

ANJİYOGENEZİN TEMEL MOLEKÜLER MEKANİZMALAR VE TÜMÖR ANJİYOGENEZİ *

Dildar KONUKOĞLU, Mehtap Sultan TURHAN

Background and Design.- Angiogenesis is a term that describes the formation of new capillaries from a pre-existing vasculature. This process is very important in physiologic conditions. It helps healing injured tissues, and in female population it helps forming the placenta after fertilization and reconstructs the inside layer of the uterus after menstruation. When the balance between proangiogenic and antiangiogenic factors is disturbed, angiogenesis is not controlled. This status may be important in tumor metastasis. In the review, we considered the molecular basis of angiogenesis and tumor angiogenesis.

Konukoğlu D, Turhan S. M. Molecular basis of angiogenesis mechanisms and tumor angiogenesis. Cerrahpaşa J Med 2005; 36: 42-48.

Mevcut kan damarlarından yeni kan damarlarının gelişmesi demek olan anjiyogenez, vücutta doğal olarak ortaya çıkan bir süreç olup, bazı durumlarda patolojik de olabilir. Fizyolojik anjiyogenez; embriyogenez, yara iyileşmesi ve kadın üreme sisteminde gözlenir.¹ Proanjiyogenik ve anti anjiyogenik faktörler arasındaki denge bozulduğunda anjiyogenez kontrol edilemez. İnflamatuvar hastalıklarda (artrit, kronik inflamasyon, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, psöriazis), çeşitli kanserlerde (meme, mesane, kolon, akciğer, nöroblastom, melanom, böbrek, pankreas, uterus, serviks, glioblastom) ve göz hastalıklarında (yaşla ilişkili maküler dejenerasyon, proliferatif retinopati) anjiyogenez patolojik olarak ortaya çıkmaktadır. Periferik arter hastalıklarında ve gecikmiş yara iyileşmesinde ise anjiyogenezin yetersizliği söz konusu olmaktadır.²⁻⁷ Bu derleme yazımızda anjiyogenez mekanizmalarının ve tümör-anjiyogenez ilişkisinin temel özelliklerini ele aldık.

ANJİYOGENEZ

Primordial damarsal sistemin gelişimi vaskülogenez olarak tanımlanır ve ilkel damarsal ağı oluşturmak üzere endotelial progenitor hücrelerin embriyonik ve embriyo dışı mezoderm içerisinde farklılaşmasını kapsar. Damarsal ağlarının uzanması ve değişimi için yeni kapillerlerin oluşması, tomurcuklanma ve ön-

ceden oluşan damar ağının yeniden düzenlenerek küçük ve büyük damarları oluşturması gereklidir.⁸ Gelişen damarsal yapıların birbiri ardı sıra olgunlaşmaları ise perivasküler hücrelerin yeniden yapılanmasına ve bazal membran üzerinde yapılaşmasını sağlayan faktörlerin varlığına bağlıdır. Embriyonik damarsal sistemin gelişmesi esnasında meydana gelen olaylar ve embriyonun oksijen ve besin ihtiyacı, aynen erişkin bir organizmada anjiyogenez oluşumunda, özellikle hipoksinin aktive ettiği metabolik cevaplarla benzerlik gösterir.^{9,10}

Anjiyogenez oldukça karmaşık bir mekanizma ile gerçekleşir. Ekstraselüler matriks ve matriksi çevreleyen hücrelerden salınan pek çok büyüme faktörü, sitokinler ve bunların reseptörleri anjiyogeneze temel rol oynar.¹¹⁻¹⁴ Damar endotelini oluşturan endotel hücreleri, anjiyogenez süreci içinde yer alan temel hücrelerdir. Perisitler ile birlikte kapiller damar duvarlarını oluştururlar ve ana damarları, dalları ve kapiller ağı oluşturuca genetik bilgileri içerirler.¹⁵ Erişkin insanlardaki vasküler endotelial hücreler tipik olarak düşük turnover hızında olmalarına rağmen, yaşamları boyunca yeni kan damarları oluşturacak çoğalma kapasitesine sahiptirler. 70 kg'lık bir insanda bir trilyondan fazla endotelial hücre, kan damarlarının içini döşer ve bu da yaklaşık 1000 metrekarelik bir alana eşittir. Endotelial hücrelerin yaşam siklusu (yenilenme süresi) 1000 günü geçer. Anjiyogenezin sıkı denetlendiği kadın üreme sistemi ve yara iyileşmesi

* **Anahtar Kelimeler:** Anjiyogenez, büyüme faktörleri, tümör anjiyogenezi; **Key Words:** Angiogenesis, growth factors, tumor angiogenesis; **Alındığı Tarih:** 14 Ocak 2004; Prof. Dr. Dildar Konukoğlu, Dr. Mehtap Turhan: İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul; **Yazışma Adresi (Address):** Prof. Dr. Dildar Konukoğlu, İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Biyokimya Anabilim Dalı, 34098, Cerrahpaşa, İstanbul.

<http://www.cft.istanbul.edu.tr/dergi/online/2005v36/s1/051d2.pdf>

gibi fizyolojik durumlar dışında anjiyogenez organizmada oldukça sınırlıdır.¹⁶

Anjiyogenezin düzenlenme evreleri pek çok büyüme faktörünün ve düzenleyici proteinin kontrolü altındadır. Henüz tüm anjiyogenik etkileşimlerin niteliği açıklığa kavuşmamıştır. En büyük olasılık anjiyogenik uyarıcılar ve anjiyogenez inhibitörleri arasındaki dengenin, normalde damarsal bileşenlerin sessiz halde kalmalarını sağlıyor olmasıdır. Anjiyogenik uyarıcıların artışı ve anjiyogenez inhibitörlerinin azalışı anjiyogenezi başlatmaktadır. Anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler Tablo I'de gösterilmektedir.¹⁷

Yeni damar oluşumu aşağıda belirtilen olayları kapsayan çok basamaklı bir süreçtir:

1. Bazal membranın proteolitik enzimler tarafından yıkılması
2. Endotel hücre aktivasyonu, proliferasyonu ve göçü
3. Tubul oluşumu ve olgunlaşma, damar stabilizasyonu ve ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesi

1. Bazal Membranın Proteolitik Enzimler Tarafından Yıkılması

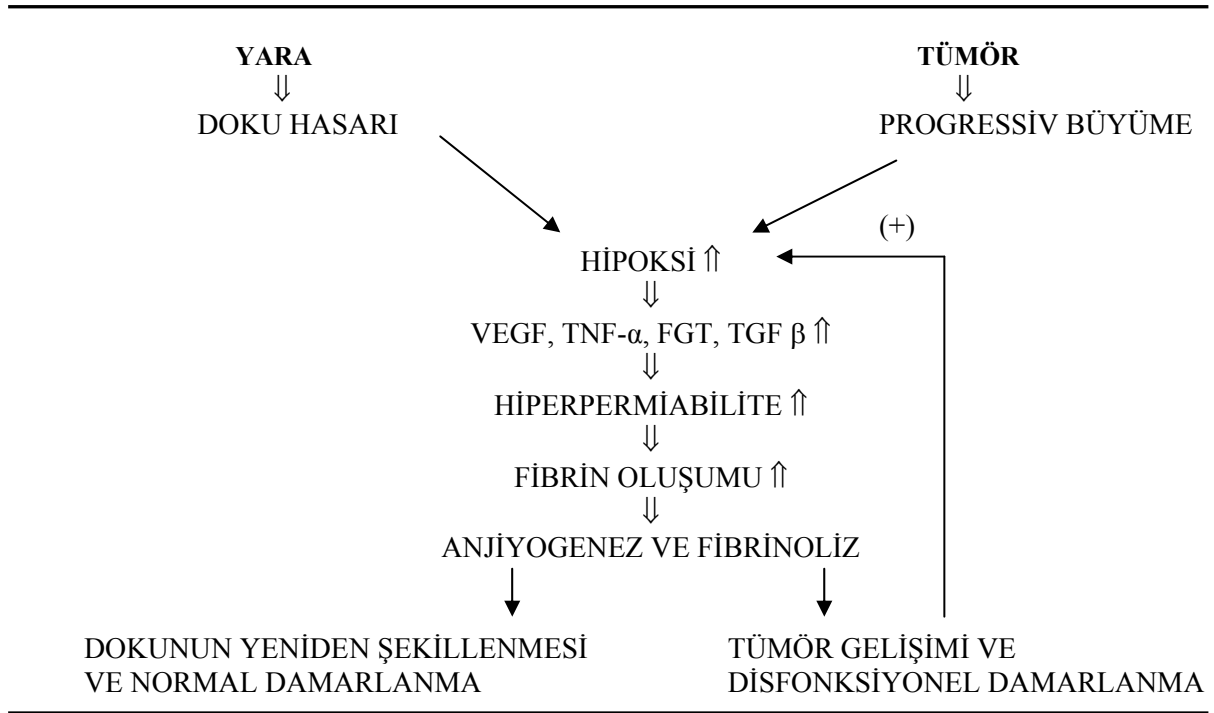
Anjiyogenez süreci damar endotelini döşeyen kollajen, laminin gibi glikoproteinlerden ve heparan sülfat gibi proteoglikanlardan oluş-

şan bazal membranın proteolitik yıkımı ile başlar.¹⁸ Endotel hücreleri göç etmek ve çoğalmak üzere uyarıldığında membran ve hücreler arasında bir bölünme meydana gelir. Normalde, endotel hücreleri yayılma etkisi göstermeyen tek bir tabaka oluştururlar. Ancak anjiyogenez sırasında çoğalıp yayılma gösterirler. Normal, hastalıklı yada hasarlı dokularda üretilip salgılanan anjiyogenik büyüme faktörleri komşu dokulara difüzyon yolu ile geçer. Anjiyogenik büyüme faktörleri yakınındaki önceden var olan kan damarlarının endotel hücrelerinde bulunan özgün reseptörlere bağlanırlar. Büyüme faktörleri tarafından aktive edilen proteolitik enzimler bazal membranın ve endotel hücrelerini döşeyen ekstraselüler matriks (ECM) bileşenlerinin yıkımına neden olur. ECM'nin enzimatik yıkımını, endotel hücrelerinin uyarılması ve kapiller filizlenme izler.¹⁹ Endotel hücrelerinin invazyon ve göç süreçleri, plazminojen aktivatör (PA) ve matriks metaloproteinaz (MMP) sisteminin işbirliği içinde aktive olmasını gerektirir. Ürokinaz-tip (uPA) ve doku-tip (tPA) plazminojen aktivatörleri plazminojeni plazminne çeviren serin proteazları grubuna aittirler. ECM bileşenlerinin yıkılması ve MMP-1, MMP-3, MMP-9, elastaz gibi matriks metaloproteinazlarının aktivasyonu da plazminin işlevleri arasındadır.²⁰⁻²²

Tablo I. Anjiyogenik faktörler ve anjiyogenezi önleyen faktörler

Anjiyogenik Faktörler	Anjiyogenezi Önleyen Faktörler
VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktör)	Trombospondin-1
PGF (Plasental büyüme faktör)	Anjiostatın
FGF (Asidik, bazik fibroblast büyüme faktör)	Endostatin
FGF-3 (Fibroblast büyüme faktör-3)	Vazostatin
FGF-4 (Fibroblast büyüme faktör-4)	Vasküler endotelial büyüme faktörü inhibitörü
TGF- α (Transforme edici büyüme faktör- α)	Trombosit faktör-4 fragmanı
TGF- β (Transforme edici büyüme faktör- β)	Prolaktin derivesi
EGF (Epidermal büyüme faktör)	Restin
HGF (Hepatosit büyüme faktör)	Proliferinle ilgili protein
TNF- α (Tümör nekroz faktör- α)	İnterferon- α - β
PDGF (Trombosit kaynaklı büyüme faktör)	Anjiopoetin-2
GCSF (Granülosit koloni uyarıcı faktör)	Antitrombin-3 fragmanı
IL-8 (İnterlökin-8)	İnterferon ile indüklenebilen protein-10
Anjiogenin	
Proliferin	

Şekil 1. Normal doku onarımı ve tümörlerde anjiyogenezi uyaran ortak yollar



2. Endotel Hücrelerde Göçme ve Çoğalma

Anjiogenik uyarı, proteolitik yıkım ile kısa bir süre sonra endotel hücreleri aktive eder. Endotel hücreleri ekstraselüler matrikse göç eder ve çoğalır. Bu süreçte en etkili anjiogenik faktör vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF)'dir.²³

3. Kapiller Oluşumu ve Damar Olgunlaşması

Endotel hücre çoğalmasından sonra ECM bileşenlerinin depolanması ve bir araya getirilmesi için ekstraselüler proteoliz mutlaka lokal olarak inhibe edilmelidir. Kapiller filizlenme oluştuktan sonra yine bu filizlenmenin ucunda yeni oluşmuş ECM'de yıkılma ortaya çıkar ve bu sayede daha ileri yayılımı mümkün olur. Bazal membranın yıkılması endotel hücre göçüne ve filiz oluşumuna izin verir. Endotelin yol alması ve uzaması sırasında hücre içi ve hücreler arası boşlukta, sonunda kendilerinden damarların oluştuğu lümenler gelişir. Böylece, ekstraselüler matriks proteolizinin birbirini sırayla izleyen aktivasyon ve inhibisyonları so-

nucunda kapillerler oluşur. Proteolitik yıkılma ve endotel hücresi göçünden sonra yeni oluşan kapillerler, yeni bazal membranı oluştururlar. Bu nedenle, endotel hücrelerinin yeni kapiller yapılar oluşturabilmeleri için birbirlerine ve ECM'e tutunma gereksinimi vardır. Damar olgunlaştıktan ve uygun anjiyogenez ortaya çıktıktan sonra anjiyogenik faktörlerde azalma görülürken, anjiyogenez inhibitörlerinde artış gözlenir. Böylece endotel hücreleri sessiz bir hale bürünür ve damarlar kan akımını başlatmaya hazır hale gelmiş olur.^{17,24}

Bu olayları özetleyecek olursak, fibroblast büyüme faktörü (basic-FGF) ve VEGF gibi büyüme faktörlerinin aktivasyonu, hücrelerin çoğalmasını ve ekstraselüler matriks içine göç etmesini uyarır. Aynı zamanda, büyüme faktörleri tarafından aktive edilen proteolitik enzimler bazal membranın ve endotel hücrelerini döşeyen ECM bileşenlerinin yıkılmasına neden olur. Mitojenik endotel hücreleri kapiller filizleri oluşturur. İntegrinler gibi membran proteinleri de bu süreç içinde yer alır ve endotel hücrelerinin birbirine ve ECM'ye tutunmaları-

na yardımcı olurlar, böylece yeni kapillerler oluşur. Büyüme faktörlerinin inhibisyonu veya büyüme faktör inhibitörlerinin varlığı anjiyogenez azaltılır. ECM'nin proteolitik yıkımı da inhibe olur ve yeni oluşmuş kapillerler etrafında matriks bileşenleri sentez edilir (Şekil 1).

BAZI ANJİOGENİK FAKTÖRLERİN ÖZELLİKLERİ

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü: (Vascular endothelial growth factor; VEGF); VEGF anjiyogenezde rol oynayan faktörlerden biridir. VEGF'nin post-natal damarlanma, yara iyileşmesi, kanser, romatoid artrit, retina da yeni damarlanma ve kalp-damar hastalıkları dahil olmak üzere çok sayıdaki patofizyolojik durumda önemlidir. VEGF, başlangıçta damar geçirgenliğini artıran bir faktör olarak tanımlanmıştır. Endotel hücrelerinin çok sayıdaki biyolojik fonksiyonunu, sitokin sentezi ve salınımı, trombolitik ve pıhtılaşma yollarında yer alan moleküllerin ekspresyonu ve düz kas hücre proliferasyonunu düzenler.²⁵⁻²⁹

Epidermal Büyüme Faktörü: (Epidermal growth factor, EGF); Polipeptit yapılı olup birçok dokuda bulunur ve trombosit degranülasyonu sırasında salınır. Epitel hücreler, endotel ve fibroblastlar için kemotaktiktir. Anjiyogenez ve kollajenaz aktivitesini uyarır.³⁰

Fibroblast Büyüme Faktörü: (Fibroblast growth factor, FGF); Mezenkimal hücreler için mitojendir. Endotel proliferasyonu ve motiliteyi artırarak neovaskülarizasyonu hızlandırarak anjiyogenezde etkilidir. Ayrıca heparinin etkilerini güçlendirmek, kollajen sentezini uyararak, yaranın kontraksiyonunu ve epitelizasyonu sağlamak ve fibronektin ve proteoglikan sentezini uyararak adhezyonu kolaylaştırmak gibi etkileri vardır.³¹

Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü: (Platelet-derived growth factor, PDGF); Trombositlerin alfa granülleri içinde bulunur. Tümörler, endotel hücreler, makrofajlar, düz kas hücreleri ve trombositler PDGF benzeri büyüme faktörleri salgırlar. Makrofajlar ve polimorf nüveli lökositlerin kemotak-

sisini uyarır. Fibroblast ve düz kas hücrelerinde hem kemotaksis hem mitogenez uyarır. Kollajen ve fibronektin sentezini uyarır; ayrıca kollajenaz aktivitesini artırır.³²

Transforme Edici Büyüme Faktörü-β: (Transforming growth factor β, TGF-β); Trombositler, makrofajlar, lenfositler, kemik, böbrek gibi farklı dokulardan izole edilmiştir. Trombositlerin alfa granülleri içinde yoğun miktarda bulunur, hasarlanan bölgeye degranülasyonla salınır. Düşük dozda anjiyogenik, yüksek dozda antianjiyogenik özellikler gösterir. Monositleri uyararak FGF, PDGF, TNF-α, IL-1 gibi büyüme faktörlerinin salınımını sağlar. Makrofajlar için kemotaktiktir; fibroblast kemotaksisi ve proliferasyonunu uyarır. Kollajen sentezini uyarırken, diğer taraftan kollajenazı aktive eden faktörlerin etkisini azaltır. Fibroblastlarda fibronektin ve proteoglikan sentezini uyararak yara kontraksiyonunda rol oynar. Matriks remodeling olayında görev yapar. Ayrıca epitelyal hücre proliferasyonunu uyarır.³³

Tümör Nekroz Faktörü - Alfa (Tumor necrosis factor; TNF α): Kanser kaşeksisi ve endotoksik şokta yer alır. Ateş yükseltici özelliği bulunur. Düşük dozda endotelial hücre çoğalmasını ve tubul oluşumunu sağlarken, yüksek dozda zıt etki gösterir. Proenflamatuar özellikleri ile in vivo olarak yeni damar oluşumuna yol açar.³⁴

TÜMÖR ve ANJİYOGENEZ

Anjiyogenez kavramının tarihçesine bakıldığında yaklaşık 100 yıl önce tümör içerisinde yeni damar gelişimlerinden bahsedildiği görülmektedir. Ancak bu dönemde tümör hiperemisi olarak adlandırılan bu durumun, tümör metabolitlerine bağlı basit bir dilatasyon olduğu düşünülmüştür. Daha sonraki dönemde, tümörün mevcut damarlarla mı beslendiği yoksa yenden damarlanmanın mı olduğu tartışılmış, yenden damarlanmayı kabul edenler bile bunun tümör gelişimi için gerekli olmadığını, basit bir reaksiyon olduğunu ileri sürmüşlerdir. 1939 yılında, yaralanma sonucunda oluşan yenden damarlanmanın durduğu ve gerilediği, ancak tümör implantında damar gelişiminin giderek

arttığı fark edilmiştir.³⁵ 1945 yılında yapılan bir çalışmada ise, tümör implantındaki yeni damarların konakçı damarlardan köken aldığı belirtilmiştir.³⁶ 1971 yılında Folkman “tümör gelişimi anjiyogeneze bağımlıdır” diyerek anjiyogeneze konusunda asıl gelişimi başlatmıştır.³⁷ 80’li yılların ortalarında, bir araya getirilen bulgular gerçekten de tümörlerin anjiyogenezi uyardığını kanıtlamıştır.³⁸ Tümörün büyüklüğü $0,5 \text{ mm}^3$ ’ün üstüne çıkınca tümörün beslenmesi anjiyogeneze bağımlı iken, $0,5 \text{ mm}^3$ ’den daha küçük bir tümör, oksijen ve gıdayı difüzyon ile alabilmektedir.^{5,39}

Tümörün büyümesi sırasında mikro-damarlar, tümöre besin, oksijen ve büyüme faktörleri sağlamak amacıyla sayıca büyük oranda artış gösterirler. Tümör anjiyogenezinin düzenlenmesi normal fizyolojik anjiyogeneze göre farklılık göstermektedir. Uyarıcılar ve inhibe ediciler arasındaki dinamik denge bozulmakta, bu dengenin bozulmasında ise tümör ve endotel hücreleri temel bir rol oynamaktadırlar. Bir yada birden fazla anjiogenik büyüme faktörleri belirgin olarak aşırı eksprese olmadıkça, tümör büyümesinin olmayacağı gösterilmiştir. Anjiyogenezi uyarmak için yalnızca anjiyogenik faktörlerin artması yeterli olmayıp, tümörün anjiyogenik özellik kazanması için anjiyogeneze inhibitörlerinin de azalması gereklidir.^{6,40}

Anjiyogenezin tümörün yayılmasındaki rolünün yanı sıra metastazı kolaylaştırdığı varsayımını destekleyici, deneysel ve klinik kanıtlar bulunmaktadır.^{40,41} Bir tümör hücresi metastaz yapabilmek için, damar sistemine girmek, dolaşımında canlı kalabilmek, damar sisteminden dışarı çıkabilmek, hedef organda büyüebilmek ve anjiyogenezi uyarmak gibi çeşitli bariyerleri aşabilmelidir. Deneysel çalışmalarda, yeniden damarlanmadan önce, tümör hücrelerinin nadiren dolaşıma girdikleri gösterilmiştir. Tümör hücresi anjiyogenik iken metastaz yaparsa, saptanabilir tümör oluşturma ihtimali daha fazladır. Metastatik kaskadın başında olduğu kadar sonunda da anjiyogeneze ihtiyaç vardır. Tümör hücresi başarıyla metastaz yapmış olsa bile hedef organda hemen damarlanmayabilir ve mikroskobik düzeyde kalabilir.⁴² Klinik ve-

riler metastatik özelliğin anjiyogenezin şiddetine bağlı olduğunu göstermektedir.⁴³⁻⁴⁴

Son yıllarda anjiyogeneze üzerinde yapılan çalışmalar kanser tedavisinde de yeni yaklaşımları beraberinde getirmiştir.⁴⁵ Anti-anjiyogenik ilaçların kimyasal tedavi ve ışın tedavisi ile kombine edilmesi çalışmaları ilerlemiştir. Anjiyogeneze inhibitörleri, farklı mekanizmalar ile etki göstermektedir.⁴⁶ Bunlar arasında, matris yıkılımının engellenmesi, anjiyogeneze aktivatörlerinin inhibisyonu veya endotel hücrelerinin doğrudan inhibisyonu gibi etkiler yer almaktadır. Anjiyogeneze inhibitörlerinin, kemoterapik tedavi ile birleştirilmesi daha etkili sonuçlar vermiştir. Bu anjiyogeneze inhibitörlerinin hücre hedeflerinin sitotoksik ajanlardan farklı olması ile açıklanmıştır. Ayrıca yan etkiler daha az izlenmiştir.⁴⁷ Tümör gelişiminde başlıca rol oynamasından dolayı VEGF ve reseptörleri, kanser tedavisinde iyi bir hedef olabilir. Anti-VEGF monoklonal antikor kullanımı, VEGF bağlanmasını inhibe eden peptitler veya VEGF reseptör sinyalinin durduran ajanlar denenmektedir.⁴⁴

SONUÇ

Önceleri anjiyogenezin sadece kanser, artrit ve psoriasis için önemli olduğu ileri sürülmüşken son yıllarda özellikle aşırı, yetersiz veya bozuk anjiyogenezin çok sayıda hastalığın patogenezinde rol oynadığı belirlenmiştir. Bu nedenle anjiyogenezi önleyici veya başlatıcı faktörlerle tedaviler önem kazanmıştır. Ancak tek bir anjiyogeneze inhibitörü ile yapılan tedavilerin özellikle kanser hücreleri tarafından oluşturulan çok sayıdaki anjiyogenik faktörler ile mücadelede yetersiz kalabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle gelecek yıllarda anjiyogenik hastalıkların moleküler temellerinin daha iyi belirlenmesi yeni tedavi modellerinin geliştirilmesi açısından önemli olabilecektir. Çok daha önemli bir konu anjiyogenik yanıtın bireyler arasında farklı olabileceğinin de düşünülmesidir.

ÖZET

Anjiyogenez, mevcut kan damarlarından yeni kan damarlarının gelişmesini tanımlar. Bu olay fizyolojik koşullarda oldukça önemlidir. Yara iyileşmesi, fertilizasyondan sonra plasenta gelişmesi, menstürasyondan sonra uterus iç tabakasının yenilenmesinde anjiyogenez yer alır. Proanjiyogenik ve anti anjiyogenik faktörler arasındaki denge bozulduğunda anjiyogenez kontrol edilemez. Bu olay özellikle tümörlerin yayılmasında önemli olabilir. Bu derleme yazısında anjiyogenezin temel moleküler mekanizmalarını ve tümör anjiyogenezini gözden geçirdik.

KAYNAKLAR

- Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med.* 2003; 9: 653- 660.
- Issa R, Krupinski J, Bujny T, Kumar S, Kaluza J, Kumar P. Vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, in human brain tissue after ischemic stroke. *Lab Invest.* 1999; 9: 417-425.
- Slevin M, West D, Kumar P, Rooney P, Kumar S. Hyaluronan, angiogenesis and malignant disease. *Int J Cancer.* 2004; 109: 793- 794.
- Luttun A, Dewerchin M, Collen D, Carmeliet P. The role of proteinases in angiogenesis, heart development, restenosis, atherosclerosis, myocardial ischemia, and stroke: insights from genetic studies. *Curr Atheroscler Rep.* 2000; 2: 407- 416.
- Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer.* 2003; 3: 401- 410.
- Kerbel RS. Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis.* 2000; 21: 505- 515.
- Yin G, Liu W, An P, Li P, Ding I, Planelles V, Schwarz EM, Min W. Endostatin gene transfer inhibits joint angiogenesis and pannus formation in inflammatory arthritis. *Mol Ther.* 2002; 5: 547- 554.
- Folkman Y, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem.* 1992; 267: 10931-10934.
- Folkman J. Angiogenesis and angiogenesis inhibition: An overview. *EXS Regul Angiogenesis.* 1997; 79: 1-7.
- Intaglietta M, Johnson PC, Winslow RM. Microvascular and tissue oxygen distribution. *Cardiovasc Res.* 1996; 32: 632-643.
- Lawrence WT, Diegelmann RF. Growth factors in wound healing. *Clin Dermatol.* 1994; 12: 157- 169.
- Goodsell DS. The molecular perspective: VEGF and angiogenesis. *Stem Cells.* 2003; 21: 118-119.
- Brooks PC. Role of integrins in angiogenesis. *Eur J Cancer.* 1996; 32A: 2423-2429.
- Hu DE, Hori Y, Fan TP. Interleukin-8 stimulates angiogenesis in rats. *Inflammation.* 1993; 17: 135- 143.
- Cleaver O, Melton DA. Endothelial signalling during development. *Nat Med.* 2003; 9: 661- 668.
- Allure R. Basement membranes: Structure, assembly and role in tumor angiogenesis. *Nat Rev Cancer.* 2003; 3: 422- 433.
- Haroon ZA, Peters KG, Greenberg CS, Dewhirst MW. Angiogenesis and Oxygen Transport in Solid Tumors. In: Totowa, New Jersey, Teicher BA (eds). *Antiangiogenic Agents in Cancer Therapy.* 3- 21, Humana Press, 1999.
- Mignatti P, Rifkin DB. Plasminogen activators and matrix metalloproteinases in angiogenesis. *Enzyme Protein.* 1996; 49: 117- 137.
- Ausprunk DH and Folkman J. Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc Res.* 1977; 14: 53-65.
- Andreasen PA, Kjoller L, Christensen L, Duffy MJ. The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis: *Int J Cancer.* 1997; 72: 1-22.
- Blasi F. uPA, uPAR, PAI- 1: Key intersection of proteolytic, adhesive and chemotactic highways? *Immunol Today.* 1997; 18: 415- 417.
- Stepanova VV, Tkachuk VA. Urokinase as a multidomain protein and polyfunctional cell regulator. *Biochemistry (Mosc).* 2002; 67: 109- 118.
- Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med.* 2003; 9: 669- 676.
- Pepper MS, Montesano R, Mandriota SJ, Orci L, Vassalli JD. Angiogenesis: A paradigm for balanced extracellular proteolysis during cell migration and morphogenesis. *Enzyme Protein.* 1996; 49: 138-162.
- Stone J, Itin A, Alon T, Pe'er J, Gnessin H, Chan-Ling T, Keshet E. Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci.* 1995; 15: 4738- 4747.
- Zachary I, Mathur A, Yla-Herttuala S, Martin J. Vascular protection: A novel nonangiogenic cardiovascular role for vascular endothelial growth factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20: 1512- 1520.
- Servos S, Zachary I, Martin JF. VEGF modulates NO production: The basis of a cytoprotective effect? *Cardiovasc Res.* 1999; 41: 509-510.
- Pepper MS, Ferrara N, Orci L, Montesano R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces plasminogen activators and plasminogen activator inhibitor- 1 in microvascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991; 181: 902- 906.

29. Turhan MS. Meme tümörlü hastalarda vasküler endotelial büyüme faktörü, nitrik oksit ve ürokinaz plazminojen aktivator. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıpta Uzmanlık tezi, 2004.
30. Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004; 59: 21- 6.
31. Steiling H, Werner S. Fibroblast growth factors: Key players in epithelial morphogenesis, repair and cytoprotection. *Curr Opin Biotechnol.* 2003; 14: 533-537.
32. Betsholtz C. Biology of platelet-derived growth factors in development. *Birth Defects Res Part C Embryo Today.* 2003; 69: 272- 285.
33. Govinden R, Bhoola KD. Genealogy, expression, and cellular function of transforming growth factor-beta. *Pharmacol Ther.* 2003; 98: 257- 265
34. Distler JH, Hirth A, Kurowska-Stolarska M, Gay RE, Gay S, Distler O. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis. *J Nucl Med.* 2003; 47: 149- 161.
35. 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.
36. Algire GH, Chalkey HW, Legallais FY, Park H. Vascular reactions of normal and malignant tumours in vivo. *JNCI.* 1945; 6: 73-85.
37. Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N Engl J Med.* 1971; 285: 1182-1186.
38. Chodak GW, Haudenschild C, Gittes FF, Folkman J. Angiogenic activity as a marker of neoplastic and preneoplastic lesions of the human bladder. *Ann Surg.* 1980; 192: 762-771.
39. McNamara DA, Harmey JH, Walsh TN, Redmond HP, Bouchier-Hayes DJ. Significance of angiogenesis in cancer therapy. *Br J Surg.* 1998; 85: 1044-1055.
40. Fernandez PM, Rickles FR. Tissue factor and angiogenesis in cancer. *Curr Opin Hematol.* 2002; 9: 401-406.
41. Tonini T, Rossi F, Claudio PP. Molecular basis of angiogenesis and cancer. *Oncogene.* 2003; 22: 6549-6556.
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. Manders P, Beex LV, Tjan-Heijnen VC, Geurts-Moespot J, Van Tienoven TH, Foekens JA, Sweep CG. The prognostic value of vascular endothelial growth factor in 574 node-negative breast cancer patients who did not receive adjuvant systemic therapy. *Br J Cancer.* 2002; 87: 772 -778.
44. Rosen LS. Clinical experience with angiogenesis signalling inhibitors: focus on vascular endothelial growth factor (VEGF) blockers. *Cancer Control.* 2002; 9: 36-44.
45. Linderholm B, Grankvist K, Wilking N, Johansson M, Tavelin B, Henriksson R. Correlation of vascular endothelial growth factor content with recurrences, survival, and first relapse site in primary node-positive breast carcinoma after adjuvant treatment. *J Clin Oncol.* 2000; 18: 1423 -1431.
46. Carter SK. Clinical strategy for the development of angiogenesis inhibitors. *Oncologist.* 2000; 5:51-54
47. Teicher BA, Sotomayor EA, Huang ZD. Antiangiogenic agents potentiate cytotoxic cancer therapies against primary and metastatic disease. *Cancer Res.* 1992; 52: 6702-6704.