

Terapia celowana ukierunkowana na VEGF w leczeniu raka szyjki macicy – przegląd piśmiennictwa

VEGF – targeted therapy for the treatment of cervical cancer – literature review

Magdalena Salomon-Perzyńska¹, Aleksander Perzyński², Beata Rembielak-Stawecka¹, Bogdan Michalski¹, Violetta Skrzypulec-Plinta³

¹ Oddział Kliniczny Ginekologii Onkologicznej Katedry Zdrowia Kobiety Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Polska

² Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Chorób Wewnętrznych i Chemioterapii Onkologicznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach – Koło Onkologiczne, Polska

³ Katedra Zdrowia Kobiety Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Polska

Streszczenie

Rak szyjki macicy jest trzecim najczęściej rozpoznawanym nowotworem złośliwym u kobiet i czwartą przyczyną zgonu z powodu nowotworów złośliwych wśród kobiet w skali świata.

Postęp wiedzy w zakresie molekularnych mechanizmów nowotworzenia, skłania do próby coraz szerszego wykorzystania terapii celowanych we współczesnej onkologii.

Wobec niezadowolających efektów leczenia zaawansowanego raka szyjki macicy i dobrze udokumentowanej roli czynników z rodziny VEGF (rodzina czynników wzrostu śródbłonna naczyniowego) w patogenezie i promowaniu jego progresji, możliwość zastosowania terapii celowanej ukierunkowanej na VEGF w leczeniu tego nowotworu budzi duże zainteresowanie.

Skuteczność bewacyzumabu, przeciwciała monoklonalnego neutralizującego VEGF-A, w leczeniu raka szyjki macicy została po raz pierwszy zasugerowana w roku 2006 przez wyniki małej analizy retrospektywnej i potwierdzona następnie w kilku badaniach klinicznych II fazy.

Wstępne wyniki randomizowanych badań klinicznych III fazy zaprezentowane podczas tegorocznej konferencji ASCO (American Society of Clinical Oncology) rzucają nowe światło na rolę terapii celowanej ukierunkowanej na VEGF w leczeniu tego nowotworu, wskazują bowiem, że uzupełnienie chemioterapii o bewacyzumab wiąże się z klinicznie istotnym wydłużeniem mediany przeżycia całkowitego w grupie kobiet z przetrwałym, przerzutowym lub nawrotowym rakiem szyjki macicy.

Słowa kluczowe: **bewacyzumab / VEGF / rak szyjki macicy / pazopanib / terapia celowana molekularnie /**

Adres do korespondencji:

Magdalena Salomon-Perzyńska
Oddział Kliniczny Ginekologii Onkologicznej Katedry Zdrowia Kobiety Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
Okręgowy Szpital Kolejowy
Polska, 40-760 Katowice ul. Panewnicka 65
tel/fax: 32 6053567
e-mail: salomon.perzynska@gmail.com

Otrzymano: 21.09.2013
Zaakceptowano do druku: 26.11.2013

Magdalena Salomon-Perzyńska et al. *Terapia celowana ukierunkowana na VEGF w leczeniu raka szyjki macicy...*

Abstract

Cervical cancer is the third most common malignancy and the fourth leading cause of cancer-related death among women worldwide.

Advances in the knowledge about molecular mechanisms of carcinogenesis have created opportunities for greater use of targeted therapies in contemporary oncology.

In view of the unsatisfactory results of advanced cervical cancer treatment and a well-documented role of the vascular endothelial growth factor (VEGF) family members in pathogenesis and progression of cervical cancer, the use of VEGF-targeted therapy in the treatment of cervical cancer offers interesting possibilities.

The efficacy of bevacizumab, a monoclonal antibody neutralizing VEGF-A in the treatment of cervical cancer, was first suggested in 2006 by a small retrospective analysis and confirmed in several Phase II clinical trials.

Preliminary results of the randomized phase III studies presented at this year's ASCO (American Society of Clinical Oncology) conference shed new light on the role of VEGF-targeted therapy in the treatment of cervical cancer, as they demonstrated that addition of bevacizumab to chemotherapy is associated with significantly improved overall survival in the group of patients with persistent, recurrent or metastatic cervical cancer.

Key words: **bevacizumab / VEGF / cervical cancer / pazopanib /
/ molecular targeted therapy /**

Wstęp

Rak szyjki macicy jest trzecim najczęściej rozpoznawanym nowotworem złośliwym u kobiet i czwartą przyczyną zgonu z powodu nowotworów złośliwych wśród kobiet w skali świata [1]. W Polsce w roku 2010 stwierdzono 3078 nowych przypadków zachorowań i 1735 zgonów z powodu tego nowotworu [2]. W większości przypadków choroba rozpoznawana jest w stadium zaawansowanym (IB2–IVA wg FIGO) [3].

Szczególną rolę w promowaniu progresji raka szyjki macicy odgrywają czynniki z rodziny VEGF (rodzina czynników wzrostu śródbłonna naczyniowego), a w szczególności: VEGF-A (VEGF), VEGF-C i VEGF-D. VEGF-A jest agonistą dwóch receptorów o aktywności kinazy tyrozynowej, tj. VEGFR1 i VEGFR2, i należy do najsilniejszych induktorów angiogenezy, z kolei VEGF-C i VEGF-D wykazują aktywność limfangiogenną (efekt mediowany przez VEGFR3), choć poprzez interakcje z VEGFR2 mogą również działać proangiogenicznie, co może mieć znaczenie w rozwoju oporności na terapię celowaną ukierunkowaną na VEGF-A [4].

Poziom ekspresji VEGF wzrasta w miarę progresji zmian typu CIN/SIL [5-12]. W przypadku raka inwazyjnego koreluje ponadto z rozmiarami guza, głębokością nacieku podścieliska, naciekiem parametrium, obecnością przerzutów w węzłach chłonnych i ryzykiem nawrotu choroby [13,14]. Co więcej, w świetle niektórych badań, jest czynnikiem prognostycznym przeżycia całkowitego (OS) i przeżycia wolnego od choroby, choć należy zaznaczyć, że wnioski co do wartości prognostycznej nadekspresji VEGF są niejednoznaczne [14-16].

Przetrwiała infekcja wysokoonkogennymi serotypami wirusa brodawczaka ludzkiego (*high risk* HPV; hrHPV) i hipoksja wiążą się z zachwianiem równowagi między czynnikami anty- i proangiogenicznymi i są głównymi promotorami angiogenezy w raku szyjki macicy [17-20]. Wydaje się, że w przypadku infekcji hrHPV induktorami ekspresji VEGF są nie tylko onkoproteiny wirusowe (E5 HPV16 i E6 i E7 HPV16 i 18), ale także mediatory procesu zapalnego i przeciwwirusowej odpowiedzi immunologicznej (IL-6, TLR8, COX-2) [17, 18, 21-28]. Z kolei do indukowanej hipoksji nadekspresji VEGF dochodzi wsku-

tek aktywacji czynnika transkrypcyjnego HIF-1 α , dla którego VEGF jest genem docelowym [21, 29, 30]. *In vitro* nadekspresja HIF-1 α wiąże się z nasileniem proliferacji i migracji komórek raka szyjki macicy a wyciszenie ekspresji VEGF nasila ich promienioczułość i indukuje apoptozę [29, 31]. Ponadto VEGF zdaje się wywierać bezpośredni wpływ mitogeny na HPV- dodatnie komórki nowotworowe [32]. Według Markowskiej i wsp. nadekspresja markerów hipoksji, w tym VEGF i HIF-1 α , wiązała się ze zmniejszeniem odsetka 5- letnich przeżyć w grupie kobiet z rakiem szyjki macicy w III stopniu zaawansowania wg FIGO [33].

Poziom ekspresji VEGF-C i VEGFR3 koreluje z cechami inwazji lokalnej, stopniem unaczynienia guza, gęstością naczyń limfatycznych, a co najważniejsze z obecnością nacieku naczyń limfatycznych i zajęciem węzłów chłonnych [34-40]. Z nadekspresją VEGF-C wiązało się ponadto zmniejszenie odsetka 5-letnich przeżyć w grupie kobiet z rakiem szyjki macicy poddanych hysterektomii radykalnej z limfadenektomią miedniczną [34].

Wśród induktorów ekspresji VEGF-C wymienia się palenie tytoniu, infekcję hrHPV i COX-2 [41-44].

Na poziomie submikroskopowym największą ekspresję VEGF-C stwierdza się w obszarach guza naciekających okoliczne tkanki, a jej poziom koreluje z gęstością naczyń limfatycznych okalających nowotwór [45]. Również w badaniach na liniach komórkowych wykazano, że VEGF-C nasila potencjał inwazyjny i przerzutowy komórek raka szyjki macicy i może wywierać na nie bezpośredni wpływ mitogeny [46-48]. Podobnie jak w przypadku VEGF obserwuje się wzrost ekspresji VEGF-C, VEGF-D i VEGFR3 w miarę progresji zmian typu CIN, a do najsilniejszej manifestacji limfangiogenicznego fenotypu komórek nowotworowych dochodzi na etapie CIN III [44, 49, 50].

We krwi kobiet z rakiem szyjki macicy stwierdza się zwiększone stężenia zarówno VEGF-C, jak i VEGF, a ich poziom koreluje ze stopniem zaawansowania wg FIGO, a w przypadku VEGF-C także z ryzykiem nawrotu choroby [51-54]. Co więcej wstępne dane wskazują, że oznaczanie stężenia VEGF-C w surowicy może być przydatne we wczesnym rozpoznawaniu przerzutów raka szyjki macicy [55].

Czynniki z rodziny VEGF promują progresję raka szyjki macicy nie tylko poprzez kształtowanie mikrośrodowiska guza, ale także przez bezpośredni stymulujący wpływ na proliferację, inwazyjność i potencjał przerzutowy komórek nowotworowych. Co więcej, niektóre polimorfizmy w genach kodujących VEGF mogą wiązać się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju zmian typu CIN i raka inwazyjnego [56,57]. Nic więc dziwnego, że w leczeniu raka szyjki macicy duże nadzieje wiąże się z terapią celowaną ukierunkowaną na VEGF.

Bewacyzumab

Bewacyzumab to rekombinowane humanizowane przeciwciała monoklonalne, które neutralizuje wszystkie ludzkie izoformy VEGF-A blokując tym samym ich interakcję z VEGFR1 i VEGFR2, co skutkuje zahamowaniem proliferacji i rekrutacji komórek śródbłonna, a w efekcie zahamowaniem procesu formowania nowych naczyń krwionośnych [58].

Skuteczność bewacyzumabu w skojarzeniu z 5-fluorouracylem (5-FU) lub kapecytabiną w leczeniu raka szyjki macicy została po raz pierwszy zasugerowana przez wyniki analizy retrospektywnej, którą objęto grupę 6 kobiet z nawrotem choroby po leczeniu radykalnym [59]. Przy dobrej tolerancji leczenia korzyści kliniczne z terapii skojarzonej stwierdzono u 67% badanych, a mediana czasu do progresji choroby wynosiła w tej grupie badanych 4,3 miesiąca.

W badaniach klinicznych II fazy GOG wykazano skuteczność bewacyzumabu w monoterapii w drugiej i trzeciej linii leczenia nawrotowego raka szyjki macicy [60]. U 11 spośród 46 włączonych do badania pacjentek (23,9%; 90% CI: 14-37%) przeżycie wolne od progresji (PFS) wynosiło co najmniej 6 miesięcy, z kolei u 5 pacjentek (10,9%, 90% CI: 4-22%) uzyskano odpowiedź częściową (PR). Mediana czasu trwania odpowiedzi wynosiła 6,21 miesiący (2,83-8,28 miesiący), natomiast mediana PFS i OS wynosiła odpowiednio 3,4 (95% CI: 2,53-4,53) i 7,29 miesiący (95% CI: 6,11-10,41). W piśmiennictwie opisano również przypadki, które wskazują na korzyści płynące ze stosowania bewacyzumabu w skojarzeniu z karboplatiną lub z paklitaksellem i karboplatiną w leczeniu nawrotowego i przerzutowego raka szyjki macicy [61, 62].

Wstępne wyniki badania II fazy RTOG 0417 wskazują na bezpieczeństwo stosowania bewacyzumabu w skojarzeniu ze standardową chemioradioterapią z cisplatiną w leczeniu miejscowo zaawansowanego raka szyjki macicy [63]. Badaniem objęto grupę 60 pacjentek z rakiem szyjki macicy w stopniu zaawansowania IB-IIIb wg FIGO i w ciągu 90 dni od rozpoczęcia terapii nie stwierdzono wystąpienia poważnych działań niepożądanych związanych z leczeniem. Z drugiej strony w ramach wielośrodkowych badań klinicznych II fazy wykazano, że dodanie bewacyzumabu do schematu złożonego z cisplatiną i topotekanu w leczeniu nawrotowego lub przetrwałego raka szyjki macicy zwiększa skuteczność leczenia, ale znacznie nasila jego toksyczność [64]. Wśród 26 pacjentek objętych analizą u 1 stwierdzono odpowiedź całkowitą (CR) (4%; 80% CI: 0,4-14%), u 8 PR (31%; 80% CI: 19-45%), z kolei u 10 stabilizację choroby (39%; 80% CI: 25-53%). Mediana PFS i OS wynosiła odpowiednio 7,1 (80% CI: 4,7-10,1) i 13,2 miesiący (80% CI: 8-15,4). 78% badanych wymagało nieplanowanych hospitalizacji z powodu działań niepożądanych związanych z leczeniem, wśród których dominowała toksyczność hematologiczna 3-4 stopnia.

Przełomowe w ocenie skuteczności bewacyzumabu w leczeniu raka szyjki macicy okazały się wstępne wyniki randomizowanych badań klinicznych III fazy zaprezentowane podczas tegorocznej konferencji ASCO (American Society of Clinical Oncology) [65]. Do badania włączono 452 pacjentki z przetrwałym, przerzutowym lub nawrotowym rakiem szyjki macicy przydzielając je losowo do grupy otrzymującej wyłącznie chemioterapię w oparciu o schemat złożony z paklitakselu i cisplatiną lub paklitakselu i topotekanu (225 pacjentek) i do grupy otrzymującej chemioterapię w skojarzeniu z bewacyzumabem (227 pacjentek). W grupie otrzymującej chemioterapię w skojarzeniu z bewacyzumabem w porównaniu do grupy otrzymującej wyłącznie chemioterapię stwierdzono wyższy odsetek odpowiedzi klinicznych (48% vs 36%, $p=0,0078$) i klinicznie istotne wydłużenie mediany przeżycia całkowitego (17 vs 13,3 miesiący HR: 0,71; $p=0,0035$). W grupie z bewacyzumabem częściej obserwowano działania niepożądane 3 i 4 stopnia wg kryteriów National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events, które obejmowały krwotoki (5 vs 1%), incydenty zakrzepowo-zatorowe (9 vs 2%) oraz przetoki w obrębie przewodu pokarmowego (3 vs 0%).

Mimo że przedstawione wyniki są obiecujące, należy zauważyć, że zgodnie z teorią ewolucji klonalnej nowotworów, stosowanie leków ukierunkowanych na pojedynczy punkt uchwytu, prowadzi do selekcji, a co za tym idzie dominacji, klonów na te leki opornych [66]. Niektóre doniesienia wskazują, że komórki (dotychczas efekt ten opisano w odniesieniu do komórek raka jelita grubego i komórek glejowych) poddane długotrwałemu działaniu bewacyzumabu mogą reagować nasileniem ekspresji czynników z rodziny VEGF, w tym VEGF-C, których działania bewacyzumab nie neutralizuje [58,67,68]. Jest to najpewniej wyraz adaptacji komórek nowotworowych do zmian w mikrośrodowisku guza indukowanych przez bewacyzumab i jeden z mechanizmów aktywacji alternatywnego szlaku angiogenego. W badaniach II fazy oceniających skuteczność skojarzenia chemioterapii z bewacyzumabem w leczeniu przerzutowego raka jelita grubego zaobserwowano znamienny wzrost stężenia VEGF-C w surowicy zarówno przed progresją jak i w czasie progresji choroby (odpowiednio, +43%, $p=0,045$ i +72%, $p=0,004$) [69]. Wydaje się więc, że nadekspresja innych czynników z rodziny VEGF, w tym VEGF-C, może wiązać się z rozwojem oporności na bewacyzumab. Biorąc pod uwagę udział VEGF-C w patogenezie raka szyjki macicy i promowaniu jego progresji, ustalenie zależności między skutecznością terapii bewacyzumabem a poziomem ekspresji VEGF-C w tkance nowotworowej jest szczególnie istotne. Można bowiem przypuszczać, że w leczeniu tego nowotworu większą skuteczność kliniczną wykaże skojarzenie terapii celowanych ukierunkowanych na różne punkty uchwytu, w szczególności na VEGF i VEGF-C. W tym miejscu należy zaznaczyć, że terapia skojarzona z bewacyzumabu i VGX-100, przeciwciała monoklonalnego anty-VEGF-C, w leczeniu guzów litych podlega obecnie ocenie w ramach badań klinicznych I fazy [70].

Drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych (TKI)

Pazopanib jest drobnocząsteczkowym TKI, zarejestrowanym do leczenia zaawansowanego raka nerkowokomórkowego, ukierunkowanym na wiele punktów uchwytu, w tym

Magdalena Salomon-Perzyńska et al. *Terapia celowana ukierunkowana na VEGF w leczeniu raka szyjki macicy..*

VEGFR-1,-2,-3 [71]. W badaniach klinicznych II fazy porównujących skuteczność pazopanibu i lapatynibu w monoterapii w leczeniu raka szyjki macicy w stopniu zaawansowania IVB wg FIGO, przetrwałego lub nawrotowego, w ramieniu z pazopanibem przy akceptowalnym profilu toksyczności stwierdzono poprawę PFS (HR 0,66; 90% CI: 0,48-0,91; p=0,013) i początkowo także OS (HR 0,67; 90% CI: 0,46-0,99; p=0,045) [72]. Ostatecznie jednak wpływ pazopanibu na OS nie został potwierdzony [73]. Z kolei, sunitynib, kolejny drobnocząsteczkowy TKI ukierunkowany m.in. na VEGFR nie wykazał zadowalającej skuteczności w monoterapii u pacjentek z miejscowo zaawansowanym lub przerzutowym rakiem szyjki macicy leczonych wcześniej chemioterapią [74].

Jak dotąd, według wiedzy autorów, w ramach badań klinicznych w leczeniu raka szyjki macicy nie oceniano skuteczności innych drobnocząsteczkowych TKI ukierunkowanych na VEGFR (m.in.: sorafenibu, wandetanibu i akystynibu).

Podsumowanie

Terapia celowana ukierunkowana na VEGF wydaje się być cennym uzupełnieniem standardowych metod leczenia zaawansowanego raka szyjki macicy. Należy jednak pamiętać, że pełne korzyści kliniczne z terapii celowanych będzie można osiągnąć wówczas, gdy zostaną zidentyfikowane i przełamane mechanizmy rozwoju oporności na te terapie.

Oświadczenie autorów

1. Magdalena Salomon-Perzyńska – autor koncepcji i założeń pracy, przygotowanie manuskryptu i piśmiennictwa – autor zgłaszający i odpowiedzialny za manuskrypt.
2. Aleksander Perzyński – współautor koncepcji pracy, zebranie materiału, analiza piśmiennictwa, przygotowanie manuskryptu.
3. Beata Rembielak-Stawecka – współautor tekstu pracy, korekta i aktualizacja literatury.
4. Bogdan Michalski – ocena merytoryczna, korekta i akceptacja ostatecznego kształtu manuskryptu.
5. Violetta Skrzypulec-Plinta – ostateczna weryfikacja i akceptacja manuskryptu.

Źródło finansowania:

Praca nie była finansowana przez żadną instytucję naukowo-badawczą, stowarzyszenie ani inny podmiot, autorzy nie otrzymali żadnego grantu.

Konflikt interesów:

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów oraz nie otrzymali żadnego wynagrodzenia związanego z powstawaniem pracy.

Piśmiennictwo

1. Jemal A, Bray F, Center MM, [et al.]. Global cancer statistics. *Cancer J Clin*. 2011, 61, 69-90.
2. Raport na podstawie danych Centrum Onkologii, Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie, Warszawa. <http://epid.coi.waw.pl/km/>, data wejścia: 24.09.2013.
3. Żółciak-Siwińska A, Jońska-Gmyrek J, Socha J. Recurrent cervical cancer—therapeutic options. *Ginekol Pol*. 2012, 83, 527-531.
4. Ferrara N, Gerber HP, Lecouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003, 9, 669-676.
5. Obermair A, Bancher-Todesca D, Bilgi S, [et al.]. Correlation of vascular endothelial growth factor expression and microvessel density in cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst*. 1997, 89, 1212-1217.
6. Dobbs SP, Hewett PW, Johnson IR, [et al.]. Angiogenesis is associated with vascular endothelial growth factor expression in cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer*. 1997, 76, 1410-1415.
7. Lee JS, Kim HS, Park JT, [et al.]. Expression of vascular endothelial growth factor in the progression of cervical neoplasia and its relation to angiogenesis and p53 status. *Anal Quant Cytol Histol*. 2003, 25, 303-311.
8. Soufla G, Sifakis S, Baritaki S, [et al.]. VEGF, FGF2, TGFβ1 and TGFβR1 mRNA expression levels correlate with the malignant transformation of the uterine cervix. *Cancer Lett*. 2005, 221, 105-118.
9. Baritaki S, Sifakis S, Huerta-Yepez S, [et al.]. Overexpression of VEGF and TGF-β1 mRNA in Pap smears correlates with progression of cervical intraepithelial neoplasia to cancer: implication of YY1 in cervical tumorigenesis and HPV infection. *Int J Oncol*. 2007, 31, 69-79.
10. Carrero Y, Callejas D, Alafia F, [et al.]. Increased vascular endothelial growth factor expression, CD3-positive cell infiltration, and oxidative stress in premalignant lesions of the cervix. *Cancer*. 2009, 115, 3680-3688.
11. Hammes LS, Tekmal RR, Naud P, [et al.]. Up-regulation of VEGF, c-fms and COX-2 expression correlates with severity of cervical cancer precursor (CIN) lesions and invasive disease. *Gynecol Oncol*. 2008, 110, 445-451.
12. Belfort-Mattos PN, Focchi GR, Speck NM, [et al.]. Immunohistochemical expression of granzyme B and vascular endothelial growth factor (VEGF) in normal uterine cervixes and low and high grade squamous intraepithelial lesions. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2010, 31, 459-461.
13. Cheng WF, Chen CA, Lee CN, [et al.]. Vascular endothelial growth factor in cervical carcinoma. *Obstet Gynecol*. 1999, 93, 761-765.
14. Cheng WF, Chen CA, Lee CN, [et al.]. Vascular endothelial growth factor and prognosis of cervical carcinoma. *Obstet Gynecol*. 2000, 96, 721-726.
15. Lancaster JA, Cooper RA, Logue JP, [et al.]. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression is a prognostic factor for radiotherapy outcome in advanced carcinoma of the cervix. *Br J Cancer*. 2000, 83, 620-625.
16. Randall LM, Monk BJ, Darcy KM, [et al.]. Markers of angiogenesis in high-risk, early-stage cervical cancer: A Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 2009, 112, 583-589.
17. Bequet-Romero M, López-Ocejo O. Angiogenesis modulators expression in culture cell lines positives for HPV-16 oncoproteins. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000, 277, 55-61.
18. López-Ocejo O, Vilorio-Petit A, Bequet-Romero M, [et al.]. Oncogenes and tumor angiogenesis: the HPV-16 E6 oncoprotein activates the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene promoter in a p53 independent manner. *Oncogene*. 2000, 19, 4611-4620.
19. Laderoute KR, Alarcon RM, Brody MD, [et al.]. Opposing effects of hypoxia on expression of the angiogenic inhibitor thrombospondin 1 and the angiogenic inducer vascular endothelial growth factor. *Clin Cancer Res*. 2000, 6, 2941-2950.
20. Tanaka H, Yasuda Y, Musha T, [et al.]. Hypoxia correlates with angiogenesis in cervical cancers. *Int J Clin Oncol*. 2005, 10, 35-39.
21. Tang X, Zhang Q, Nishitani J, [et al.]. Overexpression of human papillomavirus type 16 oncoproteins enhances hypoxia-inducible factor 1 alpha protein accumulation and vascular endothelial growth factor expression in human cervical carcinoma cells. *Clin Cancer Res*. 2007, 13, 2568-2576.
22. Kim SH, Juhn YS, Kang S, [et al.]. Human papillomavirus 16 E5 up-regulates the expression of vascular endothelial growth factor through the activation of epidermal growth factor receptor, MEK/ERK1,2 and PI3K/Akt. *Cell Mol Life Sci*. 2006, 63, 930-938.
23. Chen L, Wu YY, Liu P, [et al.]. Down-regulation of HPV18 E6, E7, or VEGF expression attenuates malignant biological behavior of human cervical cancer cells. *Med Oncol*. 2011, 28 Suppl 1, S528-539.
24. Fujimoto J, Toyoki H, Sato E, [et al.]. Expression of cyclooxygenase-2 related to angiogenesis in uterine cervical cancers. *J Biomed Sci*. 2006, 13, 825-832.
25. Dai Y, Zhang X, Peng Y, Wang Z. The expression of cyclooxygenase-2, VEGF and PGs in CIN and cervical carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2005, 97, 96-103.
26. Wei LH, Kuo ML, Chen CA, [et al.]. Interleukin-6 promotes cervical tumor growth by VEGF-dependent angiogenesis via a STAT3 pathway. *Oncogene*. 2003, 22, 1517-1527.
27. Wei LH, Kuo ML, Chen CA, [et al.]. Interleukin-6 in cervical cancer: the relationship with vascular endothelial growth factor. *Gynecol Oncol*. 2001, 82, 49-56.
28. Yang H, He ZQ, Zhao YX, [et al.]. [Expression of TLR8 in human cervical cancer HeLa cells and the effect of TLR8 agonist on the cell proliferation and apoptosis]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2011, 33, 643-648.
29. Tang B, Qu Y, Zhao F, [et al.]. In vitro effects of hypoxia-inducible factor 1alpha on the biological characteristics of the SiHa uterine cervix cancer cell line. *Int J Gynecol Cancer*. 2009, 19, 898-904.
30. Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med*. 2003, 9, 677-684.
31. Hu X, Xing L, Wei X, [et al.]. Nonangiogenic function of VEGF and enhanced radiosensitivity of HeLa cells by inhibition of VEGF expression. *Oncol Res*. 2012, 20, 93-101.
32. Mathur RS, Mathur SP. Vascular endothelial growth factor (VEGF) up-regulates epidermal growth factor receptor (EGF-R) in cervical cancer in vitro: this action is mediated through HPV-E6 in HPV-positive cancers. *Gynecol Oncol*. 2005, 97, 206-213.
33. Markowska J, Grabowski JP, Tomaszewska K, [et al.]. Significance of hypoxia in uterine cervical cancer. Multicentre study. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2007, 28, 386-388.
34. Ma DM, Xu YP, Zhu L. Expression of vascular endothelial growth factor C correlates with a poor prognosis based on analysis of prognostic factors in patients with cervical carcinomas. *J Obstet Gynaecol Res*. 2011, 37, 1519-1524.
35. Botting SK, Fouad H, Elwell K, [et al.]. Prognostic significance of peritumoral lymphatic vessel density and vascular endothelial growth factor receptor 3 in invasive squamous cell cervical cancer. *Transl Oncol*. 2010, 3, 170-175.
36. Zhang S, Yu H, Zhang L. Role of vascular endothelial growth factor receptor-3/Flt-4 in early-stage cervical cancer. *Oncol Lett*. 2010, 1, 453-456.

Magdalena Salomon-Perzyńska et al. *Terapia celowana ukierunkowana na VEGF w leczeniu raka szyjki macicy...*

37. Yu H, Zhang S, Zhang R, Zhang L. The role of VEGF-C/D and Flt-4 in the lymphatic metastasis of early-stage invasive cervical carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res.* 2009, 28:98.
38. Shi X, Xi L, Weng D, [et al.]. Clinicopathological Significance of VEGF-C, VEGFR-3 and Cyclooxygenase-2 in Early-Stage Cervical Cancer. *Int J Biomed Sci.* 2008, 4, 58-63.
39. Hashimoto I, Kodama J, Seki N, [et al.]. Vascular endothelial growth factor-C expression and its relationship to pelvic lymph node status in invasive cervical cancer. *Br J Cancer.* 2001, 85, 93-97.
40. Ueda M, Terai Y, Yamashita Y, [et al.]. Correlation between vascular endothelial growth factor-C expression and invasion phenotype in cervical carcinomas. *Int J Cancer.* 2002, 98, 335-343.
41. Liu H, Xiao J, Yang Y, Liu Y, [et al.]. COX-2 expression is correlated with VEGF-C, lymphangiogenesis and lymph node metastasis in human cervical cancer. *Microvasc Res.* 2011, 82, 131-140.
42. Inamine M, Nagai Y, Mitsuhashi A, [et al.]. Cigarette smoke stimulates VEGF-C expression in cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 1 and 2 lesions. *Int J Clin Oncol.* 2012, 7, 498-504.
43. Lane D, Gray EA, Mathur RS, Mathur SP. Up-regulation of vascular endothelial growth factor-C by nicotine in cervical cancer cell lines. *Am J Reprod Immunol.* 2005, 53, 153-158.
44. Branca M, Giorgi C, Santini D, [et al.]. HPV-Pathogen ISS Study Group. Aberrant expression of VEGF-C is related to grade of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and high risk HPV, but does not predict virus clearance after treatment of CIN or prognosis of cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2006, 59, 40-47.
45. Gombos Z, Xu X, Chu CS, [et al.]. Peritumoral lymphatic vessel density and vascular endothelial growth factor C expression in early-stage squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Clin Cancer Res.* 2005, 11, 8364-8371.
46. Kanda K, Ueda M, Futakuchi H, [et al.]. Transcriptional expression of the genes implicated in angiogenesis and tumor invasion in cervical carcinomas. *Gynecol Oncol.* 2005, 98, 453-461.
47. Ueda M, Terai Y, Kumagai K, [et al.]. Vascular endothelial growth factor C gene expression is closely related to invasion phenotype in gynecological tumor cells. *Gynecol Oncol.* 2001, 82, 162-166.
48. Shi X, Chen G, Xing H, [et al.]. VEGF-C, VEGFR-3, and COX-2 enhances growth and metastasis of human cervical carcinoma cell lines in vitro. *Oncol Rep.* 2007, 18, 241-247.
49. Van Trappen PO, Steele D, Lowe DG, [et al.]. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D, and their receptor VEGFR-3, during different stages of cervical carcinogenesis. *J Pathol.* 2003, 201, 544-554.
50. Jach R, Dulinska-Litewka J, Laidler P, [et al.]. Expression of VEGF, VEGF-C and VEGFR-2 in in situ and invasive SCC of cervix. *Front Biosci (Elite Ed).* 2010, 2, 411-423.
51. Lebrecht A, Ludwig E, Huber A, [et al.]. Serum vascular endothelial growth factor and serum leptin in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2002, 85, 32-35.
52. Mitsuhashi A, Suzuka K, Yamazawa K, [et al.]. Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C levels as tumor markers in patients with cervical carcinoma. *Cancer.* 2005, 103, 724-730.
53. Landt S, Wehling M, Heidecke H, [et al.]. Prognostic significance of angiogenic factors in uterine cervical cancer. *Anticancer Res.* 2011, 31, 2589-2595.
54. Zusterzeel PL, Span PN, Dijksterhuis MG, [et al.]. Serum vascular endothelial growth factor: a prognostic factor in cervical cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2009, 135, 283-290.
55. Mathur SP, Mathur RS, Gray EA, [et al.]. Serum vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) as a specific biomarker for advanced cervical cancer: Relationship to insulin-like growth factor II (IGF-II), IGF binding protein 3 (IGF-BP3) and VEGF-A [corrected]. *Gynecol Oncol.* 2005, 98, 467-483.
56. Grimm C, Watrowski R, Polterauer S, [et al.]. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Cancer.* 2011, 21, 597-601.
57. Kim YH, Kim MA, Park IA, [et al.]. VEGF polymorphisms in early cervical cancer susceptibility, angiogenesis, and survival. *Gynecol Oncol.* 2010, 119, 232-236.
58. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber HP, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov.* 2004, 3, 391-400.
59. Wright JD, Viviano D, Powell MA, [et al.]. Bevacizumab combination therapy in heavily pretreated, recurrent cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2006, 103, 489-493.
60. Monk BJ, Sill MW, Burger PA, [et al.]. Phase II trial of bevacizumab in the treatment of persistent or recurrent squamous cell carcinoma of the cervix: a gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol.* 2009, 27, 1069-1074.
61. Tan SJ, Juan YH, Fu PT, [et al.]. Chemotherapy with low-dose bevacizumab and carboplatin in the treatment of a patient with recurrent cervical cancer. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2010, 31, 350-353.
62. Takano M, Kikuchi Y, Kita T, [et al.]. Complete remission of metastatic and relapsed uterine cervical cancers using weekly administration of bevacizumab and paclitaxel/carboplatin. *Onkologie.* 2009, 32, 595-597.
63. Scheffer TE, Winter K, Kwon JS, [et al.]. A phase II study of bevacizumab in combination with definitive radiotherapy and cisplatin chemotherapy in untreated patients with locally advanced cervical carcinoma: preliminary results of RTOG 0417. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012, 83, 1179-1184.
64. Zigelboim I, Wright JD, Gao F, [et al.]. Multicenter phase II trial of topotecan, cisplatin and bevacizumab for recurrent or persistent cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2013, 130, 64-68.
65. Tewari KS, Sill M, Long HJ, [et al.]. Incorporation of bevacizumab in the treatment of recurrent and metastatic cervical cancer: A phase III randomized trial of the Gynecologic Oncology Group. *J Clin Oncol.* 2013, 31, (suppl; abstr 3).
66. Aparicio S, Caldas C. The implications of clonal genome evolution for cancer medicine. *N Engl J Med.* 2013, 368, 842-851.
67. Fan F, Samuel S, Gaur P, [et al.]. Chronic exposure of colorectal cancer cells to bevacizumab promotes compensatory pathways that mediate tumour cell migration. *Br J Cancer.* 2011, 104, 1270-1277.
68. Grau S, Thorsteinsdottir J, von Baumgarten L, [et al.]. Bevacizumab can induce reactivity to VEGF-C and -D in human brain and tumour derived endothelial cells. *J Neurooncol.* 2011, 104, 103-12.
69. Lieu CH, Tran HT, Jiang Z, [et al.]. The association of alternate VEGF ligands with resistance to anti-VEGF therapy in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2011, 29, (suppl; abstr 3533).
70. Study of VGX-100 Administered alone and Co-administered with Bevacizumab in adult subjects with advanced solid tumors. <http://clinicaltrials.gov>, NCT01514123.
71. van Geel RM, Beijnen JH, Schellens JH. Concise drug review: pazopanib and axitinib. *Oncologist.* 2012, 17, 1081-1089.
72. Monk BJ, Mas Lopez L, Zarba JJ, [et al.]. Phase II, open-label study of pazopanib or lapatinib monotherapy compared with pazopanib plus lapatinib combination therapy in patients with advanced and recurrent cervical cancer. *J Clin Oncol.* 2010, 28, 3562-3569.
73. Monk BJ, Pandite LN. Survival data from a phase II, open-label study of pazopanib or lapatinib monotherapy in patients with advanced and recurrent cervical cancer. *J Clin Oncol.* 2011, 29, 4845.
74. Mackay HJ, Tinker A, Winquist E, [et al.]. A phase II study of sunitinib in patients with locally advanced or metastatic cervical carcinoma: NCIC CTG Trial IND.184. *Gynecol Oncol.* 2010, 116, 163-167.