

Irena Porębska, Renata Jankowska

z Katedry i Kliniki Chorób Płuc Akademii Medycznej
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
kierownik: prof. dr hab. Renata Jankowska

ANGIOGENEZA W NIEDROBNOKOMÓRKOWYM RAKU PŁUCA – IMPLIKACJE KLINICZNE

ANGIOGENESIS IN NON SMALL CELL LUNG CANCER CLINICAL IMPLICATIONS

Key words: NSCLC, angiogenesis

PNEUMONOL. ALERGOL. POL., 2001, 69, 5-6, 311-317

Wstęp Rak niedrobnokomórkowy płuca (NDRP) stanowi poważny problem zdrowia społecznego będąc główną przyczyną zgonów z powodu nowotworów złośliwych. Osiągnięcia biologii molekularnej ostatnich lat pozwalają mieć nadzieję na poprawę wyników leczenia przez opracowanie nowych testów umożliwiających wczesne wykrycie i monitorowanie przebiegu oraz wdrożenie nowych strategii leczenia tego nowotworu. Badania nad procesem angiogenezy są istotnym elementem poznania biologii NDRP i mogą mieć ważne implikacje kliniczne.

Angiogeneza jest procesem tworzenia nowych naczyń krwionośnych na podłożu już istniejących. Stanowi proces wieloetapowy, który obejmuje przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej, migrację oraz proliferację komórek śródbłonna, różnicowanie, wydłużanie i dojrzewanie naczyń krwionośnych oraz tworzenie zespołów z naczyniami wyższego kalibru (2, 5).

W ostatnich latach zidentyfikowano już liczne czynniki pobudzające i hamujące tworzenie naczyń krwionośnych oraz określono przebieg tego procesu (2, 8, 23, 29). (tab. I)

Proces angiogenezy odgrywa istotną rolę w rozwoju tkanki nowotworowej, warunkując wzrost guza pierwotnego oraz ułatwiając proces powstawania i rozwoju przerzutów. Uważa się, iż decydujący wpływ na zapoczątkowanie procesu angiogenezy w nowotworach ma niedotlenienie komórek rozrastającego się guza oraz mutacje w genach supresorowych i onkogenach (2, 8, 12, 23, 29).

Naczynia krwionośne powstające w obrębie tkanki nowotworowej wykazują wiele różnic w porównaniu z naczyniami powstałymi w procesach fizjologicznych. Mają one kręty przebieg, szczeliny w błonie podstawnej, wykazują rozluźnienie komórek śródbłonna i pozbawione są unerwienia (8, 23, 29).

Związek pomiędzy angiogenezą a rozwojem NDRP jest przedmiotem licznych badań. Ogromne zainteresowanie budzą możliwości wykorzystania nagromadzonych danych w prognozowaniu przebiegu i leczenia NDRP.

Tab. 1: Czynniki regulujące angiogenezę (wg 5, zmodyfikowane)

Tab. 1: Angiogenesis regulatory factors (5, mod)

Stymulatory angiogenezy	Czynniki hamujące angiogenezę
naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF, vascular endothelial growth factor)	angiostatyna (angiostatin)
zasadowy i kwaśny czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF i aFGF, basic and acid fibroblast growth factors)	trombospondyna -1 (thrombospondin-1)
interleukina 8 (IL-8, interleukin 8)	czynnik płytkowy 4 (PF4, platelet factor 4)
transformujący czynnik wzrostu (TGF α , transforming growth factor alpha)	tkankowe inhibitory metaloproteaz (TIMP, tissue metalloproteinase inhibitors)
śródbłonkowy czynnik wzrostu pochodzący z płytek (PD-ECGF, platelet-derived endothelial growth factor)	interleukina 10 (IL-10, interleukin 10)
czynnik martwicy nowotworu (TNF α , tumour necrosis factor alpha)*	interleukina 12 (IL-12, interleukin 12)
czynnik tkankowy (TF, tissue factor)	interferon α (INF α , interferon alpha)
	czynnik martwicy nowotworów (TNF α , tissue necrosis factor alpha)*

* TNF α , czynnik martwicy nowotworu – może pełnić zależnie od równowagi miejscowej rolę zarówno aktywującą, jak i hamującą tworzenie naczyń

Gęstość naczyń mikrokrążenia jako wykładnik procesu angiogenezy

Badaniom gęstości naczyń mikrokrążenia w nowotworach litych poświęcono ostatnio wiele uwagi w nadziei, iż uda się wykazać związek pomiędzy tym parametrem patologicznym a rokowaniem. Oceny gęstości naczyń włosowatych dokonuje się w obrębie preparatów histologicznych z użyciem metod immunohistochemicznych. W tym celu wykorzystuje się przeciwciała przeciwko obecnym na komórkach śródbłonka: czynnikowi VIII (czynnik von Willebranda), antygenowi CD31 (płytkowo-śródbłonkowa cząsteczka adhezyjna) lub antygenowi CD34 (cząsteczka charakteryzująca komórki progenitorowe).

Wyniki badań, których celem jest określenie znaczenia prognostycznego gęstości naczyń mikrokrążenia w NDRP pozostają kontrowersyjne (3, 8, 9, 17, 18, 20, 22, 24, 25, 34). Wykazano, iż gęstość naczyń mikrokrążenia koreluje z wielkością guza oraz aktywnością proliferacyjną NDRP (17, 18). Wiele danych wskazuje, iż nasilenie angiogenezy określane metodą oceny gęstości naczyń mikrokrążenia koreluje z częstością nawrotów po leczeniu operacyjnym i tym samym ma negatywne znaczenie prognostyczne (9, 20, 22, 34). Zwrócono jednak uwagę, że powyższy związek może być zależny od typu histopatologicznego NDRP (22).

Istnieją pojedyncze doniesienia negujące znaczenie prognostyczne różnic w gęstości naczyń mikrokrążenia w utkaniu NDRP, a nawet wskazujące na pozytywną korelację pomiędzy unaczynieniem a rokowaniem w tej grupie nowotworów (3).

Stwierdzono, że około 16% badanych NDRP w stadium I nie wykazywało morfologicznych cech neoangiogenezy a w utkaniu tych nowotworów zachowany był układ naczyń w przegrodach pęcherzykowych. Co więcej, guzy o takiej morfologii naczyń wykazywały bardziej agresywny przebieg (24).

Interesującą próbę wyjaśnienia przyczyn istniejącej kontrowersji podjęli Schor i wsp. (25). Cytowani autorzy wykazali heterogeniczny charakter unaczynienia NDRP. Wskazali na wynikającą z tego faktu trudność w określeniu gęstości naczyń mikrokrążenia, szczególnie w dużych guzach, gdzie poszczególne fragmenty mogą różnić się morfologicznie (np. część centralna z ogniskami martwicy wykazuje różnice w porównaniu z częścią obwodową). Wyrazili oni przypuszczenie, iż określanie gęstości naczyń krwionośnych w guzie jest wartościowe w odniesieniu do guzów małych – takich, gdzie pojedynczy wycinek zawiera on przekrój przez całość zmiany wraz z marginesem tkanki otaczającej. Co więcej, wykazali, że wyniki porównawczej oceny gęstości naczyń mikrokrążenia pomiędzy tkanką guza a przyległą prawidłową tkanką oskrzela mogą różnić się zasadniczo w zależności od metody użytej do zliczania naczyń (metoda oceny gorących punktów tj. najgęściej unaczynionego obszaru w porównaniu do metody określenia średniej gęstości naczyń w całym preparacie)

Nie bez znaczenia pozostaje również fakt, iż wyniki badań z użyciem do znakowania śródbłonnków przeciwciała anty vWF (przeciwciała przeciwko czynnikowi VIII, von Willebranda) nie dają podstaw do rozróżnienia naczyń już istniejących od nowo utworzonych przez guz (25, 27).

Należy również zwrócić uwagę, iż większość badań dotyczy raków operacyjnych tj. w stadiach I-III, natomiast niewiele wiadomo o morfologii unaczynienia w zaawansowanych, przerzutowych NDRP.

**Naczyniowo-
śródbłonkowy
czynnik wzrostu
(VEGF) i inne
czynniki
regulujące
angiogenezę**

VEGF należy do najlepiej poznanych czynników proangiogen-nych, stąd liczne badania dotyczące ekspresji tej proteiny w NDRP (4, 7, 8, 13, 19). Obecność VEGF jak i receptorów dla tego białka (flt-1 i flk-1/KDR) wykazano w komórkach nowotworowych, komórkach śródbłonna i fibroblastach zrębu (4). Lokalizacja białek systemu VEGF wskazuje na możliwość auto i parakrynej regulacji w obrębie tkanki nowotworowej, jednak zależności te wydają się niezwykle złożone i obejmować mogą prawdopodobnie również działanie VEGF jako czynnika bezpośrednio regulującego proliferację komórek nowotworowych (4).

Związek pomiędzy ekspresją VEGF a rokowaniem w NDRP pozostaje dyskusyjny. Wielu autorów wykazało pozytywną korelację pomiędzy ekspresją VEGF a gęstością naczyń mikrokrążenia w NDRP. Udowodniono, że ekspresja VEGF może być niezależnym negatywnym czynnikiem prognostycznym u chorych operowanych radykalnie, szczególnie w odniesieniu do raków płaskonabłonkowych (13). Fontanini i wsp. uzyskali podobne wyniki, wskazujące na pozytywną korelację pomiędzy wysoką ekspresją białka VEGF, lub jego transkryptu (VEGFmRNA) a skróceniem czasu remisji (7, 8).

Stwierdzono wzrost stężenia VEGF i aktywności angiogennej chorych operowanych z powodu NDRP jako odpowiedzi na niedotlenienie w okresie okołoperacyjnym. W związku z tym wysunięto hipotezę, iż chorzy poddani zabiegom resekcji tkanki płucnej z powodu nowotworu mogliby odnieść potencjalne korzyści z terapii antyangiogennej dla zapobieżenia rozwojowi mikroprzerzutów (19). Niezbędne wydają się więc dalsze badania dotyczące tego zagadnienia.

Wiadomo ponadto, iż VEGF jest silnym czynnikiem zwiększającym przepuszczalność naczyń krwionośnych. Nie ulega obecnie wątpliwości, że istnieje związek VEGF z tworzeniem wysięku opłucnowego w przebiegu NDRP. Wykazano wyższe wartości stężeń VEGF w wysiękach opłucnowych w przebiegu NDRP aniżeli w surowicy osób zdrowych i przesiekach w przebiegu marskości wątroby, jak również stwierdzono wyższe stężenia VEGF w wysiękach nowotworowych aniżeli gruczliczych (14, 35). Udowodniono ponadto, że przepuszczalność naczyń krwionośnych wzrasta proporcjonalnie do stężenia VEGF w płynie wysiękowym (35). Uzyskano ponadto zahamowanie przepuszczalności włośniczek po zastosowaniu przeciwciał blokujących receptor dla VEGF.

Znacznie mniej wiadomo na temat związku innych niż VEGF czynników angiogennych a rozwojem NDRP. Wykazano statystycznie istotną korelację pomiędzy ekspresją czynnika tkankowego (TF), jednego z białek zaangażowanych w proces krzepnięcia krwi, a wysoką ekspresją VEGF, jak również wykazano skrócenie czasu przeżycia pacjentów z NDRP o wysokiej ekspresji TF (15).

W pojedynczych doniesieniach zwrócono uwagę, iż wysoka ekspresja zasadowego czynnika wzrostu fibroblastów (bFGF) i jego receptora (FGFR1) wiąże się ze skróceniem czasu przeżycia chorych z gruczolakorakiem płuca (30, 32).

Potwierdzono zwiększenie stężenia interleukiny 8 (IL-8) w tkankach NDRP w porównaniu z prawidłową tkanką płucną. Wykazano również, iż IL-8 może być bezpośrednio produkowana przez komórki raków płaskonabłonkowych i gruczolakoraków (28). Autorzy powyższej pracy sugerują, iż IL-8 odgrywa rolę decydującej cytokiny chemotaktycznej w procesie migracji komórek śród-błonka i, co więcej, proces ten może być hamowany przez przeciwciała anty IL-8. Powyższe spostrzeżenia znalazły potwierdzenie w badaniach *in vivo*.

Obecnie uważa się, iż jednoczesna analiza kilku wybranych czynników proangiogennych może przyczynić się do bardziej precyzyjnego określenia znaczenia procesu angiogenezy w ocenie rokowania pacjentów operowanych z powodu NDRP (32).

Wykładniki angiogenezy a regulatory onkogenezy w NDRP

Związek pomiędzy aktywnością angiogenną a aktywatorami i inhibitorami procesu onkogenezy jest przedmiotem coraz szerszych badań w NDRP (1, 6, 9, 10, 16, 21).

Szczególnie dużo uwagi poświęca się określeniu wzajemnych zależności pomiędzy angiogenezą a apoptozą. Wykazano, że nadekspresja VEGF może być zależna od utraty funkcji prawidłowego białka p53 (10). Udowodniono, iż transfekcja prawidłowego genu *p53* do komórek ludzkiego NDRP ze zmutowanym genem *p53* (linia H226Br) nie tylko wpłynęła negatywnie na ekspresję VEGF, ale jednocześnie wystąpił wzrost ekspresji nieznanego dotąd mózgowo-specyficznego inhibitora angiogeniny 1 (21). Pojedyncze doniesienia odnoszą się krytycznie do regulacji ekspresji VEGF w wyniku mutacji w genie *p53* w NDRP (1).

Badano również związek pomiędzy unaczynieniem NDRP a ekspresją białka bcl-2, jednego z negatywnych regulatorów apoptozy, wykazując odwrotną korelację pomiędzy gęstością naczyń mikrokrążenia a ekspresją bcl-2. Sugero-

wany mechanizm tego zjawiska obejmuje bądź stymulację wydzielania czynników hamujących angiogenezę bądź blokowanie aktywności czynników pobudzających ten proces (16)

Wiele uwagi poświęcono również badaniom ekspresji receptorów dla czynników wzrostu o aktywności kinazy tyrozyny z rodziny receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) i ich ligandów w aspekcie związku z angiogenezą. Białka tej grupy są ważnymi regulatorami cyklu komórkowego, a ich nadekspresja prowadzi do wzmożenia aktywności proliferacyjnej (6). Nie udowodniono jednak jak dotąd bezpośredniego związku pomiędzy nasileniem angiogenezy a systemem białek wzrostowych i ich receptorów z rodziny EGFR (6).

Perspektywy nowych form terapii opartej na hamowaniu angiogenezy w NDRP

Dzięki znacznemu postępowi, jaki dokonał się w ostatnich latach w badaniach nad przebiegiem angiogenezy możliwe było podjęcie prób hamowania rozwoju nowotworów poprzez modyfikację procesu angiogenezy. Komórki śródbłonka charakteryzujące się genetyczną stabilnością i jednorodnością, a także niskim potencjałem podziałowym są atrakcyjnym celem terapii przeciwnowotworowej tym bardziej, że powyższe cechy molekularne łączą się z małym prawdopodobieństwem wytworzenia lekooporności. Proponowane metody terapii opierają się na hamowaniu tworzenia naczyń lub niszczeniu już istniejących, stosowanymi samodzielnie lub w połączeniu z konwencjonalną terapią cytostatyczną bądź radioterapią.

Wiele dowodów na potencjalną skuteczność leczenia ukierunkowanego na hamowanie nowotworzenia naczyń uzyskano z badań na modelu zwierzęcym.

Zachęcające wyniki hamowania wzrostu guza z użyciem linii ludzkiego raka płuca (H57) uzyskano poprzez zmniejszenie puli dostępnego VEGF. Efekt ten był wynikiem wiązania VEGF z chimerycznym białkiem złożonym z domeny zewnątrzkomórkowej receptora dla VEGF (flk-1) i ciężkiego łańcucha immunoglobuliny G (31). Podobnie interesujące wyniki potwierdzające potencjalne korzyści ze stosowania terapii antyangiogennej w raku płuca uzyskano z wykorzystaniem inhibitorów metaloproteinaz (26, 33). Zastosowanie wybiórczego inhibitora metaloproteinaz o symbolu AG 3340 u myszy, którym przeszczepiono komórki lekoopornej linii ludzkiego raka płuca spowodowało regresję masy guza i efekt ten był spotęgowany przy łącznym użyciu blokera metaloproteinaz i klasycznych cytostatyków (26). Pierwsze inhibitory metaloproteinaz znalazły się już w fazie prób klinicznych (33).

Nieliczne prace dotyczą zmian fenotypu angiogenego pod wpływem leczenia. Górski i wsp. (11) udowodnili zwiększenie ekspresji VEGF w komórkach linii ludzkiego raka płaskonabłonkowego pod wpływem promieniowania jonizującego, a następnie wykazali, iż blokowanie aktywności VEGF wzmacnia efekt przeciwnowotworowy promieniowania jonizującego.

Niestety, większość badań dotyczących przypuszczalnej wartości leczniczej substancji hamujących tworzenie naczyń krwionośnych w tkance nowotworowej jest prowadzonych na modelach doświadczalnych i nie udowodniono, jak dotąd, jednoznacznych korzyści z tego typu terapii u ludzi.

Podsumowanie Angiogeneza nowotworowa będąca skutkiem wewnętrznego programu komórek nowotworowych i zachodząca dzięki wzajemnym oddziaływaniom pomiędzy komórkami nowotworowymi, a mikrośrodowiskiem je otaczającym jest częścią ciągu zjawisk molekularnych prowadzących do rozwoju nowotworów złośliwych. Wiele badań udowodniło niezwykle istotne znaczenie tego procesu w rozwoju NDRP. Ingerencja w tak złożony system zależności wydaje się trudna głównie ze względu na brak możliwości stworzenia odpowiednio precyzyjnych modeli mikrośrodowiska tkanki nowotworowej w badaniach *in vitro*. Postęp w dziedzinie nauk podstawowych, a zwłaszcza inżynierii genetycznej, stwarza szansę na skuteczniejsze wykorzystanie poznanych już elementów procesu angiogenezy w celu opracowania nowych form terapii NDRP.

Piśmiennictwo

1. Ambs S i wsp. Vascular endothelial growth factor and nitric oxide synthase expression in human lung cancer and the relation to p53 *Br J Cancer* 1998; 78: 233-239
2. Battegay E J. Angiogenesis: mechanistic insights, neovascular diseases and therapeutic prospects. *J Mol Med* 1995; 73: 333-346
3. Chandrachud LM i wsp. Relationship between vascularity, age and survival in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 1997; 76:1367-1375.
4. Decaussin M i wsp. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its two receptors (VEGF-R1-flt1 and VEGF-R2- Flk1/KDR) in non- small cell lung carcinomas (NSCLC): correlation with angiogenesis and survival *J Pathol* 1999; 188: 369-377.
5. Folkman J. Tumor angiogenesis. *Advan Cancer Res* 1985; 43: 175-203
6. Fontanini G i wsp. Evaluation of epidermal growth factor- related growth factors and receptors and neoangiogenesis in completely resected stage I-IIIa non-small-cell lung cancer: amphiregulin and microvessel count are independent prognostic indicators of survival *Clin Cancer Res* 1998; 4: 241-249
7. Fontanini G i wsp. Expression of vascular endothelial growth factor mRNA in non-small-cell lung carcinomas. *Br J Cancer* 1999; 79: 363-369
8. Fontanini G i wsp. Vascular endothelial growth factor is associated with neovascularization and influences progression of non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 861-865
9. Giatromanolaki A i wsp. Prognostic value of angiogenesis in operable non-small cell lung cancer. *J Pathol* 1996; 176: 80-88
10. Giatromanolaki A i wsp. Vascular endothelial growth factor, wild-type p53 and angiogenesis in early operable non-small cell lung cancer *Clin Cancer Res* 1998;4:3017-3024
11. Górski DH i wsp. Blockage of the vascular endothelial growth factor stress response increases the antitumor effects of ionizing radiation *Cancer Res* 1999; 59: 3374-3378
12. Harris RS, Thorgeirsson PU. Tumor angiogenesis: biology and therapeutic prospects *In Vivo* 1998; 12: 563-570
13. Imoto H i wsp. Vascular endothelial growth factor expression in non- small-cell lung cancer: prognostic significance in squamous cell carcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998 May; 11:1007-1014.
14. Jankowska R., Porębska I., Dyla T.: Porównawcza ocena występowania białek VEGF, TNFa i IL1b w wysiękach opłucnowych pochodzenia nowotworowego i gruźliczego. *V Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Rak Płuca” Gdańsk, 27-29 X 2000 r.* *Onkologia Polska* 2000 3 suppl. 1: 43
15. Koomagi R, Volm M. Tissue-factor expression in human non-small-cell lung carcinoma measured by immunohistochemistry: correlation between tissue factor and angiogenesis *Int J Cancer* 1998; 79: 19-22
16. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, O'Byrne KJ i wsp. Potential role of bcl-2 as a suppressor of tumor angiogenesis in non-small-cell lung cancer *Int J Cancer* 1997; 74: 565-570
17. Macchiarini P i wsp.: Angiogenesis: an indicator of metastasis in non-small cell lung cancer invading the thoracic inlet. *Ann Thorac Surg* 1994; 57: 145- 146
18. Macchiarini P i wsp. Relation of neovascularization to metastasis of non-small-cell lung cancer. *Lancet* 1992; 340:145-146.
19. Maniwa Y i wsp. Vascular endothelial growth factor increased by pulmonary surgery accelerates the growth of micrometastases in

Angiogeneza w niedrobnokomórkowym raku płuca

- metastatic lung cancer *Chest* 1998; 114: 1668-1675
- 20 Matsuyama K i wsp. Tumor angiogenesis as a prognostic marker in operable non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1998; 65:1405-1409.
- 21 Nishizaki M i wsp. Recombinant adenovirus expressing wild-type p53 is Atiangiogenic; a proposed mechanism for bystander effect *Clin Cancer Res* 1999; 5: 1015-1023
- 22 Ohta Y i wsp. Tumor angiogenesis and recurrence in stage I non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1999; 68:1034-1038.
- 23 Paveletz N, Knierim M. Tumor-related angiogenesis. *Crit Rev Oncol Hematol* 1989; 3: 197-242
- 24 Pezzella F i wsp. Non-small cell lung carcinoma tumor growth without morphological evidence of neoangiogenesis. *Am J Pathol* 1997; 151:1417-1423
- 25 Schor AM i wsp. Heterogeneity in microvascular density in lung tumours: comparison with normal bronchus. *Br J Cancer* 1998; 77: 946-951.
- 26 Shalinsky DR i wsp. Marked antiangiogenic and antitumor efficacy of AG3340 in chemoresistant human non-small cell lung cancer tumors: single agent and combination chemotherapy studies *Clin Cancer Res* 1999;5:1905-1917
- 27 Sikora J. Tumor angiogenesis in human lung adenocarcinoma. *Cancer* 1995; 76: 915-916
- 28 Smith DR i wsp. Inhibition of interleukin 8 attenuates angiogenesis in bronchogenic carcinoma *J Exp Med* 1994; 179: 1409-1415
- 29 Szala S, Radzikowski Cz. Podłoże molekularne angiogenezy nowotworów. *Nowotwory* 1997; 47:1-19
- 30 Takanami I i wsp. Tumor angiogenesis in pulmonary adenocarcinomas: relationship with basic fibroblast growth factor, its receptor, and survival *Neoplasma* 1997; 44: 295 – 298
- 31 Takayama K, Ueno H, Nakanishi Y i wsp. Suppression of tumor angiogenesis and growth by gene transfer of a soluble form of vascular endothelial growth factor receptor into a remote organ *Cancer Res* 2000; 60: 2169-2177
- 32 Volm M, Koomägi R, Mattern J. PD-ECGF, bFGF, and VEGF expression in non-small cell lung carcinomas and their association with lymph node metastasis *Anticancer Res* 1999; 19: 651-656
- 33 Wojtówicz-Praga S i wsp. Phase I trial of marimastat, a novel matrix metalloproteinase inhibitor administered orally *J Clin Oncol* 1998; 16: 2150- 2156
- 34 Yamazaki K i wsp. Tumor angiogenesis in human lung adenocarcinoma. *Cancer* 1994; 74 :2245-2250.
- 35 Żebrowski BK i wsp. Vascular endothelial growth factor levels and induction of permeability in malignant pleural effusions *Clin Cancer Res* 1999; 5: 3364-3368

Wpłynęła: 7.02.2001

Adres: Katedra i Klinika Chorób Płuc Akademii Medycznej, 53-439 Wrocław, ull. Grabiszyńska 105