

TÜMÖRAL ANJİJENEZİS

Dr. Sema ÖZUYUSAL

ÖZET: Anjiogenezis üreme, gelişme ve onarımda temel bir süreçtir. Bu şekildeki fizyolojik anjiogenezis, sıkı bir kontrol altında tutulur. Neoplastik olaylarda görülen patolojik anjiogenezis, kan damarlarının sürekli büyümesidir, yani neovaskülarizasyon kontrolünden çıkmıştır. Bu derlemede anjiogenezisin tanımı, tarihsel gelişimi, anjiogenezise bağlı tümör gelişimi ve antiangiogenik ajanların gelecekte kansere karşı tedavide kullanımı ele alınmaktadır.

ANAHTAR KELİMELEER: Anjiogenezis, tümör, anjiogenik, anjiostatik, antiangiogenik tedavi

SUMMARY: TUMORAL ANGIOGENESIS. Angiogenesis is a fundamental process in reproduction, development and repair. Such physiologic angiogenesis is tightly regulated. Pathologic angiogenesis which is seen in neoplastic condition is the persistent growth of blood vessels, that is neovascularisation out of control. This review includes the definition and the historical background of angiogenesis, tumor development due to it, and the future use of antiangiogenic agents in anti-cancer therapy

KEY WORDS: Angiogenesis, tumor, angiogenic, angiostatic, antiangiogenic therapy

Anjiogenezis daha önceden mevcut damarlardan yeni kapillerlerin gelişmesidir. Fötal gelişim, inflamasyon, yara iyileşmesi, immun reaksiyonlar, neoplaziler gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda indüklenir (1-4). Anjiogenezis, tümör gelişimi ve ilerlemesinde gereklidir ve neoplastik süreçteki en önemli olaylardan biridir (4).

Anjiogenezisin gelişimi tipki kan pıhtılaşması gibi komplekstir. Yeni kapiller kan damarı üretimi, birbirini takip eden bir dizi basamak halinde gözlenir (5,6). Endotel hücreleri kan damarlarının kaynağıdır. Önemli bir çoğalabilme ve göç edebilme yetenekleri vardır. Ancak yeni kan damarı gelişimi için sadece endotel proliferasyonu yeterli değildir. Kapiller gelişimdeki morfolojik olaylar şunları içerir: Ana venüde bazal membranın endotel hücreleri tarafından indüklenen degradasyonu, diğer endotel hücreleri ile uyumlu olarak yönlendirilmiş bir hareket, endotelial mitoz, lümen formasyonu, tomurcuklanma ve loopların gelişimi, yeni bazal membran üretimi ve perisitlerin toplanması (7). Bu sıra, iyileşen bir yara ya da gelişmekte olan bir embriyodaki fizyolojik anjiogenezisin morfolojik basamaklarına benzerlik gösterir. Ancak tümörlerin çoğunda, yeni kapiller yatakta zorunlu bir modifikasyon oluşmasına bağlı olarak anjiogenezis nonneoplastik hücrelerin indüklediğinden farklılaşır. Örneğin normal bir beyinde bir kapiller kan damarı genellikle her bir lümen başına 1-2 endotel hücresi içerir. Oysa beyin tümörlerinde 5-10 endotel hücresi bir lümeni işgal edebilir (8). Hatta endotelial tabaka içerisinde tümör hücreleri içerebilirler (9). Tümör mikro damarlanması normal dokulardaki damarlanmaya uymaz (yani arter-arteriol-kapiller-postkapiller venül-venül-dizilimi yoktur). Tümörler dev kapillerler, araya giren kapillerler olmaksızın arteriovenöz shuntlar içerebilir. Hatta kan bir venülden diğerine akabilir. Ayrıca damarların organizasyonu tümörün herhangi bir lokalizasyonundan bir diğerine farklılık gösterebilir (9). Kapiller büyüme oranları (yani neovaskülarizasyonun hızı), deneysel sistem ve tümör tipi-ne bağımlı olarak, günde 0.23 ten 0.8 mm ye kadar değişkenlik gösterebilir (10-12).

Anjiogenezis kavramının tarihçesine baktığımızda yaklaşık 100 yıl önce tümör içerisinde yeni damar geli-

şimlerinden bahsedildiğini görmekteyiz. Ancak bu dönemde tümör hiperemisi olarak adlandırılan bu durumun, tümör metabolitlerine bağlı basit bir dilatasyon olduğu düşünülüyordu (13). Daha sonraki bir-iki dekatta, tümörün mevcut damarlarla mı beslendiği yoksa neovaskülarizasyon mu olduğu tartışılmış, neovaskülarizasyonu kabul edenler bile bunun tümör gelişimi için gerekli olmadığını, basit bir reaksiyon olduğunu düşünmüşlerdir. 1939 yılında, yaralanma sonucunda oluşan neovaskülarizasyonun durduğu ve gerilediği ancak tümör implantında damar gelişiminin giderek arttığı farkedilmiştir (14). 1945 yılında yapılan bir çalışmada ise, tümör implantındaki yeni damarların konakçı damarlarından köken aldığı belirtilmiştir (15). Anjiogenezis konusundaki asıl gelişim 1971'de Folkman ile başladığını görüyoruz (16). Folkman "tümör gelişimi anjiogenezise bağımlıdır" diyerek şu teorileri ortaya atmıştır:

- 1) Primer solid tümörlerin büyük bir çoğunluğunda muhtemelen uzamış bir avasküler evre vardır ve bu dönemde tümörler maksimum 1-2 mm çapa ulaşabilirler. Bu büyüklüğe kadar, tümör hücreleri, gerekli oksijen ve besin ihtiyacını pasif difüzyon ile karşılar.
- 2) Bu mikroskopik tümör kitlesi matür konakçı damarlarından kendisine doğru yeni kapiller damarların tomurcuklanması ve sonuçta tümör kitleyi infiltrate etmesine yol açan anjiogenezisi başlatabilir. Böylece tümör kitlenin sürekli olarak genişlemesi ve hematogen metastaz oluşturma ortamı oluşur.
- 3) Anjiogenezisin tümör hücrelerinden "Tümör Anjiogenezis Faktör (TAF)" adı verilen bir büyüme faktörünün ektopik olarak yapımına bağlı olduğu ortaya atılmıştır.
- 4) TAF yapımını ya da onun biyolojik fonksiyonunu önleyerek ya da yeni oluşan immatür kan damarlarındaki endotel hücrelerini hedef alarak tümör anjiogenezisi ve tümör büyümesini bloke etmek mümkün olabilir.
- 5) Bu tip tedavi yaklaşımları başarılı olursa, tümör hücrelerini eradike edemeyebilir; fakat tümör hücrelerinin daha da çoğalmasını engelleyebilir ya da belki de tümörün kan desteği olmaksızın yaşamını sürdürebileceği 1-2 mm lik boyutlara regresyonunu sağlayabilir.

Bundan sonraki yıllarda, tümör damarları yeni çoğalan kapillerler midir, anjiogenezis prosesindeki adımlar nelerdir, anjiogenezis nasıl kantifiye edilebilir, in vivo olarak

tümör hücrelerinden salınan anjiogenik faktörler endotel gelişimini nasıl stimüle eder gibi sorulara cevap aranmıştır. 1980 ortalarına gelindiğinde tümör gelişiminin anjiogeneze bağımlı olduğunu dair pek çok delil toplanmış, tümördeki yeni kapiller artışının tümör hücre popülasyonundaki her bir ilave artışa öncelik ettiği ve anjiogenezis inhibe edilirse tümörün durağan olarak kalacağı görüşleri kabul görmüştür (17,18). Ayrıca tümör hücreleri, endotel hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilen, anjiogenezi durduran (anjiostatik) ve stimüle eden (anjiogenik) bazı maddeler tanımlanmıştır (19-24). Metastazlarda olduğu gibi anjiogenezde de matriks metalloproteinazlarına ihtiyaç vardır. Tümör hücrelerinden salınan bazik fibroblastik growth faktör (bFGF), vasküler endotelial growth faktör (VEGF) gibi anjiogenik maddelerin endotel hücrelerinden ekstrasellüler matriksi eritebilme yeteneği olan proteaz, plazminojen aktivatörleri ve kollajenazların yapımını artırdığı gösterilmiştir (25-27). VEGF, asidik ve bazik FGF, en önemli anjiogenik maddelerdir (28,29). Diğer muhtemel faktörler ise platelet türevli growth faktör, transforming growth faktör alfa ve beta, anjiotropin, anjiogenin ve tümör nekrozis faktör alfa'dır. Buna karşılık interferonlar, platelet faktör 4 gibi nonspesifik, anjiostatin ve endostatin gibi spesifik anjiogenezi inhibitörleri bulunmaktadır (3,28-33). İnsan tümörlerinin çoğu, saptandığında neovaskülarizedir. Ancak deneysel ve klinik veriler bu tümörlerin aylarca ve yıllarca anjiogenik olmadan kaldığını göstermektedir (34). Tümörler, kapillerleri çekebilecek mi, kan akımı ile bağlantı sağlayabilecek mi sorusunda en belirleyici faktör kritik lokal dengenin anjiogenik faktörler lehinde bozulmuş olmasıdır (35). Vaskülarizasyonla birlikte replike olan hücrelerin total popülasyonu önemli ölçüde artar (36). Hızlı bir büyüme, invazyon, çevre dokulara kompresyon oluşur.

İnvazyon oluşması için neovaskülarizasyon şart değildir. Örneğin meme kanserinde neovaskülarizasyondan önce mikroinvazyonlar saptanmıştır (37). Anjiogenezi ise invazyonu kolaylaştırır ve tümörlerin genişlemesine izin verir (38). Endotel hücrelerinden salınan proteolitik maddeler, tümörün invazivliğine katkıda bulunabilir.

Tümörler 1-2 mm den daha fazla büyüyecekleri zaman kapillerlerle bağlantı kurmak zorundadır. Neovaskülarizasyonla birlikte, beslenme ve artıkların değişimi problemi geçici olarak çözülmüştür. Hem tümör hücreleri hem endotel hücreleri için gerekli olan büyüme faktörleri sağlanır (10,39). Tümör hücreleri vaskülarize olduklarında sadece kanlanmakla kalmaz aynı zamanda endotel hücrelerinden parakrin stimuluslar da alır (38,40). Kan akımı yokluğunda tümör hücreleri tercihan endoteller boyunca büyür (38). Parakrin stimuluslar iki yönlü işler. Tümör hücreleri ve endotel hücreleri birbirlerinin proliferasyonunu stimüle ederler (21).

Vaskülarize bir tümörde tüm tümör hücreleri anjiogenik değildir. Çok iyi vaskülarize tümörlerde bile mikrodamar dansitesinin düşük olduğu alanlar ve yüksek olduğu alanlar gözlenir ve anjiogenik aktivite heterojendir. Tümör popülasyonu genişledikçe de anjiogenik özellik kazanmış tümör hücre varyantlarının oluşma ihtimali artar (37). Metastazların klonal orijini nedeniyle yüksek oranda anjiogenik hücreler içeren tümörler daha büyük ihtimalla yaygın metastaz yapar. Çünkü hedef dokulara ulaştığında zaten anjiogenik özellik taşırlar (41). Bir tümör hücreyi başarıyla

la metastaz yapabilmesi için, damar sistemine girmek, dolaşımında canlı kalabilmek, hedef organın mikrodamarlarında duraklayabilmek, damar sisteminden dışarı çıkabilme, hedef organda büyüebilme ve anjiogenezi indükleyebilme gibi çeşitli bariyerleri aşabilmelidir (37,41-42). Deneysel çalışmalarda, neovaskülarizasyondan önce, tümör hücrelerinin nadiren dolaşıma girdikleri gösterilmiştir (43). Yüksek mikrodamar dansitesi ise yüzey alanını artırarak hücrelerin dolaşıma girmesini kolaylaştırır ve hücreler sürekli olarak dolaşımında bulunurlar. Tümör hücreleri anjiogenik iken metastaz yaparsa, saptanabilir tümör oluşturma ihtimali daha fazladır. Metastatik kaskadın başında olduğu kadar sonunda da anjiogeneze ihtiyaç vardır. Tümör hücreleri başarıyla metastaz yapmış olsa bile hedef organda hemen vaskülarize olmayabilir ve mikroskopik düzeyde kalabilir (36).

Klinik veriler metastatik potansiyelin ve prognoz anjiogenezi şiddetine bağlı olduğunu desteklemektedir (37). Bu nedenle anjiogenezin şiddeti belirlenmeye çalışılmaktadır. Bu konuda kullanılan yöntemler, mikrodamar dansitesinin saptanması, anjiogenik faktörlerin kan ve idrarda ölçülmesi, anjiogenik proteinlerin doku düzeylerinin saptanmasıdır. Weidner'in yöntemi ile invaziv meme kanserlerinde histolojik kesitlerde belirlenen mikrodamar dansitesi değerlerinin, çap, grade vb. diğer prognostik faktörlerden daha fazla oranda metastaz riskini belirleme fırsatı verdiği gözlenmiş ve bu bulgu değişik çalışmalarla diğer birçok tümörde de konfirme edilmiştir (37,44-46). Kan ve idrarda anjiogenik proteinlerin saptanması hastalık ilerlemesini belirlemede ve tedavide yol gösterici olabilir. Renal hücreli kanserlerde serumda bFGF değerleri yüksek bulunmuş, bunun dokudaki damar dansitesi ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Yine renal hücreli kanserlerde bFGF nin doku düzeyi ile ölüm riski arasında korelasyon mevcuttur (47). Ayrıca mesane kanserinde de VEGF değerleri yüksek olanlarda, daha fazla metastaz yapma özelliği saptanmıştır (48). Ancak her zaman tek bir protein ile ilişki saptanamaz. Çünkü daha önce de belirtildiği gibi anjiogenezi önemli olan anjiogenik ve anjiostatik maddeler arasındaki net balanstır.

Anjiogenezi inhibitörleri, matriks yıkımının engellenmesi, endotel hücrelerinin direkt inhibisyonu, anjiogenezi aktivatörlerinin engellenmesi, integrin inhibisyonu ve nonspesifik mekanizmalarla etkisiz göstermektedir. Tümör tedavisinde ümit veren bu maddelerle ilgili çalışmalarda insanlarda 1988'de başlanmıştır ve yıllarca sürmesi muhtemel gözükmemektedir (49). Deney hayvanlarındaki heyecan verici bir sonuçtan klinik çalışmalarına geçmek, zor ve sistematik bir süreci gerektirir. Hayvanlardaki antikanser aktiviteyi proteinler insanda da olmalı, ilaç kolayca purifiye edilmeli ve yeteri miktarda sağlanabilmeli, emin bir şekilde metabolize edilebilmeli ve diğer çeşitli güvenlik testlerini geçmelidir. İnsanlardaki tümör biyolojisinin ve metabolizmanın deney hayvanlarından farklı olması insanın relatif büyüklüğü çok daha fazla dozda ilaç gerektirebilir ve tahmin edilemez yan etkiler oluşabilir.

Antianjiogenik aktiviteyi antiproliferatif kemoterapiden ayıran ana hatlar, antianjiogenik tedavinin direkt olarak endotel hücrelerine yönelik olması ve standart kemoterapötiklerle gözlenen yan etkilerin görülmemesi, uzun yıllar boyunca kesilmeksizin kullanılabilmesi ve rezistans prob-

lemlerinin olmamasıdır (50). Antianjiogenik ilaçların kemik iliği baskılanması, saç kaybı, gastrointestinal semptomlar gibi yan etkilerle yol açması beklenmez. Endotel hücrelerine sitotoksik değildir. Bu hücrelerin proliferasyonu ve migrasyonunu inhibe ederek uzun yıllar içerisinde involüsyon sağlar. Bugüne kadar yapılmış deneysel ya da klinik uzun süreli çalışmalarda major bir rezistans problemi ile karşılaşmamıştır. Çünkü endotel hücrelerinde tümör hücrelerindeki gibi mutasyon yoktur ve genetik olarak stabildirler. Hipoksi, VEGF gibi, anjiogenik maddelerin salınımını arttıran bir faktördür ve hipoksi azalırsa anjiogenik stimuluslar da azalır (51). Yani bir kez anjiogeneze başladığında tümör kitlesi artmakta, bu hipoksiye yol açmakta, bu da anjiogenezi daha da arttırmaktadır. Antianjiogenik tedavi ve radyoterapi ile interstisyel basınç ve iskemi ve de dolayısıyla tümör hipoksisi azalır. Tümör tedavisinde antianjiogenik ve diğer klasik ajanların birlikte kullanılması daha da etkili olabilir. Örneğin kemoterapi ile tümör kitlesi küçültülüp antianjiogeniklerle tümörün durağan olarak kalması sağlanabilir. Literatürde bu tipte çalışmalar mevcuttur (52,53).

Tümörlerdeki yeni kan desteğinin mekanizmalarını sorgulamak için başlayan, günümüzde ise anjiogenik maddelerin cerrahi yaraların, peptik ülserlerin tedavisinde, anjiogeneze inhibitörlerinin oküler anjiogeneze, artrit, diğer nonneoplastik hastalıklarda kullanımını amaçlayan geniş boyutlara uzanan anjiogeneze çalışmaları, heyecanlı bir şekilde sürdürülmektedir ve anjiogenik moleküller nasıl salınır, belirli tümör tiplerinin oluşturduğu spesifik anjiogenik moleküller var mıdır, tümör ilerleyişi sırasında anjiogenezi baskılayan aktivite nasıl ortadan kalkar, tümör gelişimi inhibe edilmeden önce tümöre bağlı anjiogeneze hangi oranda bloke edilmelidir, endotel hücreleri anjiogeneze inhibitörlerine dirençli hale gelebilir mi, anjiogenik aktivitenin ortaya çıkışı kan ya da vücut sıvılarında saptanıp tanı amaçlı kullanılabilir mi, anjiogenik süreç genetik tedavi ile istenilen şekilde değiştirilebilir mi sorularına yanıt aranmaktadır. Bu sorular var oldukça, bu çalışmaların temelini oluşturan heyecan hep sürecektir.

KAYNAKLAR

- Folkman J. How is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue? G.H.A. Clowes Memorial Award Lecture. *Cancer Res* 1986;46:467-73.
- Folkman J. Tumor angiogenesis. *Adv Cancer Res* 1985;43:175-203.
- Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 1990;82:4-6.
- Abulafia O, Triest WE, Sherer DM, Hansen CC, Ghezzi F. Angiogenesis in endometrial hyperplasia and stage I endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1995;86:479-85.
- Ausprunk DH, Folkman J. Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc Res* 1977;15:53-65.
- Montesano R, Orci L, Vassalli P. In vitro rapid organization of endothelial cells into capillary-like networks is promoted by collagen matrices. *J Cell Biol* 1983;97:1648-1652.
- Abulafia O, Sherer DM. Angiogenesis of the endometrium. *Obstet Gynecol* 1999;94:148-53.
- Brem S, Brem S, Folkman J, Finkelstein D, Patz A. Prolonged tumor dormancy by prevention of neovascularization in the vitreous. *Cancer Res* 1976;36:2807-2812.
- Jain RK. Determinants of tumor blood flow. *Cancer Res* 1988;48:2641-2658.
- Folkman J. Tumor angiogenesis. In *Cancer: A Comprehensive Treatise*, vol 3. Ed. FF Becker. New York: Plenum Press, 1975, pp 355-388.
- Wurschmidt F, Beck-Bornboldt HP, Volger H. Radiobiology of the rhabdomyosarcoma R1H of the rat: influence of the size of irradiation field on tumor response, tumor bed effect, and neovascularization kinetics. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 1990;18:879-882.
- Yamaura H, Yamada K, Matsuzawa T. Radiation effect on the proliferating cell capillaries in rat transparent chamber. *Int J Rad Biol* 1976;30:179-187.
- Coman DR, Sheldon WF. The significance of hyperemia around tumor implants. *Am J Pathol* 1946;22:821-831.
- Ide AG, Bake NH, Warren SL. Vascularization of the Brown-Pearce rabbit epithelioma transplant as seen in the transparent ear chamber. *Am J Roentgenol* 1939;42:891-899.
- Algire GH, Chalkely HW, Legallais FY, Park H. Vascular reactions of normal and malignant tumors in vivo: I. Vascular reactions of mice to wounds and to normal and neoplastic transplants. *JNCI* 1945;6:73-85.
- Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182-1186.
- Folkman J. The vascularisation of tumors. *Sci Am* 1976;234:58-73.
- Folkman J. Angiogenesis. In: *Biology of endothelial cells*. Ed. EA Jaffe. Boston: Nijhoff, 1984, pp 412-428.
- Paulus GH, Grothe C, Sensenbrenner M, Janet T, Bauer I, Graf M, et al. Localization of basic fibroblast growth factor, a mitogen and angiogenic factor, in human brain tumors. *Acta Neuropathol* 1990;79:418-423.
- Schulze-Osthoff K, Risau W, Vollmer E, Sorg C. In situ detection of basic growth factor by highly specific antibodies. *Am J Pathol* 1990;137:85-92.
- Folkman J. Tumor angiogenesis. In *The Molecular Basis of cancer*. Edited by Mendelsohn, PM Howley, MA Israel, LA Liotta. Philadelphia: Saunders, 1995, pp 206-232.
- Connolly DT. Vascular permeability factor: a unique regulator of blood vessel function. *J Cell Biochem* 1991;47:219-223.
- Dvorak HF, Sioussat TM, Brown LF, et al. Distribution of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in tumors: concentration in tumor blood vessels. *J Exp Med* 1991;174:1275-1278.
- Ferrera N, Houck K, Jakeman L, Leung DW. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family proteins. *Endocr Rev* 1992;13:18-32.
- Kalebic T, Gabrisa S, Glaser B, Liotta LA. Basement membrane collagen: degradation by migrating endothelial cells. *Science* 1983;221:281-283.
- Moscatelli D, Gross JL, Rifkin DB. Angiogenic factors stimulate plasminogen activator and collagenase production by capillary endothelial cells (Abstract). *J Cell Biol* 1981;91:201a.
- Nagy JA, Brown LF, Senger DR, Lanir R, Van De Water L, Dvorak AM et al. Pathogenesis of tumor stroma generation: a critical role for leaky blood vessels and fibrin deposition. *Biochim Biophys Acta* 1989;948:305-326.
- Kandel J, Bossy-Wetzler E, Radvanyi F, Klagsbrun M, Folkman J, Hanahan D. Neovascularization is associated with a switch to the export of BFGF in the multistep development of fibrosarcoma. *Cell* 1991;66:1095-104.
- Kim KJ, Li B, Winer J. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumor growth in vivo. *Nature* 1993;362:841-4.
- Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 1987;235:442-7.
- O'Reilly MS, Holmgren L, Chen CC, Folkman J. Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nat Med* 1996;2:689-92.
- O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, et al. Endostatin: An endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997;88:277-85.
- Polverini PJ, Leibovich SJ. Induction of neovascularization in vivo and endothelial proliferation in vitro by tumor associated macrophages. *Lab Invest* 1984;51:635-42.
- Guidi AJ, Fischer L, Harris JR, Schnitt SJ. Microvessel density and distribution in ductal carcinoma in situ of the breast. *JNCI* 1994;86:614-619.
- Pepper MS, Montesano R. Proteolytic balance and capillary morphogenesis. *Cell Differ Dev* 1990;32:319-328.
- Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nature Med* 1995;1:149-153.
- Weidner N, Semole JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
- Nicoisa RF, T'chao R, Leighton J. Interactions between newly formed endothelial channels and carcinoma cells in plasma clot culture. *Clin Exp Metastasis* 1986;4:91-104.
- Folkman J, Hochberg M. Self-regulation of growth in three dimensions. *J Exp Med* 1973;138:745-753.

40. Hamada J, Cavanaugh PG, Lotan O, Nicolson GL. Seperable growth and migration factors for large-cell lymphoma cells secreted by microvascular endothelial cells derived from target organs for metastasis. *Br J Cancer* 1992;66:349-354.

41. Weinstat-Saslow D, Steeg PS. Angiogenesis and colonisation in the tumor metastatic process:basic and applied advances. *FASEB J* 1994;8:401-407.

42. Nicolson GL. Organ specificity of tumor metastasis:role of preferential adhesion, invasion and growth of malignant cells at specific secondary sites. *Cancer Metastasis Rev* 1988;7:143-188.

43. Liotta LA, Saidel MG, Kleinerman J. The significance of hematogenous tumor cell clumps in the metastatic process. *Cancer Res* 1976;36:889-894.

44. Albo D, Granick MS, Jhala N, Atkinson B, Solomon MP. The relationship of angiogenesis to biological activity in human squamous cell carcinomas of the head and neck. *Ann Plas Surg* 1994;32:588-94.

45. Barnhill RL, Fandrey K, Levy MA, Mihm MC Jr, Hyman B. Angiogenesis and tumor progression of melanoma. Quantification of vascularity in melanocytic nevi and cutaneous malignant melanoma. *Lab Invest* 1992;67:332-337.

46. Brawer MD, Keering RE, Brown M, Preston SD, Bigler SA. Predictors of pathologic stage in prostatic carcinoma. *Cancer* 1994;73:678-687.

47. Chodak GW, Hospelhorn V, Judge SM, Mayforth R, Koeppen H, Sasse J. Increased levels of fibroblast growth factor-like activity in urine from patients with bladder or kidney cancer. *Cancer Res* 1988;48:2083-2088.

48. O'Brien T, Cranston D, Fuggle S, Bicknell R, Harris AL. Different angiogenic pathways characterize superficial and invasive bladder cancer. *Cancer Res* 1995;55:510-513.

49. Auerbach W, Auerbach R. Angiogenesis inhibition: a review. *Pharmacol Ther* 1994;63:265-311.

50. Brem H, Goto F, Budson A, Saunders L, Folkman J. Minimal drug resistance after prolonged antiangiogenic therapy with AGM-1470. *Surg Forum* 1994;45:674-677.

51. Shweiki D, Neeman M, Itin A, Keshed E. Induction of vascular endothelial growth factor expression by hypoxia and by glucose deficiency in multicell spheroids: implications for tumor angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:768-772.

52. Teicher BA, Sotomayor EA, Huang ZD. Antiangiogenic agents potentiate cytotoxic cancer therapies against primary and metastatic disease. *Cancer Res* 1992;52:6207-6204.

53. Teicher BA, Holden SA, Ara G. Potentiation of cytotoxic cancer therapies by TNP-470 alone and with other anti-angiogenic agents. *Int J Cancer* 1994;57:920-925.

8. Yazılanın sorumluluğu yazarlara aittir.

9. Aşağıdaki maddelerde aksi belirtilmedikçe yazılar "Biomedikal Dergilere Gönderilen Makalelerin Üyeleri Gereken Standartlar"a (*) (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals JAMA 1997; 277: 927-934) uygun olarak hazırlanmalıdır. Şekli olarak bu kuralara uymayan yazılar, içerik yönünden incelenmeye alınmaz ve yazarlara iade edilecektir.

7. İnsanlar üzerinde yürütülen araştırmalar, yeni düzenlemelerin 1988 yılında yapıldığı 1984 Helsinki Bildirisi'ne (Dünya Tabipler Birliği Helsinki Bildirisi) (*) ve insanlar üzerinde yürütülen araştırmalarla sorumlu komitelerin (kurumlar ve bölge) etik standartlarına uygun olmalıdır. Hayvanlar üzerinde yürütülen araştırmalar yazılarda, laboratuvar hayvanlarının gözetim ve kullanımı prensipleri üzerinde çalışan kurum veya ulusal araştırmalar konseyine, ya da bu prensipler hakkındaki herhangi bir ulusal/kurumsal yönetime göre uygun hareket edilmelidir.

6. Dergiye gönderilecek yazılar yazın ve danışma kurulu tarafından bilimsellik, anlam ve yazım kuralları açısından incelenir. Gönderilen yazılarda kabul edilip edilmediği gerekçeli bir mektupla 10 hafta içinde yazarlara bildirilecektir. Yazın kurulu, görüşler doğrultusunda yazılarda bazı değişiklikler yapabilir.

5. Yazın kabul edilen yazılarda son şeklinin elektronik kopyasının 3.5 inçlik bir disket halinde gönderilmesi yazılabilmektedir. Disket içeriğinin hazırlanmasında kullanılan kelime işlemci ve versiyonu mutlaka belirtilmelidir. Disket içeriğinin yazının başkaya geçecek son şeklini içermesi yazarların sorumluluğundadır.

4. Yazın kabul edilen yazılardan, her sene yeniden belirlenen miktarda bir yazın katkı payı istenecektir.

3. Başvuru yazısı tüm yazarların imzası ile hazırlanmalıdır. Bu yazı için bir örnek aşağıdaki gibi olabilir:

İlişkili göndermekte olduğum(uz)..... başlıklı makale (olun bildisi vb.) bir başka yazın ortamında yayınlanmamış veya yayınlanmak üzere kabul edilmiştir. Yazıyı bu şekilde okuyarak, yayınlanmak üzere derginize gönderdiğiminizi onaylamaktayım(ız). Yayınlanmasında halinde doğabilecek tüm hukuki sorumlulukları kabul ettiğimi(izi) beyan ederim(iz).

Başvuru yazısında yazarlar tarafından işlek belirtilmedikçe, derginin, yazın kabul edilmeveyen yazılarda izdresi sorumluluğu yoktur.

2. Dergiye gönderilecek yazılar Türkiye olarak hazırlanmalı; bunun yanı sıra İngilizce başlık ve özet içermelidir. Yazılar standart beyaz kağıda (ISO A4) tüm kenarlarında 25 mm boşluk bırakılarak, lazer veya mürekkep baskı kullanılarak bir yazıcı kullanılarak basılmalıdır. Birinci sayfadan başlıyarak tüm sayfalar alt orta kısmında sayfa numarası içerilmelidir.

Yazının başlığı ve alt başlıkları en az 14 punto, kelimeler, metnin diğer kısımları en az 12 punto, çift aralıklı ve sola hizalanmış olarak yazılmalıdır. Yazı karakterleri olarak Times New Roman tercih edilmeli, olarak yazıya başka bir okunaklı karakterler için kullanılmamalıdır.

Yazılarda, başlık sayfasının çıkarılması halinde tanınmasını sağlayacak bir kısa başlık (running title), sayfa numarası ve üst köşesine gelecek şekilde bulunmalıdır.

13. Yazılarda şekli ve biçimine ilişkin olarak "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" geçerlidir. Kısaça tanımlanacak olarak, araştırmalar yazılarda, her bir yazın sayfa halinde başlanması gereken aşağıdaki bölümlerden oluşmalıdır:

1. Başlık sayfası (1 sayfa); Yazının başlığı, yazarların adları, akademik ünvanları, çalıştıkları kurum(lar), araştır-