 28 ay (1-60) takip edildi. Olguların 8'inin operasyondan sonraki farklı süreler içinde rekürrens sonucunda öldüğü, 45'inin ise hastaliksiz olarak hayatta olduğu öğrenildi. Rutin poliklinik kontrollerine devam etmeyen 2 olgunun ise yaşam süreleri ile ilgili bilgiye ulaşamadı.

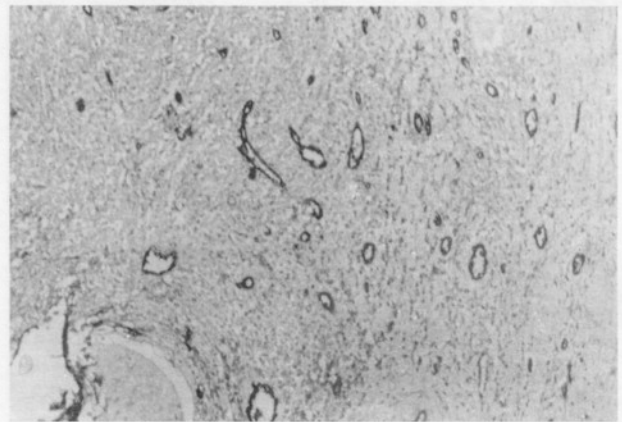
MDD 26 olguda (%47.3) düşük, 23 olguda (%41.8) orta, 6 olguda (%10.9) yüksek idi. Ortalama MDD 18.5 ± 11.5 (en düşük 6, en yüksek 64) olarak saptandı.

Olguların tümör tipine göre ortalama MDD'leri karşılaştırıldığında keratinize, nonkeratinize yassı epitel hücreli karsinom ve adenokarsinom tanıları almış olgular arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. ($p=0.28$, $p>0.05$) Glassy hücreli karsinom tanısı almış olan 2 olgu istatistiksel değerlendirmeye dahil edilmedi.

Evre I ve Evre II'deki olgular, ortalama MDD'si bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunama-



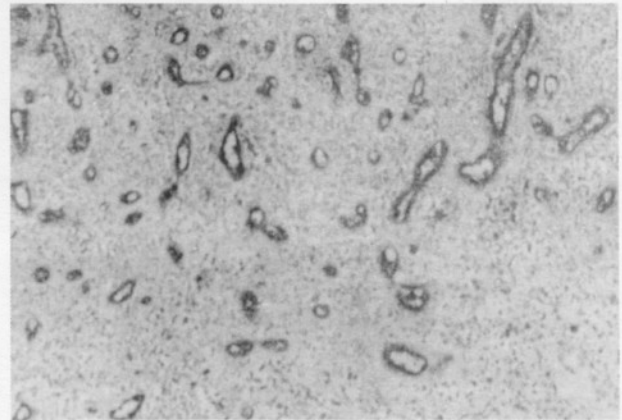
Resim 1: Düşük MDD'ne sahip olgulardan birinin mikroskopik görünümü (FVIIIrAg x100)



Resim 2: Orta derecede MDD'ne sahip olgulardan birinin mikroskopik görünümü (FVIIIrAg x100)

dı. ($p=0.85$, $p>0.05$) Evre III'deki olgu sayısı 3 olduğundan istatistiksel değerlendirmeye dahil edilmedi.

Histopatolojik olarak olguların ortalama MDD'si grade 1'den grade 3'e doğru artış göstermekle birlikte, üç histopatolojik grade arasında ortalama MDD bakımından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0.055$, $p>0.05$).



Resim 3: Yüksek MDD'ne sahip olgulardan birinin mikroskopik görünümü (F VIIIrAg x100)

TABLO 1: SERVİKAL KARSİNOMLU HASTALARDA ORTALAMA MİKRODAMAR SAYILARI

Özellikler	Hasta Sayısı	MDD	p
Histopatolojik Tip			0,28
Keratinize YEHK*	23	17.4±13.6	
Nonkeratinize YEHK	23	18.5±10	
Adenokarsinom	7	19.5±10.2	
Glassy hücreli karsinom	2	25.5±11.3	
Klinik Evre			0,85
I	40	16.3±8.5	
II	12	17.7±13.8	
III	3	39.5±6.8	
Histolojik Grade			0,055
1	19	15.4±10.9	
2	25	19.1±12.8	
3	11	22.3±9	
Lenf Nodülü Metastazı			0,007
Pozitif	15	22.6±10.3	
Negatif	23	15.7±12.5	
Sürvi			0,77
Sağ	45	18.6±1.7	
Yaşamıyor	8	18.3±4.7	

*Yassı epitel hücreli karsinom
MDD: Mikrodamar dansitesi

Lenf nodülü metastazı olan olgularla, lenf nodülü metastazı olmayan olgular ortalama MDD bakımından karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlendi ($p=0.007$, $p<0.05$).

Olguların tümör tipi, klinik evre, histolojik grade, lenf nodülü tutulumu ve sürviye göre MDD'leri tabloda gösterildi (Tablo 1).

Olguların farklı yaşlarda olmaları ve farklı tümör çaplarına sahip olmaları nedeniyle korelasyon analizi uygulandı. Buna göre yaş ve tümör çapları arasında ortalama MDD'leri bakımından korelasyon gözlemlenmedi.

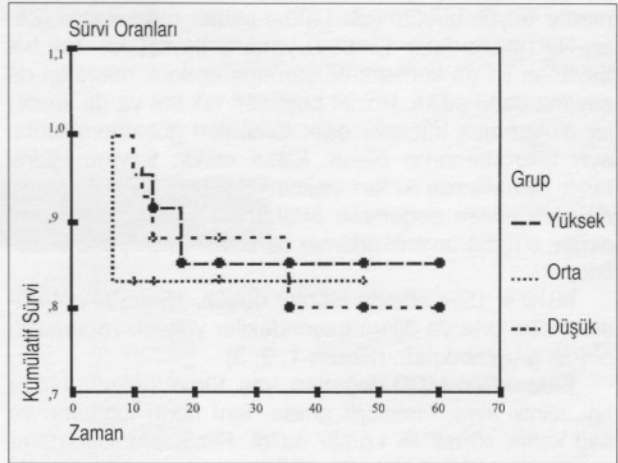
Sürviye göre ortalama MDD'leri karşılaştırıldığında sağ olan ve yaşamayan olgular arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0.77$, $p>0.05$).

Mikrodamar yoğunluğu ile sürvi arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiş olup, (Log Rank Test, $p=0.9$, $p>0.05$) figürde gösterildi (Şekil 1).

TARTIŞMA

Gelişmiş ülkelerde kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci en sık ölüm nedeni malign tümörlerdir (17). Tedavi alanındaki tüm gelişmelere karşın, prognozları halen oldukça kötü olan bu hastalıklarda, olguların çoğu primer tümörün lokal komplikasyonları ve metastazlar nedeniyle yaşamını yitirmektedir (20). Bu nedenle tümör büyümesi ve metastaz oluşumunda rol oynayan mekanizmalar oldukça önem taşımaktadır. Bu mekanizmaların en önemlilerinden biri olan anjiogenezin, tümör büyümesi, ilerlemesi ve metastazı için gerekli olduğu düşünülmüştür (4).

Son zamanlarda yapılan pek çok çalışmada değişik tümörlerde anjiogenezin bir göstergesi olan tümör içi damar dansitesi ile metastaz riski ve yaşam süresi arasında ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır (1, 2, 20, 21, 22).



Şekil 1: İnvaziv serviks karsinomunda düşük, orta, yüksek yoğunluktaki damarlanmaya göre sürvi oranları

Son yıllarda, kadın genital sistemindeki malignitelerde anjiogenezin değerlendirilmesi önem kazanmıştır. Anjiogenezin, jinekolojik malignitelerde, diğer malign hastalıklara benzer şekilde hastaların sürvisinde ve hastalığın ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. Vulva ve serviks yassı epitel hücreli karsinomları ile endometrium ve over adenokarsinomlarının anjiogenezi indüklemeye yeteneği olduğunu destekleyen kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır. Yapılan çalışmalarda, invaziv yassı epitel hücreli karsinomlu hastalarda anjiogenezin prognostik değeri olduğuna dikkat çekilmektedir (23).

Servikal kanserlerde cerrahiye giden bazı hastalar, tanı ve tedaviden birkaç ay sonra kaybedilirken, bazıları daha uzun süre yaşamakta ve daha geç dönemde metastazları oluşmaktadır. Bu nedenle serviks karsinomlarında yeni prognostik faktörlerin tanımlanmasına ihtiyaç duyulmuştur. Neoanjiogenezin, muhtemel lenf nodülü metastazını, hastalıksız dönemi, postoperatif adjuvant tedaviler gereken hastaları önceden belirleyebilir (24).

Yeni damarların gelişmesi, tümör oluşumunun tetiklenmesinde ve devamında, ayrıca normal epitelin kansere dönüşümünde oldukça önem taşıyan bir olaydır (25). Tjalma ve ark. 20 in situ ve 114 invaziv serviks karsinomlu olguda spesifik endotelial belirteç olan anti CD31'i kullanarak stromal neovaskülarizasyonu değerlendirmişler ve yüksek damar dansitesinin kötü prognozla birlikte olduğu sonucuna varmışlardır (26).

Obermair ve ark., erken evre serviks karsinomlu olgularda, yüksek mikrodamar yoğunluğunun hayatta kalma şansını ters yönde etkilediğini belirtmişlerdir (27).

Anjiogenezin, serviks kanserlerinde tümör büyümesi, yayılımı ve metastaz için oldukça önemli bir rol oynamaktadır (28, 29).

Wiggins ve ark.'nın 29 invaziv serviks karsinomlu olgudan oluşan çalışmasında prognostik faktörler, mikrodamar sayıları ile karşılaştırılmış ve vasküler invazyonlu hastalarda, invazyon olmayanlara göre mikrodamar sayılarının anlamlı bir şekilde arttığı gösterilmiştir (30).

Schlenger ve ark. evre IIB ve VIA servikal karsinomlu hastalarda anjiogenezi kantitatif olarak değerlendirmişler ve artmış mikrovaskülaritenin, serviksin invaziv yassı epitel hücreli karsinomunda bağımsız bir prognostik faktör

(The Turkish Journal of Pathology)

olabileceğine dikkat çekmişlerdir (31).

Dinh ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, serviksin evre IB yassı epitel hücreli karsinomunda, erken nüksün belirlenmesinde mikrodamarlanmanın sayılması amaçlanmıştır. Buna göre 11'i nüks gösteren toplam 22 olguda MDD nüks gözlenenlerde, nüks gözlenmeyenlere göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ve tümör içinde yüksek mikrodamar sayısının belirlenmesinin, yassı epitel hücreli karsinomlarda nükslerin önceden belirlenmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir (32).

Bremer ve ark. (9) erken evre serviks karsinomlu hastalarda, tümör anjiogenezi ile pelvik lenf nodu metastazı arasındaki ilişkiyi değerlendirmişler, lenf nodülü metastazı olan olguların MDD'sini, lenf nodülü metastazı olmayanlara göre anlamlı şekilde yüksek bulmuşlardır. Ayrıca düşük MDD'si olan olgulara kıyasla, yüksek MDD'si olan olgularda, nüks sonucu hastalıktan ölüm riskinde artış saptamışlardır. Bu nedenle pozitif pelvik lenf nodu gözlenen hastalar, rekürrens açısından riskli olarak değerlendirilmiş ve daha agresif tedavi yöntemleri seçilmesi gerektiği belirtilmiştir (9).

Çalışmamızda 55 olgunun ortalama MDD'si FVIII rAg immüno-histokimyasal boyası kullanılarak belirlenmiş, klinikopatolojik prognostik parametreler ve sağ kalım ile ilişkisi araştırılmıştır.

Çalışmamızda lenf nodülü tutulumu olan olgularla, olmayan olgular arasında MDD bakımından anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ve bu farklılık Bremer ve ark.'nın (9) yaptığı çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca serviks adenokarsinomlarında MDD, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yassı epitel hücreli karsinoma göre daha yüksek bulunmuştur. Buna benzer bir bulgu, Tokumo ve ark.'nın yaptıkları çalışmada da saptanmıştır (33).

Çalışmamızda yaş, tümör çapı, tümör tipi, klinik evre, histolojik grade ve sürvi ile anjiogenez arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Serviks kanserinde anjiogenezin klinikopatolojik parametrelerle ilişkisinin ve anjiogenezin serviks kanserinde bağımsız bir prognostik faktör olup olmadığının kesin olarak belirlenmesi için, bu konuda yapılacak daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yapılan çalışmalarda klinikle korelasyon gösteren parametreler, sadece tümörün biyolojik davranışını anlamamızı sağlamakla kalmayacak, aynı zamanda nüks riski olan hastaları tanımamıza, metastaz olasılığı ile yaşam süresini tahmin etmemize ve tedaviyi kişiselleştirmemize olanak tanıyacaktır. Ayrıca bu çalışmaların gelecekte, antiangiogenik tedavi için hasta seçiminde yol göstereceğine inanılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Pavlopoulos PM, Konstantinidou AE, Agapitos E, Kavantzaz N. A morphometric study of neovascularization in colorectal carcinoma. *Cancer* 1998; 83: 2067-2075.
2. Salcedo R, Wasserman K, Young H, Grimm M. Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor induce expression of CXCR4 on human endothelial cells in vivo neovascularization induced by stromal derived factor-1. *Am J Pathol* 1999; 154: 1125-1135.
3. Brem H, Folkman J. Analysis of experimental antiangiogenic therapy. *J Pediatr Surgery* 1993; 28: 445-451.
4. Abulafia O, Triest WE, Sherer D. Angiogenesis in squamous cell carcinoma in situ and microinvasive carcinoma of the uterine cervix.

- Obstet Gynecol 1996; 88: 927-932.
5. Mahadevan V, Hart IR. Metastasis and angiogenesis. *Acta Oncol* 1990; 29: 97-103.
6. Norrby K. Angiogenesis. New aspects relating to its initiation and control. *APMIS* 1997; 105: 417-437.
7. Logan A. Angiogenesis. *Lancet* 1993; 341: 1467-1468.
8. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biological Chemistry* 1992; 267: 10931-10934.
9. Bremer GL, Tiebosch A, Putten H, Schouten H, et al. Tumor angiogenesis: An independent prognostic parameter in cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 147: 126-131.
10. Davidson B, Goldberg I, Gotlieb WH, Lerner-Geva L, et al. Macrophage infiltration and angiogenesis in cervical squamous cell carcinoma-clinicopathologic correlation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78: 240-244.
11. Vartanian RK, Weidner N. Correlation of intratumoral endothelial cell proliferation with microvessel density (tumor angiogenesis) and tumor cell proliferation in breast carcinoma. *Am J Pathol* 1994; 144: 1188-1194.
12. Molecular Oncology Group. Antiangiogenesis for cancer. *The Lancet* 1997; 349:13-15.
13. Murray J, Carlston GW, Mc Laughlin K, Pennington M. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in laryngeal cancer. *Am J Surg* 1997; 174:523-526.
14. Lee CN, Cheng WF, Chen CA, Chu JS, et al. Angiogenesis of endometrial carcinomas assessed by measurement of intratumoral blood flow, microvessel density and vascular endothelial growth factor levels. *Obstet Gynecol* 2000; 96: 615-620.
15. Kaku T, Hirakawa T, Kamura T, Amada S, et al. Angiogenesis in adenocarcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1998; 83: 1384-1390.
16. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 1987; 235:442-447.
17. Natioal Cancer Control Programmes, 1 st ed. England. World Health Organization 1995; 5-13.
18. Pecorelli S, Odicino F. Cervical cancer staging. *Cancer J* 2003; 9: 390-394.
19. Weidner N. The relationship of tumor angiogenesis and emphasis on invasive breast carcinoma. *Advances in Pathology and Laboratory Medicine* 1992; 5:101-121.
20. Böhle AS, Kalthoff H. Molecular mechanism of tumor metastasis and angiogenesis. *Arch Surg* 1999; 384:133-140.
21. Weidner N, Carrol PR, Flax J, Blumenfeld W, et al. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostatic carcinoma. *Am J Pathol* 1993; 143:401-409.
22. 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.
23. Abulafia O, Triest WE, Sherer DM. Angiogenesis in malignancies of the female genital tract. *Gynecol Oncol* 1999; 72: 220-231.
24. Garozzo G, Caragliano L, Consalvo P, Torrisi AM, et al. Impact of neoangiogenesis on the survival of patients of patients with stage IB-IIIB cervical carcinoma. *Minerva Ginecologica* 2000; 52: 73-81.
25. Ravazoula P, Zolota V, Hatjicondi O, Sakellariopoulos G, et al. Assessment of angiogenesis in human cervical lesions. *Anticancer Res* 1996; 16: 3861-3864.
26. Tjalma W, Van Marck E, Weyler J, Dirix L, et al. Quantification and prognostic relevance of angiogenic parameters in invasive cervical cancer. *Br J Cancer* 1998; 78: 170-174.
27. Obermair A, Bancher-Todesca D, Bilgi S, Kaider A, et al. Correlation of vascular endothelial growth factor expression and microvessel density in cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89:1212-1217.
28. Pilch H, Schaffer U, Schlenger K, Hawighorst H, et al. Angiogenesis in cervical cancer. *Gynecol Obstet Fertil* 2000; 28: 29-37.
29. Hirakawa T, Kamura T, Kaku T, Amada S, et al. Prognostic significance of epithelial-stromal vascular cuffing and microvessel density in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1999; 74: 369-374.
30. Wiggins DL, Granai CO, Steinhoff MM, Calabresi P. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1995; 56: 353-356.
31. Schlenger K, Höckel M, Mitze M, Schaffer U, et al. Tumor vascularity: A novel prognostic factor in advanced cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1995; 59: 57-66.
32. Dinh TV, Hannigan EV, Smith E, Hove M, et al. Tumor angiogenesis as a predictor of recurrence in stage IB squamous cell carcinoma of the cervix. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 751-754.
33. Tokumo K, Kodama J, Seki N, Nakanishi Y, et al. Different angiogenic pathways in human cervical cancers. *Gynecol Oncol* 1998; 68: 38-44.