

رگ سازی در سرطان پستان نوع داکتال تهاجمی و مقایسه آن با بافت نرمال

*دکتر محمد هادی صادقیان^۱، دکتر نوریه شریفی^۲، دکتر محمد تقی شاکری^۳

تاریخ دریافت: ۸۴/۵/۹

تاریخ پذیرش: ۸۴/۱۰/۲۲

چکیده

مقدمه

سرطان پستان یکی از شایعترین بدخیمی های انسانی بوده و دومین علت مرگ ناشی از سرطان در خانمهاست. عوامل متعددی در بیماریزایی و پیش آگهی بیماری دخیل هستند که یکی از مهمترین آنها رگ سازی می باشد. در این مطالعه بر آن شدیم که از روش ارزشمند ایمنوهیستوشیمی با استفاده از مارکر CD34 که مارکری مناسب برای سلولهای اندوتلیال عروق است به بررسی میزان رگ سازی در سرطان پستان پرداخته و مقایسه ای با بافت نرمال انجام دهیم. بدیهی است در صورت اثبات افزایش رگ سازی (میزان عروق کوچک درون تومور) درمان ضایعه به سمت کنترل رگ سازی گرایش خواهد یافت.

مواد و روش کار

در این مطالعه ۵۰ مورد از بافتهای سرطان پستان از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان قائم (عج) مشهد در سالهای اخیر انتخاب و بعد از بررسی های اولیه و برش بر روی بلوکهای آنها رنگ آمیزی برای مارکر ایمنوهیستوشیمی CD34 انجام شد. سپس در نقاطی که حداکثر رگ سازی وجود داشت، میزان MVD (Microvessel density) بررسی و ارتباط آن با فاکتورهای دیگر نظیر سن، درجه تومور، تعداد گره لنفی مبتلا و اندازه تومور مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

میزان MVD در بافت نرمال مجاور تومور $2/5 \pm 12/42$ و در سرطان پستان $23/4 \pm 46/76$ به دست آمد که اختلاف معنی داری را در میزان آنژیوژنز (رگ سازی) بین بافت نرمال و نئوپلازیک پستان نشان می دهد ($p=0/000$). همچنین به موازات افزایش درجه هیستولوژیک (گرید) میزان رگ سازی افزایش داشت. به طوری که MVD در گرید یک سرطان پستان $25/1 \pm 42/3$ و در گرید سه $26/5 \pm 63/75$ بود ولی این تفاوت در حدی نبود که این رابطه معنی دار شود ($p=0/2$).

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از مطالعه ما تفاوت مشخص در تراکم عروقی در سرطان پستان (MVD) بین بافت نرمال و سرطانی و همچنین رابطه بین افزایش رگ سازی را با افزایش درجه هیستولوژیک تومور نشان می دهد.

کلمات کلیدی: سرطان پستان، رگ سازی کوچک، ایمنوهیستوشیمی، رگ سازی.

۱- پاتولوژیست، استادیار بخش هماتولوژی، بیمارستان قائم، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

* نویسنده مسئول، تلفن: ۸۰۱۲۵۸۴، mh_sadeghian@yahoo.com

۲- استادیار بخش پاتولوژی، بیمارستان قائم، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۳- استادیار گروه پزشکی اجتماعی و آمار، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

مقدمه

سرطان پستان شایعترین بدخیمی در خانمها است. در ایالت متحده از هر ۹ خانم یک نفر در طول زندگی اش به این بیماری مبتلا می‌گردد (۱). همچنین این بیماری دومین علت مرگ ناشی از سرطان در خانمها است (۲). در کشور ما نیز این بیماری شایع می‌باشد (۳).

عوامل متعددی در بیماریزایی و همچنین پیش‌آگهی بیماران دخیل هستند. یکی از مهمترین آنها رگ‌سازی تومور می‌باشد. مطالعات بسیار جالب انجام شده در سالهای اخیر نشان داده که سرطانهای پستانی که جزء عروقی فراوان در استرومای خود، دارند دارای رفتار تهاجمی تری هستند (۲). بر این اساس تلاشهایی برای تعیین کمی رگ‌سازی و ارتباط آن با پیش‌آگهی بیماران انجام شده است. رگ‌سازی نه تنها برای ادامه رشد تومور بلکه برای ایجاد متاستاز نیز ضروری است. بنابراین رگ‌سازی یک همراه ضروری برای بدخیمی‌ها است. در مطالعات گوناگون نیز رابطه بین میزان رگ‌سازی (تراکم عروق کوچک) و احتمال متاستاز در سرطانهای مختلف از جمله سرطان پستان نشان داده شده، همچنین بر ارتباط بین رگ‌سازی و پیش‌آگهی در سرطان پستان تاکید شده است (۱).

در این مطالعه بر آن شدیم که از روش ارزشمند ایمنوهیستوشیمی با استفاده از مارکر CD34 که مارکری مناسب برای سلولهای اندوتلیال عروق است به بررسی میزان رگ‌سازی در سرطان پستان پرداخته و مقایسه‌ای با بافت نرمال انجام دهیم. بدیهی است در صورت اثبات افزایش رگ‌سازی (و میزان عروق کوچک درون تومور) درمان ضایعه به سمت کنترل رگ‌سازی گرایش خواهد یافت.

مواد و روش کار

روش جمع آوری نمونه: ابتدا با مراجعه به آرشیو بخش پاتولوژی بیمارستان قائم (عج) مشهد از بین نمونه‌های ارسالی در سالهای اخیر ۵۰ مورد سرطان پستان از نوع داکتال تهاجمی که تحت عمل ماستکتومی رادیکال قرار گرفته بودند و گزارشی از وضعیت گره‌های لنفاوی زیر بغل بیماران موجود بود انتخاب گردید. لام‌ها و بلوک‌های آنها استخراج و لام‌ها بازبینی شد. در صورت عدم مناسب بودن لام‌ها، برش مجدد و

رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین برای آنها انجام شد. بعد از تایید نهایی از نظر تشخیص، کیفیت و کفایت نمونه‌ها، لام‌ها علامت‌گذاری و برش بر روی بلوک‌های پارافینی انجام و رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی با مارکر CD34 انجام شد.

در نهایت لام‌ها مورد بازبینی دو پاتولوژیست قرار گرفت و نتایج گزارش شد. لازم به توضیح است که ابتدا قرار بود رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی با مارکر VIII-R انجام گیرد، ولی چون نتایج رنگ آمیزی و مقایسه آن با شاهد‌های مثبت و منفی، رضایت بخش نبود، مارکر عروقی (ایمنوهیستوشیمی) دیگری به نام CD34 مورد استفاده قرار گرفت که در مقایسه با شاهد‌های مثبت و منفی نتایج قابل قبول و رضایت بخشی داشت.

بلوک‌های پارافینی موارد انتخاب شده به ضخامت ۴ میکرومتر برش داده شد. برای ایمنوهیستوشیمی، روش ایمنوپراکسیداز استرپتوآویدین-بیوتین استفاده گردید. ابتدا برشها پارافین‌گیری و آبدهی شده و با محلول پراکسیداز هیدروژن ۳٪/انکوبه و بازیابی آنتی ژن توسط محلول بافر نیترات ۰/۰۱ مولار (با pH حدود ۶) برای ۲۰ دقیقه در مایکروویو انجام شد. در مرحله بعدی برشهای با آنتی بادی ضد CD34

(Mouse antibody prediluted clone CB End /10 code:CMA 334)

در درجه حرارت ۳۷ درجه به مدت ۶۰ دقیقه انکوبه گردیدند. در مرحله بعدی از

biotinylated link antimouse and antirabbit immunoglobulin

و کمپلکس استرپتوآویدین پراکسیداز

DAKOLSABR2 system (Kit, Demark, peroxidase)

استفاده گردید. وجود پراکسیداز با کروموزن دی‌آمینوبنزیدین

تتراهیدروکلراید (DAB) نشان داده شد. رنگ آمیزی زمینه‌ای

هماتوکسیلین مایر روی اسلایدها به کار رفت و پس از آب‌گیری

لامل چسبانده شد. جهت تعیین تراکم عروقی به این ترتیب

عمل شد که ابتدا با درشت‌نمایی ۱۰۰ میکروسکوپ نوری

کانونی با بیشترین تراکم مقاطع عروقی و سلول‌اندوتلیال

رنگ گرفته انتخاب و سپس با درشت‌نمایی ۴۰۰ شمارش

انجام شد و تعداد آنها به عنوان MVD گزارش گردید

(شکل ۱).

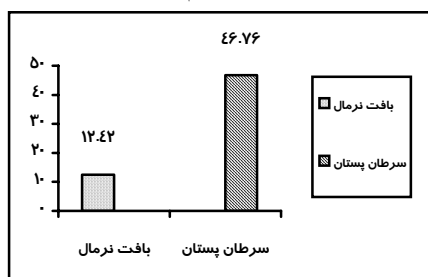
نتایج

در این مطالعه ۵۰ نمونه بیوپسی از سرطان پستان از نوع داکتال تهاجمی انتخاب و در نقاط حداکثر تراکم یا نقاط داغ (Hot spot)، میزان تراکم عروق کوچک یا MVD (microvessel density) بررسی گردید. در کنار آن فاکتورهایی نظیر سن، اندازه تومور و تعداد گره لنفی درگیر زیر بغل و درجه هیستولوژیک تومور مورد بررسی قرار گرفت و بغل ارتباط آن با MVD ارزیابی شد. در این مطالعه یک نمونه سرطان پستان با گرید III مربوط به خانم ۳۳ ساله ای که MVD آن ۱۳۶ شمارش شده بود، به خاطر بزرگی بیش از حد و احتمال خطا در استنتاج، حذف گردید. لذا مطالعه نهایی بر روی ۴۹ بیمار صورت گرفت. نتایج به دست آمده به شرح زیر می باشد:

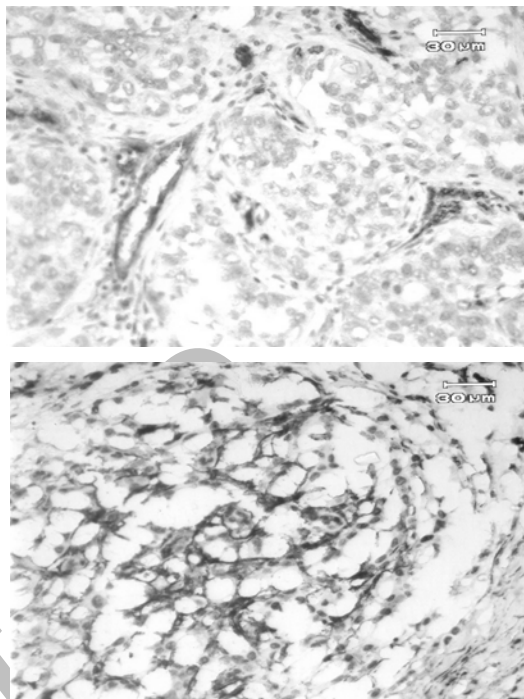
- ۱- تمام بیماران تحت مطالعه (۱۰۰٪) از جنس مؤنث بودند.
 - ۲- کمترین سن بیماران ۲۰ سال و بیشترین ۷۷ سال بود. ۵ بیمار (۱۰/۲٪) کمتر از ۳۵ سال، ۳۴ بیمار (۶۹/۴٪) ۳۵-۵۵ سال و ۱۰ بیمار (۲۰/۴٪) بالای ۵۵ سال سن داشتند.
 - ۳- حداقل اندازه تومور ۱، حداکثر ۱۰ و میانگین ۳/۶ سانتیمتر بود.
 - ۴- ۱۲ بیمار (۲۴/۵٪) دارای گرید I، ۳۳ بیمار (۶۷/۳٪) گرید II و ۴ بیمار (۸/۲٪) دارای گرید III سرطان پستان بودند (جدول ۱).
- جدول ۱: مقایسه میانگین MVD در درجات مختلف هیستوپاتولوژی سرطان داکتال پستان

گرید سرطان داکتال	تعداد	میانگین MVD	کمترین	بیشترین
گرید I	۱۲	۴۲/۳ ± ۲۱/۲	۱۱	۹۷
گرید II	۳۳	۴۷/۹ ± ۲۵/۱	۹	۹۱
گرید III	۴	۶۳/۵ ± ۳۷/۵	۲۶	۹۷

- ۵- شاخصهای MVD در بافت نرمال $۱۲/۴۲ ± ۲/۵$ و در سرطان پستان $۴۶/۷۶ ± ۲۳/۴$ بود (نمودار ۱) که تفاوت در میزان MVD در دو گروه بافت نرمال و افراد سالم معنی دار شد ($p=۰/۰۰۰$).



نمودار ۱: تفاوت در میزان MVD در دو گروه بافت نرمال و افراد مبتلا به سرطان پستان.



شکل ۱: دو نما از عروق بافت تومورال پستان، رنگ شده با مارکر CD34

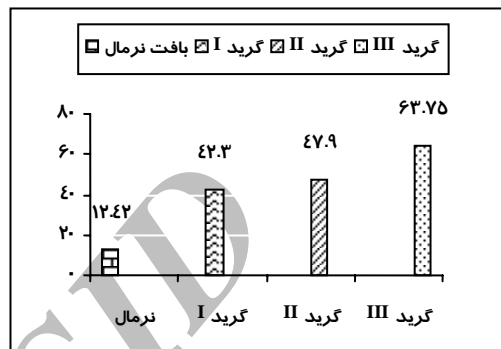
جهت تهیه شاهد منفی، آنتی بادی از محیط آزمایش حذف و در مورد شاهد مثبت از عضله رحمی با مقاطع عروقی مشخص استفاده گردید. اسلایدهای تهیه شده (ایمونوهیستوشیمی) بعد از تطابق با برشهای اولیه توسط دو پاتولوژیست بررسی و تفسیر گردیدند. از آنجایی که روش ایمنوهیستوشیمی یک فرایند تشخیصی چند مرحله ای است لذا باید در انتخاب بافت، فیکساسیون، پاساژ بافتی و رنگ آمیزی دقت فراوان به کار رود. در حد امکانات و توان سعی شد اسلایدهای مناسب جهت رنگ آمیزی انتخاب و کنترل دقیق در مراحل رنگ آمیزی بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام گیرد تا از نتایج مثبت و منفی کاذب پیش گیری شود. ضمن اینکه بررسی لام ها توسط دو پاتولوژیست انجام شد تا خطای دید احتمالی به حداقل برسد.

برای تجزیه و تحلیل نتایج ضمن استفاده از شاخص های آماری، نمودار و فاصله های اطمینان، از آزمون t مستقل و ضرایب همبستگی پیرسون و اسپیرمن هم استفاده شد. قبل از انجام آزمونهای آماری، کنترلهای لازم در خصوص برقراری شرایط آزمون به عمل آمد.

در خانمها می باشد (۲). در کشور ما نیز این سرطان شایع بوده اگر چه آمار دقیقی در دسترس نیست ولی بر اساس مطالعه انجام گرفته در انستیتو سرطان و بیمارستان امام خمینی (ره) تهران که بر روی بیماران ارجاع داده شده به مراکز فوق و بررسی اطلاعات مرکز ثبت موارد سرطان در بیمارستانها، سرطان پستان ۱۰/۸٪ کل سرطانها را در ایران تشکیل می دهد. در این مطالعه سرطان پستان ۴۱۵ مورد از کل ۳۸۲۸ مورد بدخیمی را تشکیل داده است (۳).

بر اساس طبقه بندی سازمان بهداشت جهانی سرطان پستان به دو دسته عمده: سرطان درجا و نوع منتشر و هر کدام از آنها به انواع داکتال و لوبولار تقسیم می شوند. بر اساس این طبقه بندی سرطان داکتال منتشر شایعترین نوع می باشد (۴). سرطان پستان در زنان قبل از ۲۵ سالگی شیوع بسیار کمی دارد (۱، ۲، ۵)، این سرطان قبل از ۵۰ سالگی شیوع کمی داشته و بعد از ۵۰ سالگی شایع می باشد (۲). نسبت مرد به زن تقریباً ۱ به ۲۰۰ می باشد (۲-۵). عوامل متعددی بر پیش آگهی سرطان پستان مؤثرند. یکی از آنها رگ سازی در تومور می باشد. اغلب مطالعات رابطه بین رگ سازی (معرف میزان رگ سازی) و بروز متاستاز را نشان داده اند (۶). تومورها نمی توانند بدون افزایش عروق قطری بیش از یک تا دو میلی متر پیدا کنند و با افزایش اندازه بیش از این مقدار در اثر هیپوکسی سلولها دچار آپوپتوز می شوند. رگ سازی نه تنها برای رشد تومور اولیه بلکه برای بروز متاستاز نیز ضروری است. به این جهت رگ سازی یک ضرورت بیولوژیک برای بدخیمی ها محسوب می شود (۱). رابطه بین میزان رگ سازی (تراکم عروق کوچک یا MVD) و احتمال متاستاز در ملانوم، سرطان پستان، ریه، کولون و پروستات در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (۷). در بعضی از این سرطانها (پستان و پروستات) ثابت شده است که رگ سازی اثری مشخص بر پیش آگهی بیماران دارد (۱). مشاهدات بسیار جالب انجام شده در سالهای اخیر رابطه بین وجود رگ سازی فراوان در استرومای اطراف تومور (در سرطان پستان تهاجمی) و بروز رفتار تهاجمی تر تومور را نشان داده است (۸، ۹، ۱۰). بررسی وضعیت عروق در مطالعات مختلف با روش های هیستولوژی، ایمنوهیستوشیمی و آنالیز کامپیوتری

۶- شاخصهای MVD در گرید I معادل $42/3 \pm 25/1$ ، در گرید II $21/2 \pm 47/9$ و در گرید III $26/5 \pm 63/75$ بود. (نمودار ۲) ولی میزان تفاوت در حدی نبود که از لحاظ آماری معنی دار شود ($p > 0/1$).



نمودار ۲: میزان MVD در بافت نرمال پستان و بافت سرطانی با درجات مختلف هیستوپاتولوژیک.

۷- رابطه سن بیماران، اندازه توده سرطان پستان و تعداد غدد لنفاوی مبتلا با میزان رگ سازی یا رگ سازی (MVD) بررسی شد که به ترتیب مقادیر ضریب همبستگی پیرسون در مورد سن ($r = 0/14$ ، $p = 0/30$)، اندازه توده ($r = 0/08$ ، $p = 0/25$) و تعداد گره لنفی درگیر ($r = 0/27$ ، $p = 0/05$) بودند که این ضرایب با $\alpha < 0/05$ معنی دار نیستند.

۸- برای تعیین ارتباط بین سن بیماران، اندازه تومور و تعداد گره لنفاوی درگیر با درجه هیستولوژیک تومور از ضریب همبستگی اسپیرمن استفاده شد که این مقدار در مورد اندازه تومور ($r = 0/31$ ، $p = 0/02$)، در مورد سن ($r = 0/16$ ، $p = 0/2$) و در مورد تعداد گره لنفی درگیر ($r = 0/3$ ، $p = 0/03$) بود که نشان دهنده ارتباط افزایش درجه هیستولوژیک با افزایش اندازه تومور و افزایش غدد لنفاوی درگیر بود.

بحث و نتیجه گیری

سرطان پستان یکی از شایعترین بدخیمی ها است به طوری که در ایالت متحده از هر ۹ زن یک نفر در طول زندگی خود به آن مبتلا می گردد (۱). در سال ۱۹۹۳ در آمریکا ۱۶۳۰۰۰ مورد جدید از سرطان پستان و ۴۵۰۰۰ مرگ ناشی از آن (۳۵ درصد همه موارد) گزارش شد. همچنین این بیماری به عنوان دومین علت مرگ ناشی از سرطان (۱۶ درصد مرگ و میرها)

بررسی شد، داشته است (اندکس پرولیفراسیون سلولی برای DCIS نوع کومدو برابر ۱۹/۵، برای DCIS نوع غیر کومدو ۴/۲ و برای LCIS عدد ۴/۳ به دست آمد). همچنین آنها بیماران را به مدت ۴۰ ماه پی گیری کردند که شش بیمار DCIS از نوع غیر کومدو عود داشته و یک بیمار از نوع کومدو از متاستاز ریوی فوت نمود (۱۴).

در مطالعه دیگری توسط Ryden L. ارزش MVD در نمونه های بیوپسی سوزنی پستان در ۵۴ بیمار و مقایسه آن با نمونه های بیوپسی باز مورد بررسی قرار گرفت که در کل رابطه معنی داری بین این دو مشاهده نگردید. اما ارتباط مشخصی در سرطان لوبولار و تومورهای با قطر بزرگتر از ۲۰ میلی متر وجود داشت (۱۵).

بر اساس مطالعه دیگری که بر روی ۲۵۲ بیمار در ژاپن انجام شد نشان داده شد که MVD فاکتور پروگنوستیک با ارزشی بوده که اثر آن بر روی میزان بقای بیماران، مستقل از عوامل دیگر پیش آگهی نظیر درگیری گره لنفی و گریدهسته ای و بروز ریسپتور استروژن می باشد و با MVD می توان بیماران High risk را انتخاب و بر روی آنها درمان تکمیلی تری انجام داد (۱۶). در مقابل در مطالعه دیگر انجام شده بر روی ۱۰۴ بیمار در فنلاند، MVD تومور اولیه همراهی مشخصی با پاسخ بیماران به شیمی درمانی و پیش آگهی نداشت. اگر چه در مطالعه آنان به این نکته هم اشاره شده که دوره عاری از بیماری (بعد از درمان) در بیماران دارای MVD کمتر، طولانی تر بوده است (۱۷).

به علت وجود تناقض در نتایج گزارش شده در زمینه رگ سازی، یک بررسی بزرگ در فرانسه بر روی نتایج ۸۷ مطالعه قبلی (انجام شده با مارکهای ایمونوهیستوشیمی VIII, CD31, CD34) صورت گرفت و رابطه بین MVD با طول عمر عاری از عود در بیماران یا RFS (Relaps Free survival) و طول عمر کلی یا OS (overall survival) ارزیابی شد. بر اساس نتایج آنها MVD بالا با پیش آگهی بدتر ارتباط داشت. حتی در بیمارانی که درگیری گره لنفی نیز نداشتند، افزایش MVD ارتباط با سوروی ضعیف بیماری داشت. همچنین MVD اندازه گیری شده با مارکر CD31 یا CD34 ارتباط بهتری با پیش آگهی نسبت به مارکر VIII-R داشت (۱۸).

انجام شده است. بر اساس مطالعه ناکاراتو و همکاران میزان تراکم عروقی یا VD که معادل $VD = [\text{Microvessel number} / (\text{microvessel area} + \text{residual stroma area})]$ است معادل $2/48 \pm 0/14$ در لوبولهای پستانی و $2/95 \pm 0/16$ در مجاری گزارش شد. عروق کوچک لوبولهای پستانی از سینوزوئیدال و عروق کوچک مجاری از نوع کلاسیک می باشند (۱۱).

اولین مطالعه برای بررسی تراکم عروق کوچک داخل توموری (IMD) به روش ایمونوهیستوشیمی با مارکر VIII-R و بررسی رابطه آن با سیر بیماری سرطان پستان در سال ۱۹۹۱ به وسیله widner و collegus انجام شد. آنها رابطه خطی و نزدیکی بین افزایش شمارش تراکم عروق کوچک و متاستاز را گزارش کردند. این روش استاندارد آنها امروزه هم برای ارزیابی IMD به کار می رود به طوری که فقط با بررسی حتی سه کانون حداکثر (Hot spot) از رگ سازی می توان احتمال متاستاز را تعیین کرد. امروز این مطالعه با مطالعات دیگری با استفاده از مارکهای دیگر عروقی نظیر CD31 و CD34 نیز تأیید شده است (۸). افزایش رگ سازی همچنین هدف مهم برای درمان ضد توموری محسوب می گردد (۱۲، ۱۳).

با استفاده از تکنیک ماموگرافی به عنوان غربالگری بیماران امروزه میزان کارسینوم های درجا افزایش یافته است. سرطان های درجای پستان که حدود ۴۰ درصد کل سرطانهای پستان را تشکیل می دهند به دو نوع عمده داکتال و لوبولار تقسیم می گردند. اگرچه اکثر مطالعات مربوط به رگ سازی بر روی سرطانهای مهاجم انجام شده است مواردی هم به نقش رگ سازی در سرطان درجا پرداخته اند. بر اساس مطالعه Ying Cao و همکاران نتایج زیر به دست آمده است. آنها بیماران خود را به سه گروه:

الف - DCIS (سرطان داکتال درجا) نوع کومدو

ب - DCIS نوع غیر کومدو

ج - LCIS یا سرطان درجا نوع لوبولار

تقسیم کردند. در بین بیماران شمارش بالای عروقی قویاً همراهی با DCIS نوع کومدو داشت (برای DCIS نوع کومدو عدد ۲۸/۹ و برای نوع غیر کومدو عدد ۲۰/۵ و برای LCIS عدد ۱۷/۵) که این رگ سازی رابطه نزدیکی با درجه بالای هیستولوژیک و میزان پرولیفراسیون که با مارکر MIB-1

از یک بیمار تخمین دقیق تری از میزان MVD به دست خواهد داد. همچنین فالوآپ بیماران ارتباط MVD با میزان پراگندگی را روشن خواهد ساخت.

تشکر و قدردانی

نتایج حاصل از این مطالعه مربوط به طرح پژوهشی با عنوان رگ سازی در سرطان پستان و بررسی مقایسه آن با بافت نرمال است که با شماره ۸۲۰۷۷ در تاریخ ۸۲/۱۰/۱۷ از طرف معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به تصویب رسیده است. لذا به این وسیله از آن معاونت محترم و شورای محترم پژوهشی دانشگاه تشکر می‌گردد. همچنین از زحمات و همکاری بی‌دریغ پرسنل محترم بخش آسیب شناسی بیمارستان قائم (عج) به ویژه آقای مطهری که در تهیه و رنگ آمیزی لام‌ها نهایت همکاری را داشته‌اند قدردانی می‌گردد.

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نیز تفاوت مشخص در رگ سازی (MVD) بین بافت نرمال و سرطانی را نشان می‌دهد. از سوی دیگر مطالعه ما افزایش رگ سازی و رگ سازی سرطان پستان را به موازات افزایش درجه هیستولوژیک تومور مشخص کرده است. هر چند این افزایش معنی‌دار نیست که شاید علت آن کمی حجم نمونه به خصوص در بیماران با گرید III بوده است ($p=0.02$) بدیهی است که فالوآپ بیماران ارتباط MVD با میزان پراگندگی را روشن خواهد ساخت.

امیدواریم با توجه به نقش کلیدی رگ سازی در رفتار بیولوژیک تومورها و سرطان پستان نتایج حاصل از این مطالعه راهگشایی در انتخاب روشهای درمانی مؤثرتر و طول عمر بیشتر بیماران مبتلا به سرطان پستان باشد. در مطالعه ما از هر بیمار یک برش از محل مناسب انتخاب و مورد رنگ آمیزی ایمنو‌هیستوشیمی قرار گرفت. بدیهی است تهیه برشهای فراوان تر

References

1. Cotran R. S., Kumar V., Collins T., Robbins Pathologic Basis of Disease, 6th ed., W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1999, 1104, 301.
2. Damjanov I., Linder J., Anderson Pathology, 10th ed., Mosby, New York, 1996, 2365.
3. اصفهانی فاطمه، سرطان پستان و وضعیت آن در ایران، کتابچه خلاصه مقالات چهارمین همایش هماتولوژی و انکولوژی ایران، ۱۳۸۳، ۱.
4. Sternbery S., et al., Diagnostic Surgical Pathology, 3th ed., Lipincott Williams and Wilkins, Baltimore, 1999, 349.
5. Fletcher C. D. M., Diagnostic Histopathology of Tumors, Second ed., Churchill Livingstone, New York, 2000, 886.
6. Folkman J., 1995, The influence of angiogenesis, research on management of patients with breast cancer, Breast Cancer Res. Treat., 36,109.
7. Folkman J., Angiogenesis, In Holland J. F., et al., (eds.), Cancer medicine, 4th ed., Baltimore, Williams and Wilkins, 1997, 181.
8. Weidner N., 1995, Intratumor microvessel density as prognostic factor in cancer, Am. J. Pathol., 147-149.
9. Weidner N., 1993, Tumor angiogenesis, review of current application in tumor prognostication, Semin. Diagn. Pathol., 10, 302-313.
10. Weidner N., Folkman J., et al., 1992, Tumor Angiogenesis, A new significant and independent prognostic indicator in early stage breast carcinoma, J. Natl. Cancer Inst., 84, 1875-1887.
11. Naccarto A. G., et al., 2003, Definition of the microvascular pattern of the normal human adult mammary gland, J. Anat., 203, 599-603.
12. Bottini A., et al., 2002, Changes in microvessel density as assessed by CD34 antibody after primary chemotherapy in human breast cancer, Clin. Cancer Res., 8, 1816-21.
13. Leek R. D., 2001, The prognosis role of angiogenesis in breast cancer, Anticancer Res., 21, 4325-4331.
14. Ying C., et al., 2004, Noninvasive carcinoma of Breast angiogenesis and cell proliferation, Arch. Pathol. Lab. Med., 128, 893-896.
15. Ryden L., Boiesen P., Jonsson P. E., 2004, Assessment of microvessel density in core needle biopsy specimen in breast cancer, Anticancer Res., 24, 371-375.
16. Tsutsui S., Kume M., Era S., 2003, Prognostic value of microvessel density in invasive ductal carcinoma of the breast, Breast Cancer, 10, 312-319.
17. Tynninen O., et al., 2002, Tumor microvessel density as predictor of chemotherapy response in breast cancer patients, Br. J. Cancer, 86, 1905-1908.
18. Uzzan B., et al., 2004, Microvessel density as a prognostic factor in women with breast cancer: a systematic review of the literature and meta analysis, Cancer Res., 64, 2941-2955.