

Originalni rad

Povećana izraženost receptora vaskularnog endotelijalnog faktora rasta u recidivu karcinoma dojke

Zdenka Gojković¹, Zoran Aleksić², Brano Topić³, Ivanka Rakita¹, Predrag Dašić¹, Marina Vižin¹, Aleksandar Guzijan³, Milka Vještica¹, Dalibor Grahovac³

¹Klinika za onkologiju, Klinički centar Banja Luka, Bosna i Hercegovina

²Klinika za opštu i abdominalnu hirurgiju, Klinički centar Banja Luka, Bosna i Hercegovina

³Centar za dojku, Klinički centar Banja Luka, Bosna i Hercegovina

Kratak sadržaj

Uvod. Histološki gradus (HG), koji označava zrelost tumora, i nuklearni gradus (NG), koji predstavlja nuklearnu morfometriju, važni su prognostički faktori karcinoma dojke. Sa progresijom tumora povezan je i vaskularni endotelijalni faktor rasta (VEGF). Cilj rada je da se korelira stepen diferenciranosti tumora sa izraženošću receptora za VEGF u recidivu karcinoma dojke.

Metode. Ukupno je analizirano 40 uzoraka recidiva karcinoma dojke i 45 uzoraka primarnog tumora. Određeni su histološki i nuklearni gradusi i u primarnom tumoru i u recidivu, te izraženost receptora za VEGF.

Rezultati. U ispitivanom uzorku najučestaliji je duktalno invazivni karcinom (75,3%). Histološki gradus I je češći od gradusa III i bilo ih je 27,4% naspram 13,7%. Bilo je 24,7% slučajeva nuklearnog gradusa (NG) I, 46,6% slučajeva NG II i 28,8% slučajeva NG III. Od ukupno 85 testiranih uzoraka na receptore za VEGF samo je u jednom uzorku primarnog karcinoma dojke bio pozitivan receptor za VEGF, ali je u 15,1% uzoraka recidiva receptor za VEGF bio pozitivan. Ispitivanjem odnosa histoloških gradusa i receptora za VEGF nije nađena statistička značajna razlika u broju uzoraka sa pozitivnim receptorom za VEGF između različitih histoloških gradusa (Pearson $H_{i2}=4,79$; $p=0,571$). Međutim, nađena je značajna razlika u pozitivnosti receptora za VEGF u uzorcima različitih nuklearnih gradusa. Receptor za VEGF je bio srazmjerno manje zastupljen u NG II u odnosu na druga dva gradusa (Mann Whitley $U=272,0$; $p=0,05$ za NG I i NG II i Mann Whitley $U=306,000$ $p=0,02$ za NG II i NG III).

Adresa autora:
Doc. dr Zdenka Gojković
Ul. Dvanaest beba bb,
78000 Banja Luka
zdenka.gojkovic@kc-bl.com

Zaključak. Receptor za VEGF je bio pozitivan u uzorcima recidiva karcinoma dojke i ekspresija receptora VEGF bila je češća u slabije diferenciranim karcinomima.

Ključne riječi: karcinomi dojke, histološki i nuklearni gradus, receptori za VEGF

Uvod

Karcinom dojke je treći po učestalosti u svijetu i vodeće je maligno oboljenje kod žena, i predstavlja veliki problem u javnom zdravstvu širom svijeta. Sveobuhvatne procjene o nivou incidence i mortaliteta od karcinoma, u Evropi, mogu se dobiti od GLOBOCAN 2002 projekt Internacionalne agencije za ispitivanje karcinoma [1]. Prema podacima Instituta za zaštitu zdravlja Republike Srpske incidenca karcinoma dojke u 2008. godini je bila 334, odnosno stopa incidence je 47,5 a procenat novotkrivenih slučajeva karcinoma dojki u Republici Srpskoj je bio 19,7 [2].

Smatra se da postoji preko trideset različitih faktora koji utiču na dužinu preživljavanja bolesnica operisanih od karcinoma dojke [3]. Uprkos primarnom (adjuvantnom) liječenju karcinoma dojke, relaps nastaje kod 10-30% bolesnica koje su u momentu operacije i adjuvantnog liječenja bile u prvom stadijumu bolesti. Tokom sljedećih deset godina praćenja još će kod 40-50% liječenih nastupiti relaps bolesti. Oko 85% relapsa nastaje unutar pet godina od postavljanja dijagnoze. Postoperativna radioterapija smanjuje mogućnost nastanka lokoregionalnih recidiva, ali će se i oni javiti kod 10% zračenih pacijenata. Epidemiološki faktori rizika se konstantno prate i koreliraju sa pojavom rekurencije karcinoma dojke [4]. Lokalni recidiv znači ponovnu pojavu karcinoma dojke u polju operacije ili zračenja. Stopa nastanka lokoregionalnog recidiva varira između 5 i 30%, pa čak i do 50%, u zavisnosti od pacijentovih inicijalnih faktora rizika [5].

Pri histološkoj analizi tumora važno je odrađivanje histološkog gradusa, koji označava zrelost tumora, kao i nuklearnog gradusa, koji predstavlja nuklearnu morfometriju. Ovo su bitni prognostički faktori karcinoma dojki. Viši nuklearni gradus odgovara slabo diferenciranim tumorima sa lošijom prognozom. Kod tumora dojke histološki gradus se najčešće određuje prema uputstvima Scarf-Bloom-Richardsona [6]. Gradusi I i III pokazuju dobru korelaciju sa kliničkim parametrima, što se ne može reći za gradus II koji je dosta široka kategorija sa heterogenim članovima [7]. Parametri histološkog gradusa su tubularne formacije, nuklearna hiperhromazija i broj mitoza. Na osnovu ovoga, tumor se dijeli u dobro diferentovan (gradus I), umjereno dif-

erentovan (gradus II), i slabo diferentovan (gradus III). Sve veća pažnja poklanja se morfometriji nukleusa. Tako je utvrđeno da postoji dobra korelacija sa prognozom u odnosu na „thymidil labeling test“. Nuklearnom morfometrijom određujemo: veličinu i oblik jedra, dijаметar jedra, njegovu površinu, nuklearni perametar i broj mitoza.

Pravilno funkcionisanje tkiva zahtjeva adekvatnu i pravilnu vaskularnu mrežu arterijskog, kapilarnog i venskog sistema. Rast tumora je povezan sa vaskularnim endotelijalnim faktorom rasta (VEGF). Tumori produkuju proangiogenetičke faktore koji stimulišu rast krvnih sudova, koji su abnormalne strukture i funkcije. Transfekcija tumorskih ćelija sa angiogenim stimulatornim proteinima povećava tumorski rast, invazivnost, razvoj mikrovaskulature i metastaza. Obimni laboratorijski podaci ukazuju da angiogeneza igra esencijalnu ulogu u razvoju karcinoma dojke. VEGF je jedan od brojnih faktora povezanih sa angiogenezom, procesom esencijalnim za rast tumora [8]. Judah Folkman [9] je 1971. postavio prvi postulat da je tumorski rast zavisen od formiranja novih krvnih sudova iz već postojeće vaskulature. Tumor nije rastao dalje od 2-3mm kad nema stimulacije angiogeneze. Angiogeneza je zahtjev za rast tumora i formiranje metastaza. Interakcija VEGF i odgovarajućih receptora dovodi do proliferacije endotelinih ćelija i formiranja novih krvnih sudova. U kliničkim studijama je potvrđena nedvosmislena povezanost VEGF i stepena napredovanja bolesti (sa ili bez metastaze) [10], dok inhibiranje VEGF, inhibira i rast tumora. U uslovima hipoksije povećana je sekrecija VEGF. Tumorske ćelije otpuštaju VEGF in vitro. Obilna ekspresija VEGF kod ljudskih tumora je u vezi sa gustoćom mikrokrvnih sudova i kliničkom prognozom. Henk [11] i saradnici su definisali odnos između gustoće mikrovaskularizacije i preživljavanja žena u ranom stadiju karcinoma dojke. To je nezavisan faktor za preživljavanje i slobodan period, DFS. Zajedno, ova posmatranja sugerišu da je angiogeneza esencijalna za rast tumora i definiše njegovu agresivnost. Nadalje sugerišu da bi sposobnost inhibiranja angiogeneze klinički moglo imati značajne implikacije za sposobnost kontrolisanja tumora. Pristup koji najviše obećava je ciljanje VEGF.

Cilj rada je da se uporedi izraženost recep-

tora za VEGF u karcinomima dojke različitog gradusa i ispita da li su slabo diferencirani karcinomi dojki udruženi sa markerima neoangiogeneze tj. sa receptorom za VEGF kao važnim prognostičkim faktorom oboljelih od karcinoma dojki.

Metode rada

U radu je analizirano ukupno 85 uzoraka od 45 pacijentkinja koje su nakon primarnog liječenja karcinoma dojki dobile recidiv: od toga je 40 uzoraka recidiva karcinoma dojke i 45 uzoraka primarnog karcinoma dojki. Određeni su histološki i nuklearni gradusi i u primarnom karcinomu dojki i u recidivu. Nije bilo značajnijih odstupanja u gradusu primarnog karcinoma i recidiva. Određena je izraženost receptora za VEGF u uzorcima recidiva, a i primarnog karcinoma imunohistohemijskom metodom. Upoređena je ekspresija receptora za VEGF sa različitim stepenima diferenciranosti karcinoma. U analizi podataka koristile su se metode deskriptivne statistike (aritmetička sredina, standardne devijacije, grupisanje, tabeliranje i grafikoni). Dobijeni podaci su upoređeni Hi-kvadrat testom.

Rezultati

Najmlađa pacijentkinja u uzorku bila je stara 35, a najstarija 71 godinu, prosječna starost iznosila je 53,2 godine, medijana 53 godine. Kod 90,6% pacijentkinja je bila poznata veličina primarnog karcinoma dojki. Prema pTNM klasifikaciji najveći broj pacijentkinja je pripadao pT2 grupi (48,1%), zatim pT1 (23,4%), dok je 9,1% imalo lokalno uznapredovalu bolest (pT4) (Tabela 1).

Najučestaliji, prema histološkom tipu, su

duktalni karcinomi dojki - 75,3% a 24,7% lobularni karcinomi. Ukupno je 58,9% karcinoma bilo histološkog gradusa II. Karcinomi histološkog gradusa I su bili češći od karcinoma histološkog gradusa III: karcinoma gradusa I je bilo 27,4% u odnosu na 13,7% histološkog gradusa III (Tabela 2).

Ukupno je 46,6% karcinoma bilo nuklearnog gradusa II. Karcinoma nuklearnog gradusa III je bilo nešto više od nuklearnog gradusa I. Nuklearnog gradusa III je bilo 28,8%, dok je karcinoma nuklearnog gradusa I bilo 24,7%. Nuklearni gradus je dobar prognostički parametar.

Analizirajući veličinu recidiva, najveći procenat, 43,6%, recidiva su bili veličine 11-20mm. Recidiv veličine ispod 10mm bio je dijagnostikovao u 24,4%. Ovo čini 68,0% svih recidiva. Manji broj recidiva, 10,3%, je bio veličine preko 21-30mm a u 21,8% su bili veličine preko 30mm.

VEGFR je bio prisutan kod manjih recidiva, veličine ispod 20mm, dok se kod većih recidiva nije nalazio.

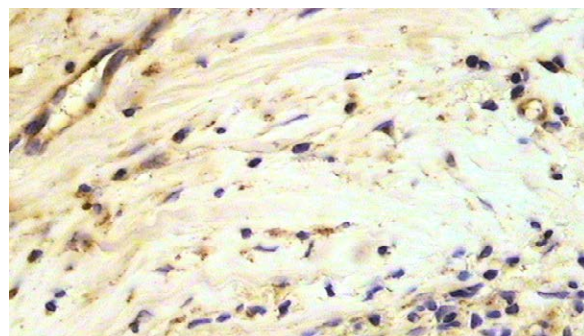
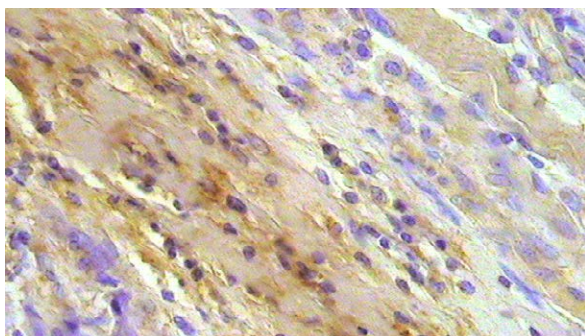
Samo je u jednom uzorku primarnog karcinoma dojki bio pozitivan receptor za VEGF, ali se kod 15,1% uzoraka recidiva nalazi pozitivan receptor za VEGF. Najizraženija pozitivnost VEGFR je kod dukalnog karcinoma NOS.

Tabela 1. Distribucija karcinoma dojki prema veličini (pT)

Veličina karcinoma	Učestalost	Procenat %	Validni procenat
Valid			
pT1	18	21,2	23,4
pT2	37	43,5	48,1
pT3	15	17,6	19,3
pT4	7	8,2	9,1
Ukupno	77	90,6	100,0
Nedostaju podaci	8	9,4	
Ukupno	85	100,0	

Tabela 2. Distribucija histološkog i nuklearnog gradusa

	Histološki gradus, broj (%)	Nuklearni gradus, broj (%)	Validni procenat Histološki/nuklearni gradus
Gradus I	20 (23,5)	18 (21,2)	27,4/24,7
Gradus II	43 (50,6)	34 (40,0)	58,9/46,6
Gradus III	10 (11,8)	21 (24,7)	13,7/28,8
Ukupno	73 (85,9)	73 (85,9)	100,0/100,0
Nedostaju podaci	12 (14,1)	12 (14,1)	
Ukupno	85 (100)	85 (100)	



Slika 1. Izražena pozitivnost receptora za VEGF u tumorskim ćelijama recidiva karcinoma dojke

Iako je VEGFR bio negativan kod tubularnih, tubulolobularnih i medularnih karcinoma, zbog cjelokupno male pozitivnosti nije bilo statistički značajne razlike u pozitivnosti među histološkim tipovima (Mann Whitney $U=177.000$ $p=0.233$). Na slici 1 prikazana je izražena pozitivnost receptora za VEGF, koja je dobijena obradom materijala uzoraka recidiva karcinoma dojki.

Različito diferencirani karcinomi: histološki i nuklearni gradusi od I do III su različito pokazivali pozitivnost receptora za VEGF. Odnos između različitih gradusa i pozitivnosti VEGF receptora je prikazana u sljedeće dvije tabele (Tabela 3 i 4).

Iako su svi karcinomi histološkog gradusa III imali negativan receptor za VEGF ne postoji

Tabela 3. Distribucija VEGF receptora prema histološkom gradusu

Histološki gradus karcinoma	VEGF receptor pozitivan, broj (%)		Ukupno, broj (%)
	Da	Ne	
I	2 (10,0)	18 (90,0%)	20 (100,0%)
II	3 (7,0)	40 (93,0)	43 (100,0%)
III	0 (0)	10 (100,0%)	10 (100,0%)
Ukupno	5 (6,8)	68 (93,2)	73 (100,0%)

Tabela 4. Distribucija receptora za VEGF prema nuklearnom gradusu

Nuklearni gradus karcinoma	VEGF receptor pozitivan, broj (%)		Ukupno, broj (%)
	Da	Ne	
I	2 (11,1)	16 (88,9)	18 (100,0)
II	0 (0,0)	34 (100,0)	34 (100,0)
III	3 (14,3)	18 (85,7)	21 (100,0)
Ukupno	5 (6,8)	68 (93,2)	73 (100,0)

statistički značajna razlika u broju uzoraka sa pozitivnim receptorom za VEGF između gradusa (Pearson $Hi^2=4.791$ $p=0.0571$)

Rezultati su drugačiji kada je u pitanju nuklearni gradus i pozitivnost receptora za VEGF. Postoji statistički značajna razlika u VEGFR pozitivnosti između nuklearnog gradusa II prema gradusu I i prema gradusu III. VEGFR je bio srazmjerno manje zastupljen kod gradusa II u odnosu na druge graduse (Mann Whitney $U=272.000$ $p=0.05$ za gradus I i II i Mann Whitney $U=306.000$ $p=0.02$ za gradus II i III).

Diskusija

Uprkos sve boljim mogućnostima liječenja karcinoma dojki, mogućnosti izlječenja svake pojedine bolesnice uveliko zavisi od obima i stadijuma bolesti u momentu otkrivanja, kao i od epidemioloških faktora [12]. Razvoj najnovijih tehnologija rezultiraće i novim i bolje odabranim terapijskim izborima [13]. Stvaranje krvnih sudova (angiogeneza) može biti slično proteolizi, a stvaranje antiinvazivnih materija imalo bi uticaj na stvaranje tumorske krvne mreže [14]. Otkrivanjem recidiva, reda veličine od nekoliko milimetara, te mogućnostima iglenih punkcija i citološkim analizama dobijenog materijala, moguće je vrlo rano isti ukloniti, što bi imalo uticaj na dalji tok bolesti i povoljniji ishod [15].

Žene se najčešće jave na pregled kada je promjena u dojkama palpabilna, to jest veličine pT2, a to govori u prilog činjenice da će kod njih češće i doći do relapsa bolesti. Ako se uzme u obzir da se često bolest dijagnostikuje u uznapredovalom stadijumu, pT4, onda se broj relapsa povećava i do 57,2%. I ako je rizik

za relaps bolesti kod tumora pT1 manji, ipak se i kod tih pacijentkinja našao lokalni recidiv bolesti, ali i metastaze. Zato sve pacijentkinje imaju korist od adjuvantne hemoterapije [16]. Najčešći karcinom, prema patohistološkoj slici, kako je i za očekivati, je duktalni invazivni karcinom koji je zastupljen sa 75,3%, a lobularni sa 24,7%. Prema navodima iz literature duktalni invazivni karcinom čini 70-80% svih karcinoma dojke [17].

Kada se analizira diferenciranost karcinoma dojki, nalazi se da su gradusi I i III pokazali dobru korelaciju sa kliničkim parametrima, što se ne može reći za gradus II koji je dosta široka kategorija sa heterogenim članovima. Za klinički ishod povoljniji je niži histološki gradus. U ispitivanom uzorku najzastupljeniji je bio histološki gradus II, zastupljen sa 58,9%. Tumora gradus I je bilo 27,4% i zastupljeniji su od gradusa III, kojih je bilo 13,7%.

Sve veća pažnja poklanja se morfometriji nukleusa. Tako je utvrđeno da postoji dobra korelacija sa prognozom u odnosu na „thymidil labeling test“ [18]. U radu je bilo ukupno 46,6% karcinoma sa nuklearnim gradusom II. Karcinomi gradusa III su bili nešto češći od gradusa I i bilo ih je 28,8% u odnosu na 24,7%. Preživljavanje se smanjuje ako se povećava gradus. Iako se navodi da histološki gradus korelira s petogodišnjim slobodnim intervalom, analizom uzoraka nije utvrđena korelacija između višeg histološkog gradusa i ekspresije receptora za VEGF koja bi bila statistički značajna. Tako se navodi da je 68% pacijentkinja sa Gr I imalo slobodan petogodišnji interval, dok je s Gr II bilo 39%, a s Gr III nijedna bolesnica nije imala slobodnog intervala [19]. Takođe i drugi autori iznose podatke da je histološki gradus usko povezan sa incidencom nastanka recidiva i dužinom preživljavanja bolesnica [20]. U radu nije korelirana dužina preživljavanja sa gradusom tumora.

Sveukupno, i u uzorcima primarnog karcinoma dojki i recidiva, pozitivnih receptora za VEGF je bilo 7,1%. Već je navedeno da je samo u jednom uzorku primarnog tumora bila izražena pozitivnost receptora za VEGF i nije uzet u obzir prilikom obrade podataka. Pozitivnost u uzorcima recidiva je upoređivana sa histološkim i nuklearnim gradusima. Treba istaći da je kod 15,1% uzoraka recidiva ta pozitivnost bila izražena. Ako se uzme u obzir da su recidivi najčešće bili veličine iznad 5mm,

a i činjenica da karcinom ne može rasti više od 2-3mm ukoliko ne stvori sopsventu krvnu mrežu, jasno je da to ukazuje na činjenicu da je neoangiogeneza neophodna za rast karcinoma. U svim slučajevima gdje je pokazana pozitivnost VEGFR, radilo se primarnim karcinomima velične T2 i T3 [21]. Mali karcinom zahtjeva formiranje novih krvnih sudova-neoangiogenezu, da bi osigurao dotok hranjivih materija i kiseonika i tako rastao. Dalji rast zahtjeva stvaranje nove vaskularne mreže [22]. Ako se pažljivo pogledaju histološki preparati, kod kojih je potvrđeno prisustvo VEGFR, kod većine uzoraka se vide stiješnjene krvne žile. To je rezultat brzog rasta karcinoma što rezultira hipoksijom. Hipoksija indukuje rast novih krvnih sudova. U perifernim (rubnim) dijelovima kancerskog tkiva je dokazivana pozitivnost VEGFR. Kada su u pitanju veći karcinomi (veličine iznad 3-4 cm) oni već imaju dobro razgranatu mrežu krvnih sudova. Što karcinom više raste, to više stišće vaskularne strukture. Razlog zbog čega nije verifikovano pojačano prisustvo VEGFR u uzorcima primarnih karcinoma je vjerovatno u tome što su u rad uzeti (retrogradno) uzorci. Pri tome je bilo malo preparata koji prikazuju rubni dio karcinoma, gdje bi se i očekivala najizraženija neoangiogeneza. Nešto češće je bio prisutan (VEGFR) kod duktalnih nego kod lobularnih karcinoma. Zanimljivo je da se recidiv ponavljao više puta kod pacijentkinja gdje je u uzorku recidiva dokazana izražajnost VEGFR, (i do 3x). Iako, zbog malog uzorka, nije postojala statistička značajnost u učestalosti pozitivnosti VEGFR kod različitih histoloških tipova karcinoma, kao ni kada je u pitanju histološki gradus, ali postojala je statistički značajna razlika u VEGFR pozitivnosti između nuklearnog gradusa prema gradusu I i prema gradusu III. VEGFR je bio srazmjerno manje zastupljen kod gradusa II u odnosu na druge graduse (Mann Whitney U=272.000 p=0,05 za gradus I i II, i Mann Whitney U 306.000 p 0,02 za gradus II i III). Mjeren je i stepen pozitivnosti VEGFR (0,1,2 i 3). S obzirom na veličinu uzorka, distribucija stepena pozitivnosti VEGFR prema nuklearnom gradusu, nije potvrdila statistički značajnu razliku među nuklearnim gradusima [23].

Ispitivanja govore o jakoj povezanosti između visoke vaskularne gustine i lošeg kliničkog ishoda. Još nije utemeljen marker za

povezanost angiogeneze i mikrovaskularne gustoće. Potrebne su dobro opremljene studije [24].

Tačno prepoznavanje prognostičkih faktora i prediktivnih parametara u odgovoru na specifične terapijske programe i dalje predstavlja veliki istraživački problem [25].

Zaključak

Podaci o biohemijskom i genetskom mehanizmu koji je važan u procesu metastaziranja, pridonijeli su novim pristupima dijagnozi i liječenju karcinoma dojke. Biohemijske promjene na malignom fenotipu, mogle bi biti cilj novih strategija liječenja, koje bi bile uspješnije od sadašnjih konvencionalnih citotoksičnih terapija.

Na osnovu rezultata dobijenih tokom prikazanih ispitivanja izvedeni su sljedeći zaključci.

Od karcinoma dojke najčešće oboljeva-

ju žene oko menopauze i bolest se najčešće verifikuje kada su karcinomi veličine pT2, a najzastupljeniji je duktalni NOS karcinom, histološkog i nuklearnog gradusa II i III.

Recidivi su bili češći kod duktalnih karcinoma, a receptor za VEGF je značajno češće izražen kod manjih recidiva karcinoma dojki i to najčešće na rubnim dijelovima karcinoma.

Izraženost receptora za VEGF dokazana je u 7,1% svih uzoraka, a kod 15,1% slučajeva recidiva. Statistički značajno rjeđa izraženost receptora za VEGF kod NG-I u odnosu na druge graduse ($p=0,02$), kao i kod NG-II u odnosu na druge graduse ($p=0,05$), i statistički značajno češće pozitivan receptor za VEGF kod visokog NG (NG-III) u odnosu na druge graduse ukazuje na udruženost ekspresije receptora za VEGF sa slabo diferenciranim karcinomima.

Autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.

The authors declare no conflicts of interest.

Literatura

1. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and prevalence Worldwide IARC Cancer Base No 5, version 2.0. Lyon, France: IARC Press; 2004.
2. Publikacija o zdravstvenom stanju stanovništva za 2008.godinu. Banja Luka: Institut za zaštitu zdravlja Republike Srpske; p. 198–220.
3. Isaacs C, Stearns V, Hayes DF. New prognostic factors for breast cancer recurrence. *Semin Oncol* 2001;28:53–67.
4. Brewster AM, Do KA, Thompson PA, Hahn KM, et al. Relationship between epidemiologic risk factors and breast cancer recurrence. *J Clin Oncol* 2007;25(28):4438–4443.
5. Bruce GH. The role of radiation therapy in breast cancer management. In: Nabholz J-M, Tonkin K, Reese DM, Aapro MS, Buzdar AU. Breast cancer management. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; 2003: p. 31–35.
6. Albanell J, Gonzalez A, Ruiz-Borrego M, Alba E, et al. Prospective transGEICAM study of the impact of the 21-gene Recurrence Score assay and traditional clinicopathological factors on adjuvant clinical decision making in women with estrogen receptor-positive (ER+) node-negative breast cancer. *Ann Oncol* 2011;23(3):625–631.
7. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology; Breast Cancer, Version 2. 2011. NCCN Guidelines for Patients. Available at http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/
8. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vaskular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1995;1(1):27–31.
9. Folkman J. Endothelial cells and angiogenic growth factors in cancer growth and metastasis. *Introduction. Cancer Metastasis Rev* 1990;9(3):171–174.
10. Burstein HJ. Angiogenesis inhibitors in breast cancer. *EJC* 2008;6(7): 41–42.
11. Verheul HM, Pinedo HM. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in tumor angiogenesis and early clinical development of VEGF-receptor kinase inhibitors. *Clin Breast Cancer* 2000;1 (Suppl 1):S80–84.
12. Brewster AM, Do KA, Thompson PA, et al. Relationship between epidemiologic risk factors and breast cancer recurrence. *J Clin Oncol* 2007;25(28):4438–4443.
13. Piccart-Gebhart MJ. Introduction. *Ann Oncol* 2007;18 (suppl 12): xii1
14. Erman M. Molecular mechanisms of signal transduction: Epidermal growth factor receptor family, Vascular endothelial factor family, Kit, Platelet-derived growth factor receptor, Ras. *J BUON* 2007;12(1):S83–S94.
15. Gojković Z, Maksimović B, Cvijetić Ž, et al. Parameters for the evaluation of diagnostic examination by detection of breast cancer recurrence. *Arch Oncol* 2008;16(1).12.
16. Piccart-Gebhart M.J, Sotiriou J. Adjuvant chemotherapy—yes or no? Prognostic markers in early breast cancer in *Ann Oncology* 2007;18 (12) xii2–xii7.
17. Oprić M, Granić M. Tumori dojke. Beograd: Sing Logos; 1996; p. 51–67.
18. Soares R, Shvets Y, Afonso N, Rodrigues H. Evaluation of Molecular Parameters and Risk Factors of

- Breast Cancer in Therapeutic Decisions. Abstract Book. EJC 2012:S129.
19. Križanac Š. Patohistološka dijagnostika bolesti dojke. U: Fajdić J i sur. Savremena dijagnostika dojke. Zagreb: Medicinska naklada; 2001; p. 308-324.
 20. Mušanović M, Bašić H, Bešlija S. Karcinom dojke. U: Mušanović M, Obralić N. Onkologija. Sarajevo: Bošnjacki institut; 2001; p. 251-2.
 21. Van Itersen, Heikkila P, Mansfield A, Smitten K, Leidenius M. VEGF-C in association with VEGFR-3 promotes nodal metastases but dose not stimulate peritumoral lymph vessel growth in breast cancer with extensive intraductal component. EJC 2008;6(7):80-1
 22. Bikfalvi A. Angiogenesis: health and disease. Ann Oncol 2006;17(10): x65-x70.
 23. Lumachi F, Santeufemia DA, Fadda GM, et al. Vascular Endothelial Growth Factor as prognostic Factor in Patients with Breast cancer, a Multicentric Long-term Follow up Study. EJC 2012;48(Suppl 1):S137.
 24. Mohsin SK, Bardou V-J, Arpino G, Chamness GC, Aller DC. Prognostic and predictive factors in breast cancer: An evidence-based medicine approach. In: Nabholz J-M, et al. Breast cancer management, 2th edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2003; p. 391-402.
 25. Krenn-Pilko S, Hofmann G, Renner W, et al. The Role of VEGF Gene Polymorphism in the Development of Distant Metastases in Postmenopausal Breast cancer Patients. EJC 2012;48(Suppl 1):S184.

The association of poorly differentiated breast tumors with increased angiogenesis in recurrence of breast cancer

Zdenka Gojković¹, Zoran Aleksić², Brano Topić³, Ivanka Rakita¹, Predrag Dašić¹, Marina Vižin¹, Aleksandar Guzijan³, Milka Vještica¹, Dalibor Grahovac³

¹Clinic of Oncology, Clinical Center Banja Luka, the Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

²Clinic of General and Abdominal Surgery, Clinical Center Banja Luka, the Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

³Breast Unit, Clinical Center Banja Luka, the Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

Introduction. Histological grade (HG), which indicates the maturity of the tumor, and nuclear grade (NG), which represents the nuclear morphometry, are important prognostic factors in breast cancer. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is also associated with tumor progression. The aim of the study was to correlate the degree of tumor differentiation with expression of VEGF receptors in breast cancer recurrence.

Methods. A total of 40 samples of breast cancer recurrence and 45 samples of primary tumors were analyzed. Histological and nuclear grade and the expression of the receptors for VEGF were determined in primary tumor and in the recurrence tissue.

Results. In examined patients the most common histological type was ductal invasive carcinoma (75.3%). Histological grade I was more common than grade III (27.4% vs. 13.7%). Nuclear grade I (NG) was found in 24.7% of samples, NG II in 46.6%, while NG III was found in 28.8% of cases. From a total of 85 samples tested for the receptor for VEGF, only one sample of primary breast carcinoma was positive for VEGF receptor, but 15.1% samples of recurrence tissue were positive for VEGF receptor. Examination of the relationship between histological grades and receptor for VEGF showed no significant difference in the number of samples with positive receptor for VEGF between different histological grades (Pearson $\chi^2 = 4.79$, $p = 0.571$). However, significance was found in the VEGF receptor positivity and different nuclear grades. Receptor for VEGF was proportionally less frequent in the NG II in relation to the other two grades (Mann Whitney $U = 272.0$; $p = 0.05$ for NG I and II and Mann Whitney $U = 306.0$; $p = 0.02$ for NG II and NG III).

Conclusion. Receptor for VEGF was found in samples of breast cancer recurrence and it was more frequently expressed in poorly differentiated carcinomas.

Keywords: breast cancer, histological and nuclear grade, receptors for VEGF