

Artykuły przeglądowe • Review articles

**Znaczenie angiogenezy w raku szyjki macicy.
Czy ma związek z terapią tego raka?**Janina Markowska¹, Stanisław Szala²

Angiogeneza jest złożonym procesem, który w warunkach patologicznych związany jest głównie ze wzrostem nowotworów i tworzeniem przerzutów. Znana jest szeroka lista czynników proangiogennych i hamujących angiogenezę. Do najbardziej poznanych czynników proangiogennych należą VEGF, bFGF, PDGF, TNF α oraz interleukiny 3, 6, 8. Do czynników hamujących angiogenezę zalicza się VEGI, interferony α i β , angiostatynę, endostatynę i interleukiny 10, 12 i 18. Brak równowagi między czynnikami pro- i antyangiogennymi, na korzyść tych ostatnich, pociąga za sobą upośledzenie wzrostu guzów i przerzutów, a nawet niekiedy ich regresję. Inhibitory procesu angiogenezy tworzą nowe grupy leków przeciwnowotworowych, które znajdują się w trakcie badań klinicznych. Angiogeneza jest uznanym, ważnym elementem rozwoju raka szyjki macicy. Trwają badania nad określeniem skuteczności terapii antyangiogennej w tym raku.

Angiogenesis in cervical cancer. May it affect therapy?

Angiogenesis is a complex process associated with the development of malignancies and metastases. A significant number of factors are considered to be either proangiogenic or antiangiogenic. The best known proangiogenics include VEGF, bFGF, PDGF, TNF α and interleukins 3, 6 and 8, while VEGI, interferone α i β , angiostatin, endostatin and interleukins 10, 12 and 18 inhibit angiogenesis. The disturbances in the balance of proangiogenics and antiangiogenics, with an increase on the part of the latter, negatively affect tumour growth and development of metastases and may even cause tumour regression. Inhibitors of angiogenesis develop into new types of anti-cancer drugs, which are a subject of clinical trials. Angiogenesis is a recognised, important element in the development of cervical carcinoma and, therefore, the efficacy of antiangiogenic therapy in the treatment of cervical cancer is currently being evaluated.

Słowo kluczowe: angiogeneza, rak szyjki macicy**Key words:** angiogenesis, cervical cancer

Angiogeneza lub neowaskularyzacja to powstawanie nowych naczyń krwionośnych z już istniejących. W życiu popłodowym, w warunkach fizjologicznych, proces ten ma miejsce podczas gojenia się zranień, ran i złamań kości, podczas cyklu miesięczkowego i w przebiegu porodu (odbudowa błony śluzowej, wzrost i dojrzewanie oocytu, owulacja, krążenie maczyno-rodowe, odnowa błony śluzowej po porodzie). W warunkach patologicznych proces ten głównie związany jest ze wzrostem nowotworów i tworzeniem przerzutów [1-5].

Angiogeneza zależy od wielu czynników. W jej indukcji i przebiegu biorą udział czynniki stymulujące proliferację i migrację komórek śródbłonka [3-7]. Zidentyfi-

kowano wiele czynników stymulujących angiogenezę. Należą do nich m.in.: naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF, ang. *vascular endothelial growth factor*), zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF, ang. *basic fibroblast growth factor*), płytkowy czynnik wzrostu (PDGF, ang. *platelet derived growth factor*), czynnik martwicy guza α (TNF α , ang. *tumor necrosis factor α*), oraz interleukiny 3, 6 i 8 (IL-3, IL-6, IL-8) [5-9].

Znana jest również pokaźna lista czynników hamujących angiogenezę. Należą do nich m.in.: angiostatyna, endostatyna, wazostatyna, angioarestyna, interferony α i β , inhibitor naczyniowego czynnika wzrostu śródbłonków (VEGI, ang. *vascular endothelial growth inhibitor*), fragmenty protrombiny 1 i 2, a także interleukiny 10, 12, 18 (IL-10, IL-12, IL-18) [5-12].

W wielkim uproszczeniu, angiogeneza składa się z trzech etapów. Pierwszy etap dotyczy tworzenia miejsca dla nowopowstałych naczyń (etap ten obejmuje m.in. aktywację enzymów biorących udział w trawieniu macierzy pozakomórkowej oraz proces degradacji macierzy). Etap drugi to proliferacja spoczynkowych komórek śródbłonko-

¹ Klinika Onkologii, Oddział Ginekologii Onkologicznej
Akademia Medycznej w Poznaniu

² Zakład Biologii Molekularnej
Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
Oddział w Gliwicach

wych naczyń i przemieszczanie się ich w kierunku źródła sygnałów proangiogennych. Wreszcie etap trzeci to różnicowanie proliferujących komórek śródbłonkowych i powstawanie światła naczyń [13-16].

Proces angiogenezy jest wynikiem skoordynowanego współdziałania wielu komórek prawidłowych m.in.: makrofagów, pericytów, a także komórek krążących w krwiobiegu: monocytów, komórek śródbłonkowych, płytek krwi. Proces angiogenezy w warunkach prawidłowych, np. podczas gojenia się ran, jest procesem ściśle kontrolowanym. Kontrolowanie wydzielania przez różne komórki czynników proangiogennych i czynników antyangiogennych prowadzi do zahamowania wzrostu naczyń. W przypadku stanów patologicznych, np. w nowotworach, obserwuje się wysoce niekontrolowane wydzielanie czynników proangiogennych: „nowotwory są raną, która się nigdy nie goi” [17]. Część czynników proangiogennych wydzielanych przez komórkę nowotworową ma również aktywność wzrostową co doprowadza do niekontrolowanej proliferacji komórek śródbłonkowych [18].

Oprócz czynników genetycznych biorących udział w indukcji angiogenezy, również czynniki epigenetyczne mogą indukować powstawanie naczyń. Jednym z takich czynników, które mogą wpływać na ekspresję genów kodujących czynniki proangiogenne, jest niedobór tlenu, niedotlenowanie [19].

Proces powstawania naczyń okołonowotworowych jest procesem ciągłym, nieskoordynowanym i pozbawionym kontroli. Naczynia te często powstają również z naczyń już istniejących przez procesy nazywane „wydłużaniem” lub „kielkowaniem” [20]. W powstawaniu naczyń okołonowotworowych biorą także udział, wywodzące się ze szpiku i krążące w krwiobiegu, komórki prekursorowe komórek śródbłonkowych [21]. Wówczas proces angiogenezy przypomina raczej proces waskulogenezy, czyli tworzenia pierwotnej sieci naczyń z komórek macierzystych hemangioblastów, który daje podstawę tworzenia dużych naczyń krwionośnych i występuje w przebiegu rozwoju embrionalnego. Ściany naczyń okołonowotworowych mogą być także tworzone i wyścielane przez komórki nowotworowe (tzw. naczynia mozaikowe) [22].

Nowopowstające naczynia okołonowotworowe różnią się zdecydowanie od naczyń prawidłowych [23]. Do najbardziej istotnych cech naczyń nowotworowych można zaliczyć: niekontrolowaną proliferację komórek śródbłonkowych, sinusoidalny przebieg naczyń, liczne anastomozy tętniczo-żylnie i ślepe zakończenia, brak w niektórych regionach naczyń komórek towarzyszących: pericytów i mięśniówki, oraz wielką przepuszczalność. Przepuszczalność naczyń oraz brak drenażu limfatycznego jest jedną z przyczyn powstawania w obrębie guzów podwyższonego ciśnienia śródmiąższowego [24].

Bezpośrednim czynnikiem sprawczym indukcji naczyń są zmiany zachodzące w materiale genetycznym komórek nowotworowych [25]. Komórki nowotworowe zaczynają w sposób konstytutywny aktywować szereg genów, w tym także gen kodujący jeden z podstawowych czynników wzrostowych komórek śródbłonkowych, tzw. VEGF. Ta genetycznie uwarunkowana zmiana właściwo-

ści, zachodząca w genotypie komórek nowotworowych, nazwana jest przejściem angiogenym (ang. *angiogenic switch*) [18].

Fenotyp angiogeny ułatwia powstawanie unaczynionego guza [18]. Progresa nowotworów ma miejsce wówczas, gdy komórki nowotworowe zaczynają stymulować powstawanie własnej sieci naczyń. Pogląd, że jedną z cech fenotypowych komórek nowotworowych jest zdolność do indukcji naczyń krwionośnych w świetle badań klinicznych wydaje się być uzasadniony [25]. Badania przedkliniczne wskazują bowiem, że: (1) nowotwory awaskularne zaczynają się rozwijać wówczas, kiedy docierają do nich nowopowstające naczynia [26]; (2) nowotwory ze stanu uśpienia może pobudzić do rozwoju wprowadzenie drogą transfekcji genu kodującego jeden z czynników proangiogennych [27]; (3) wzrost nowotworu może być zahamowany przez inhibitory proliferacji komórek śródbłonkowych (przez tzw. czynniki antyangiogenne) [28, 29].

Jeśli więc rozwój naczyń jest niezbędnym czy też koniecznym warunkiem zwiększania objętości guza czy też powstawania przerzutów, powstaje pytanie, czy zahamowanie powstawania sieci naczyń nie spowoduje zahamowania wzrostu guzów pierwotnych i przerzutów? Wiele danych doświadczalnych wskazuje, że rzeczywiście tak jest [13-16, 30, 31]. Zachwianie równowagi między czynnikami pro i antyangiogennymi, na korzyść tych ostatnich, powoduje nie tylko zahamowanie powstawania nowych naczyń. Zahamowanie to pociąga za sobą upośledzenie wzrostu guzów i przerzutów, a w pewnych wypadkach nawet ich regresję.

Inhibitory angiogenezy mają szansę stać się skuteczną nową klasą leków przeciwnowotworowych. Leki te, ze swej natury, są lekami cytostatycznymi: hamując proliferację komórek śródbłonkowych – hamują powstawanie nowych naczyń. Leki te np. mogą działać na wydzielanie czynników proangiogennych przez komórki nowotworowe. Klasycznym przykładem jest tzw. trastuzumab, przeciwciało blokujące receptor ERBB2 (HER2/neu). Zahamowanie aktywności tego receptora hamuje wydzielanie przez komórki nowotworowe różnych czynników proangiogennych, w tym angiopoetyny 1 i VEGF. Leki antyangiogenne mogą wiązać lub sekwestrować wolne czynniki proangiogenne znajdujące się poza komórkami. Do leków tych można zaliczyć np. rozpuszczalne receptory VEGF lub przeciwciała inaktywujące VEGF. Niektóre leki mogą wreszcie wpływać na różne etapy transdukcji sygnału mitogennego, zainicjowanego przez pobudzony receptor czynnika wzrostowego. Do grupy tej należą np. inhibitory kinaz tyrozynowych, a także inhibitory proliferacji i migracji komórek śródbłonkowych. Istnieją oczywiście różne inne podziały i klasyfikacje leków antyangiogennych. W kilku ostatnich pracach przeglądowych można znaleźć nie tylko nowe klasyfikacje leków antyangiogennych, ale również dokładny opis ich działania [31-33]. Neowaskularyzacja jest również krytycznym krokiem w rozwoju raka szyjki macicy.

Podobnie jak u innych nowotworów, również neowaskularyzacja odgrywa ważną rolę w rozwoju szyjki ma-

cicy. Poniżej przedstawiamy kilka danych dotyczących roli gęstości naczyń, poziomu VEGF, oraz innych czynników, które mogą mieć ważne znaczenie w przebiegu i terapii raka szyjki macicy.

Gęstość włóściwek MVD (MVD, ang. *microvessel density*)

Wykładnikiem tego procesu w szyjce macicy jest gęstość mikronaczyń. Jest to średnia ilość naczyń liczonych w 10 polach pod dużym powiększeniem. W badaniach immunohistochemicznych wykorzystuje się przeciwciała monoklonalne przeciwko czynnikowi VIII, które łączy się z komórkami śródbłonkowymi. Stosuje się również przeciwciała antyCD34, antyCD31 i antyBNH9 (marker nowotworzenia szyjki macicy) [34].

Badania MVD mogą różnić się między sobą w zależności od rodzaju zastosowanego przeciwciała, dlatego należy używać tego samego przeciwciała w różnych badanych grupach pacjentek. W badaniach Vieira i wsp. [34] gęstość mikronaczyń, oceniana na preparatach z oznaczeniem CD34 i BNH9, była znacznie wyższa niż w przypadku preparatów z oznaczeniami CD31. Zastosowane przeciwciała anty – CD34 i BHN9 są więc bardziej czułe niż CD31.

W badaniach 24 pacjentek z rakiem mikroinwazyjnym (FIGO I A1) MVD wynosiła 40, podczas gdy w raku *in situ* (CIS) 20 ($p < 0,05$). Różnica MVD była również znamienna statystycznie między grupą pacjentek z CIS i grupą kontrolną [35].

Ozalp i wsp. [36] uważają, że MVD może być markerem angiogenezy. W ich badaniach liczba MVD była statystycznie znacząco wyższa w CIN II i CIN III niż w CIN I. W multiwariantowej analizie jedynie przerzuty raka szyjki macicy do węzłów chłonnych wydają się być, oprócz MVD, niezależnym czynnikiem prognostycznym w raku szyjki macicy.

Cantu i wsp. [37] oznaczali MVD u 118 pacjentek z rakiem szyjki macicy w II i III stopniu wg FIGO, leczonych standardowo napromienianiem. W przypadkach nawrotów 67,8% pacjentek miało MVD 20, a tylko 39% pacjentek miało tę wartość bez nawrotów. Obliczono również zależność przeżycia od MVD. Ogólnie wartość MVD > 20 związana była z krótszym przeżyciem. Dla pacjentek z rakiem szyjki macicy w II° klinicznym, młodszych niż 40 lat, MVD może być czynnikiem prognostycznym wznów i nawrotów choroby.

Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu – VEGF

Szereg badań wskazuje na związek między VEGF i jego izoform (w tym FLt-1, FLk-1) a angiogenezą. Michalski i wsp. [38] wskazują, że związek ten ma miejsce w początkowej fazie karcynogenezy raka szyjki macicy, konkretnie w zmianach śródnabłonkowych małego stopnia szyjki macicy (LSIL). Odmiennego zdania są inni autorzy [39], którzy badali ekspresję VEGF u kobiet w kolejnych stadiach raka szyjki macicy (od kontrolnych poprzez CIN do raka inwazyjnego). Uważają oni, że ekspresja VEGF

wzrasta stopniowo poprzez CIN do SCC (raka inwazyjnego) i koreluje z MVD. Wydaje się również, że rolę w tej regulacji może odgrywać p53 (brak ekspresji w nabłonku normalnym i CIN) oraz IL-6 promująca rozwój raka szyjki macicy poprzez aktywację VEGF [40].

Inne czynniki angiogenezy

Badania chorych na raka szyjki macicy w stopniu IB do IVA wg FIGO leczonych napromienianiem wskazują na istnienie markerów prognostycznych choroby. W badaniach Goffney i wsp. [41] potwierdziły zależność pomiędzy niektórymi czynnikami proangiogennymi a rokowaniem u chorych. Ekspresja VEGF i EGF pozwoliła zidentyfikować grupę chorych ze wzmożonym ryzykiem śmierci. Topo II (marker proliferacji) korelował z COX-2 i wskazywał na długość czasu przeżycia wolnego od choroby. Wzmożona ekspresja EGFR, VEGF i COX-2 pozwoliła zidentyfikować chore z gorszym rokowaniem.

Czynniki antyangiogenne

Trombospondyna 1 (TSP-1) zlokalizowana jest głównie w komórkach warstwy podstawnej [42]. Obecność TSP-1 oraz MVD badano u kobiet z dysplazją, rakiem *in situ* i rakiem inwazyjnym szyjki macicy. Gęstość naczyń była odwrotnie skorelowana z TSP-1. W nabłonku normalnym MVD jest niska, a poziom TSP-1 wysoki. W raku śródnabłonkowym MVD jest wyższy, a poziom TSP-1 niższy. Wu i wsp. [42] uważają, że zanik TSP-1 z równoczesną inicjacją angiogenezy zachodzi podczas przejścia LSIL do HSIL (ang. *low grade squamous intraepithelial lesions to high grade intraepithelial lesions*). Proces angiogenezy rozpoczyna się zatem we wczesnym śródnabłonkowym rozwoju raka szyjki macicy, co spowodowane jest obniżeniem ekspresji TSP-1 w dysplastycznym nabłonku.

Badania nad czynnikami antyangiogennymi w terapii raka szyjki macicy

Nowojorska Grupa Ginekologów Onkologicznych (New York Gynecologic Oncology Group) opublikowała w 2004 roku raport dotyczący II fazy badań nad terapią skojarzoną briostatyną-1 i cisplatyną w raku szyjki macicy pierwotnym (4 przypadki) i u 10 z nawrotowym (briostatyna jest lekiem izolowanym z rośliny morskiej *Bugula nerutina*) [43].

Zakwalifikowane do badania kobiety otrzymywały 1 godzinną infuzję briostatyny w dawce 50-65 mg/m² oraz cisplatynę 50 mg/m² (terapia trwała 21 dni). Ze względu na liczebność pacjentek nie można wypowiedzieć się o wpływie leku, poza objawami ubocznymi (toksyczność II i III stopnia wg WHO).

Cytostatyki

W badaniach cytowanych przez Miller i wsp. [4] cisplatyna *in vitro* hamowała angiogenezę poprzez hamowanie proliferacji komórek śródbłonka, ale nie wywierała wpływu

wu na aktywność angiogenną w badaniach *in vivo*. Miyahara i wsp. [44], badając komórki raka szyjki macicy CaSki w hodowli, wykryli, że produkcję VEGF może indukować cisplatyna, co nie byłoby korzystne w stosowaniu cisplatinu u kobiet chorych na raka szyjki macicy. Jednakże badana ekspresja VEGF i MVD u kobiet leczonych cisplatiną z powodu raka szyjki była znacząco statystycznie niższa po leczeniu w przypadkach całkowitej odpowiedzi (CR) i częściowej (PR) w porównaniu do wartości przed leczeniem. Natomiast w przypadku *no change* (NC) wartości tych czynników były nawet niejednokrotnie wyższe po leczeniu.

Niedokrwistość i niedotlenienie

W badaniach Dunst i wsp. [45] u pacjentek chorych na raka szyjki macicy w stopniu IIB do IVA wg FIGO, poziom Hb jest najsilniejszym czynnikiem prognostycznym dla miejscowej kontroli i przeżycia. Grupa pacjentek chorych na raka szyjki, mająca niepomyślną prognozę, to grupa mająca hipoksję w czasie radioterapii, niski poziom Hb (<11g/DL) i wzmożoną angiogenezę (zwiększona gęstość sieci mikronaczyń). Uważa się, że również suplementacja kwasem foliowym wpływać może na wyniki leczenia raka szyjki macicy poprzez redukcję IGF-II, VEGF, EGF-R i IGF-I R (ang. *insuline like growth factor I receptor*) spowodowaną wzrostem IGF-BP 3 (ang. *insuline like growth factor binding protein 3*), w wyniku suplementacji kwasem foliowym [46].

Prof. dr hab. med. Janina Markowska
Katedra Onkologii AM
ul. Łąkowa 1/2
61-868 Poznań

Piśmiennictwo

- Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 4-6.
- Yao L, Pike SE, Setsuda J i wsp. Effective targeting of tumor vasculature by the angiogenesis inhibitors vasostatin and interleukin-12. *Blood* 2000; 96: 1900-5.
- O'Reilly MS, Holmgren L, Chen C i wsp. Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nat Med* 1996; 2: 689-92.
- Miller KD, Sweeney ChJ, Sledge Jr GW. Redefining the target: chemotherapeutics as antiangiogenics. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1195-206.
- Scappaticci FA. Mechanisms and future directions for angiogenesis-based cancer therapies. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3906-27.
- Belotti D, Vergani V, Drudis T i wsp. The microtubule-affecting drug paclitaxel has antiangiogenic activity. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 1843-9.
- Keyes KA, Mann L, Teicher B i wsp. Site-dependent angiogenic cytokine production in human tumor xenografts. *Cytokine* 2003; 21: 98-104.
- Presta M, Rusnati M, Belleri M i wsp. Purine analogue 6-methylmercaptopurine riboside inhibits early and late phases of the angiogenesis process. *Cancer Res* 1999; 59: 2417-24.
- Li D, Willams JI, Pietras RJ. Squalamine and cisplatin block angiogenesis and growth of human ovarian cancer cell with or without HER-2 gene overexpression. *Oncogene* 2002; 21: 2805-14.
- Yao L, Pike SE, Setsuda J i wsp. Effective targeting of tumor vasculature by the angiogenesis inhibitors vasostatin and interleukin-12. *Blood* 2000; 96: 1900-5.
- Barcz E, Sommer E, Janik P i wsp. Adenosine receptor antagonism causes inhibition of angiogenic activity of human ovarian cancer cells. *Oncol Rep* 2000; 7: 1285-91.
- Bagavandoss P, Wilks JW. Specific inhibition of endometrial cell proliferation by thrombospondin. *Biochem. Biophys Res Commun* 1990; 170: 867-72.
- Kerbel RS. Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis* 2000; 21: 505-15.
- Longo R, Sarmiento R, Fanelli M i wsp. Anti-angiogenic therapy: rationale, challenges and clinical studies. *Angiogenesis* 2002; 5: 237-56.
- Scappaticci FA. Mechanisms and future directions for angiogenesis-based cancer therapies. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3906-27.
- Tonini T, Rossi F, Claudio PP. Molecular basis of angiogenesis and cancer. *Oncogene* 2003; 22: 6549-56.
- Dvorak HF. How tumors make bad blood vessels and stroma. *Amer J Pathol* 2003; 162: 1747-57.
- Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996; 86: 353-64.
- Coomber BL, Yu JL, Fathers KE i wsp. Angiogenesis and the role of epigenetics in metastasis. *Clin Exp Metastasis* 2003; 20: 215-27.
- Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW i wsp. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 407: 242-8.
- Jain RK, Duda DG. Role of bone marrow-derived cells in tumor angiogenic and treatment. *Cancer Cell* 2003; 3: 515-6.
- Hendrix MJ, Seftor EA, Hess AR i wsp. Vasculogenic mimicry and tumor-cell plasticity: lessons from melanoma. *Nature Rev* 2003; 3: 411-21.
- Sivridis E, Giatromanolaki A, Koukourakis MI. The vascular network of tumours – what is it not for? *J Pathol* 2003; 201: 173-80.
- Jain RK. Barriers to drug delivery in solid tumors. *Sci Am* 1994; 271: 58-65.
- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70.
- Gimbrone MA Jr, Leapman SB, Cotran RS i wsp. Tumor dormancy in vitro by prevention of neovascularization. *J Exp Med* 1972; 136: 261-76.
- Udagawa T, Fernandez A, Achilles EG i wsp. Persistence of microscopic human cancer in mice: alternation in the angiogenic balance accompanies loss of tumor dormancy. *FASEB J* 2002; 16: 1361-70.
- O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y i wsp. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994; 79: 315-28.
- O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y i wsp. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997; 88: 277-85.
- Verheul HMW, Voest EE, Schlingemann RO. Are tumours angiogenesis-dependent? *J Pathol* 2004; 202: 5-13.
- Kerbel R, Folkman J. Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nature Rev* 2002; 2: 727-39.
- Kerbel RS. Clinical trials of antiangiogenic drugs: opportunities, problems, and assessment of initial results. *J Clin Oncol* 2001; 19: 45-51.
- Davis DW, McConkey DJ, Zhang W i wsp. Antiangiogenic tumor therapy. *BioTechniques* 2003; 34: 1048-63.
- Vieira SC, Zeferino LC, Da Silva BB i wsp. Quantification of angiogenesis in cervical cancer: a comparison among three endothelial cell markers. *Gynecol Oncol* 2004; 93: 121-4.
- Soitropoulou M, Komandolis E, Elsheikh A i wsp. Angiogenic properties of carcinoma in situ and microinvasive carcinoma of the uterine cervix. *Eur J Gynecol Oncol* 2004; 25: 219-21.
- Ozalp S, Yalcin OY, Oner V i wsp. Microvessel density as a prognostic factor in preinvasive and invasive cervical cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 2003; 24: 425-8.
- Cantu De-Leon D, Lopez-Graniel C, Frias-Mendivil M i wsp. Significance of microvascular density (MVD) in cervical cancer recurrence. *Int J Gynecol Cancer* 2003; 13: 856-62.
- Michalski B, Zieliński T, Fila A i wsp. Korelacje aktywności transkrypcyjnej naczyniowo-śródoblukowego czynnika wzrostu (VEGF) i jego receptora (Flt-1, Flk-1) w zmianach śródoblukowych małego stopnia szyjki macicy (LSIL). *Gin Pol* 2003; 74: 805-10.
- Lee JS, Kim HS, Park JT i wsp. 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: 303-11.
- Wei LH, Kuo ML, Chen CA i wsp. Interleukin 6-promotes cervical tumor growth by VEGF-dependent angiogenesis via STAT 3 pathway. *Oncogene* 2003; 22: 1517-27.
- Gaffney DK, Haslam D, Tsodikov A i wsp. Epidermal growth factor receptor (EGFR) and vascular endothelial growth factor (VEGF) negatively affect overall survival in carcinoma of the cervix treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 56: 922-8.
- Wu MP, Tzeng CC, Wu LW i wsp. Thrombospondin-1 acts as a fence to inhibit angiogenesis that occurs during cervical carcinogenesis. *Cancer J* 2004; 10: 27-32.

43. Nezhat F, Wadler S, Muggia F i wsp. Phase II trial of the combination of bryostatatin-1 and cisplatin in advanced or recurrent carcinoma of the cervix: a New York Gynecologic Oncology Group Stud. *Gynecol Oncol* 2004; 93: 144-8.
44. Miyahara Y, Yoshida S, Motoyama S i wsp. Effect of cis-diammine dichloroplatinum on vascular endothelial growth factor expression in uterine cervical carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2004; 25: 33-9.
45. Dunst J, Kuhut T, Strauss H i wsp. Anemia in cervical cancers; impact on survival, patterns of relapse, and association with hypoxia and angiogenesis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 56: 778-87.
46. Mathur RS, Madhur SP. In vitro downregulation of growth factors by insulin-like growth factor binding protein-3 in cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2003; 91: 410-5.

Otrzymano: 14 lutego 2005 r.

Przyjęto do druku: 20 lipca 2005 r.