

Received: 2009.02.05
Accepted: 2009.04.02
Published: 2009.04.17

Mechanizmy angiogenezy nowotworowej*

Mechanisms of cancer angiogenesis

Izabela Sacewicz, Magdalena Wiktorska, Tomasz Wysocki,
Jolanta Niewiarowska

Katedra i Zakład Biofizyki Molekularnej i Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

W początkowej fazie rozwoju guz nowotworowy nie wymaga obecności naczyń krwionośnych. Gdy jednak osiągnie wielkość około 2 mm^3 , tak jak inne tkanki, wymaga dostarczania tlenu i substancji odżywczych. Odbywa się to w wyniku procesu neowaskularyzacji, nazywanego angiogenezą nowotworową. Najszczegółowiej opisanym mechanizmem tworzenia naczyń potomnych jest kiełkowanie komórek śródbłonna. Zachodzi on w 3 etapach, podczas których komórki śródbłonna, po rozszerzeniu naczynia macierzystego i degradacji błony podstawnej macierzy pozakomórkowej, proliferują i migrują tworząc nową szczelinę, która jest jego kontynuacją. Jednocześnie syntetyzują i uwalniają one białka budujące nową błonę podstawną. Ostatnim etapem procesu jest stabilizacja nowo utworzonego naczynia przez oplatające je, proliferujące komórki przydanki.

Innymi mechanizmami neowaskularyzacji nowotworowej są angiogeneza wgłobieniowa i kłębuszkowa. Ponieważ nie wymagają one rekrutacji, proliferacji i migracji komórek śródbłonna, a nakład energetyczny na ich przebieg jest mniejszy zachodzą znacznie szybciej. Występują najczęściej w rakach jelita grubego, żołądka, grasicy i skóry oraz glejakomięsakach wielopostaciowych. Utworzone guzy mogą być również odżywiane przez wbudowywanie do nich naczyń krwionośnych pacjenta oraz – jak to się dzieje w przypadku mimikry – przez wytworzenie pseudonaczyń.

Wszystkie wyżej wymienione procesy nie wykluczają się wzajemnie, a wręcz przeciwnie, w wielu wypadkach są ze sobą ściśle połączone. Efektywne terapie przeciwnowotworowe powinny zatem być skierowane nie tylko na obniżanie aktywności czynników proangiogennych, stosowanych jako tarcza podczas kiełkowania naczyń, ale również obejmować czynniki naczyniowe.

Słowa kluczowe: angiogeneza nowotworowa • neowaskularyzacja

Summary

The early stages of tumor growth are independent of blood vessels. When a tumor reaches a volume of approximately 2 mm^3 , it requires an oxygen and nutrient supply, like other tissues. Satisfaction of the metabolic demands of tumor tissue occurs through neovascularization, which is also called tumor angiogenesis. The best-characterized mechanism of new vessel formation is endothelial cell sprouting. This three-step process involves dilation of a preexisting vessel and basement membrane degradation as well as endothelial cell proliferation and migration, which lead to the restoration of vessel continuity. Eventually, a new vascular basement membrane is deposited and proliferating pericytes are recruited to stabilize the newly formed vessels. Other examples of tumor neovascularization are intussusceptive and glomerular angiogenesis. Since endothelial cell recruitment, proliferation, and migration is not required, they proceed faster and at lower energy.

* Praca finansowana z projektu badawczego własnego nr N N401 1217 33 MNiSW oraz projektu własnego uczelni nr 502-16-650.

tic costs. These types of angiogenesis predominate in the colon, stomach, thymus, and skin cancers as well as gliosarcomas multiforme. Moreover, tumors can also be fed by co-opting host vessels or by forming "pseudovessels" in angiogenesis mimicry. All the processes mentioned in this review are not mutually exclusive; on the contrary, they are closely connected in many cases. Therefore, effective anticancer therapies should not only focus on diminishing the activity of proangiogenic factors targeted during vessel sprouting, but include the great variety of vessel factors.

Key words: cancer angiogenesis • neovascularization

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=883347>

Word count: 4139

Tables: –

Figures: 5

References: 31

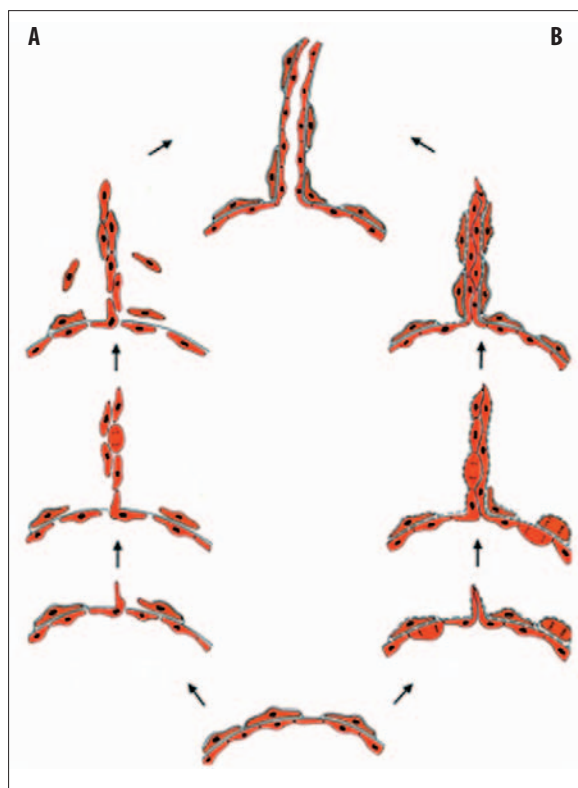
Adres autorki: dr hab. prof. nadzw. Jolanta Niewiarowska, Katedra i Zakład Biofizyki Molekularnej i Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Mazowiecka 6/8, 92-215 Łódź; jolan@zdn.am.lodz.pl

Wykaz skrótów: **Ang-1, -2** – angiopoetyna 1, 2; **bFGF** – zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów; **FGF-2** – czynnik wzrostu fibroblastów typu 2; **BM** – błona podstawna; **BP-3** – białko wiążące 3; **CAM** – błona kosmówkowo-omoczniova kurzych zarodków; **COX-2** – cyklooksygenaza 2; **CXC** – motyw: cysteina, dowolny aminokwas, cysteina; **ECM** – macierz pozakomórkowa; **ECs** – komórki śródbłonka; **EGF** – naskórkowy czynnik wzrostu; **ELR** – motyw: kwas glutaminowy, leucyna, arginina; **ENA-78** – nabłonkowe białko 78 aktywujące neutrofile; **EndoPDI** – śródbłonkowa białkowa izomeraza disiarczkowa; **eNOS** – syntaza tlenu azotu; **EPCs** – prekursorowe komórki śródbłonka; **EPS** – progenitorowe komórki śródbłonka pochodzące ze szpiku kostnego; **ERK $\frac{1}{2}$** – kinazy z grupy kinaz MAP; **FAK** – kinaza procesu ogniskowej adhezji; **FGF** – czynnik wzrostu fibroblastów; **FGF-2** – czynnik wzrostu fibroblastów typu 2; **bFGF** – zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów; **GBs** – ciała kłębuszkowe; **GCP-2** – białko 2 chemotaktyczne granulocytów; **G-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów; **GRO** – α , β , γ – białka α , β i γ powiązane ze wzrostem; **HGF** – czynnik wzrostu hepatocytów; **HIF-1 α** – czynnik wzbudzany hipoksją; **HSC** – hematopoetyczne komórki macierzyste; **IFN- γ** – interferon γ ; **IGF-1** – insulinopodobny czynnik wzrostu; **IL** – interleukina; **IP-10** – białko 10 indukowane przez IFN- γ ; **MAPK** – kinazy aktywowane mitogenami; **Mig** – monokina indukowana przez interferon γ ; **MMPs** – metaloproteazy macierzowe; **MT1-MMP** – metaloproteaza macierzy typu błonowego; **NAP-2** – białko 2 pobudzające neutrofile; **NRP** – neuropilina; **PAI-1** – inhibitor aktywatora plazminogenu; **PDGF-B, -BB** – pochodzący z płytek czynnik wzrostu typu B, typu BB; **PECAM-1** – płytkowo-śródbłonkowe białko adhezyjne 1; **PF-4** – płytkowy czynnik 4; **PIGF** – łożyskowy czynnik wzrostu; **PI3K** – fosfoinozytolo-3 kinaza; **SCF-1** – czynnik 1 komórek pochodzących z podścieliska; **α -SMA** – α aktyna mięśni gładkich; **S1-P** – fosforan sfingozyny; **TEMs** – nowotworowe markery śródbłonkowe; **TEPI-1, -2** – inhibitory krzepnięcia 1, 2; **TGF** – transformujący czynnik wzrostu; **TIMP-2** – inhibitor MMP-2; **TNF- α** – czynnik martwicy nowotworu α ; **tPA** – tkankowy aktywator plazminogenu; **TSP-1** – trombospondyna 1; **uPA** – urokinazowy aktywator plazminogenu; **uPAR** – receptor urokinazowego aktywatora plazminogenu; **(VE)-cadherin** – naczyniowo-śródbłonkowe kadheryny; **VEGF/VPF** – naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu/czynnik przepuszczalności błony; **VSMCs** – komórki mięśni gładkich naczyń.

WSTĘP

Podstawowym warunkiem przeżycia organizmu w czasie ontogenezy jest prawidłowe funkcjonowanie układu krwionośnego, którego głównymi zadaniami są wymiana gazowa oraz transport substancji odżywczych i produktów przemiany materii. Podczas wzrostu i rozwoju embrionu powstanie uformowanej sieci naczyń krwionośnych

jest jednym z najwcześniejszych procesów organogenezy, umożliwiającym dostarczenie czynników troficznych niezbędnych do dalszej morfogenezy. W okresie płodowym podstawowy spłot naczyniowy (primary vascular plexus) formowany jest *de novo* w procesie zwanym waskulogenezą. Polega on na różnicowaniu się, migracji i proliferacji angioblastów – prekursorowych komórek śródbłonka (endothelial precursor cells – EPCs), budujących naczynia.



Ryc. 1. Schemat kiełkowania komórek śródbłonka; **A** – model proponowany przez Ausprunka i Folkmana; **B** – przez Paku i Paweletzę (opis w tekście) (wg [7,15] – zmodyfikowano)

Komórki te powstają w obrębie wysp krwionośnych woreczka żółtkowego z hemangioblastów, wywodzących się z trzeciego listka zarodkowego – mezodermy [5,27]. By zwiększyć wydajność transportu krwi w rozwijającym się zarodku istniejąca, jednolita sieć naczyniowa podlega rozrostowi, reorganizacji i dojrzewaniu w procesie angiogenezy (neowaskularyzacji) [1]. Nowa sieć naczyń włosowatych (capillary mesh) powstawać może w procesie kiełkowania z już istniejących (sprouting) lub w wyniku wgłobienia do światła naczyń kolumn utworzonych z tkanki śródmiąższowej (intussusceptive growth) [16]. Kolejnym etapem jest dojrzewanie włosniczek z udziałem komórek okalających ściany naczyń: przydatki (perycytów) i mięśni gładkich (vascular smooth muscle cells – VSMCs).

W okresie pozapłodowym przebudowa układu naczyniowego rozpoczyna się, gdy aktywność czynników proangiogennych jest wyższa niż antyangiogennych (angiogenic switch) [1]. W warunkach fizjologicznych neowaskularyzacja zachodzi w trakcie cyklu miesięcznego kobiet (dojrzewanie pęcherzyków i ciała żółtego, zmiany unaczynienia słuźówki macicy) i jest niezbędna do implantacji zarodka oraz rozwoju łożyska. Proces ten występuje również w krezce jelita, podczas gojenia się ran i w mięśniach osób uprawiających czynnie sport [30]. W stanach patologicznych dochodzi do zachwiania równowagi między czynnikami stymulującymi i hamującymi angiogenezę [10]. Sprzyjają jej przewlekły stan zapalny i niedotlenienie. Neowaskularyzację obserwujemy zatem w astmie, reumatoidalnym zapaleniu stawów, łuszczycy, chorobie Crohna, retinopatii cukrzycowej, a także w endometriozie i otyło-

ści. Jednak najbardziej zmienną rolę angiogeneza odgrywa w procesie nowotworzenia.

Guz nowotworowy w początkowej fazie rozwoju pobiera tlen i substancje odżywcze z krwi w wyniku dyfuzji. Gdy jego objętość przekroczy 1–2 mm³, uzyskiwanie niezbędnych substancji tą drogą jest niewystarczające. Środowisko, w którym się on rozwija ulega hipoksji i zakwaszeniu na skutek nadmiaru produktów przemiany materii. Oba zjawiska prowadzą do obumarcia guza. Komórki nowotworowe zapobiegają temu i wraz z komórkami gospodarza stymulują rozwój własnych naczyń krwionośnych, z wykorzystaniem różnych mechanizmów angiogenezy [13].

1. „KIEŁKOWANIE” KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA (ENDOTHELIAL SPROUTING)

Jest to najlepiej poznany mechanizm powstawania naczyń krwionośnych. Polega on na wzroście i rozgałęzieniu się (branching) istniejących naczyń w kierunku strefy awaskularnej [9]. Jego wstępny model, promowany przez tkankę nowotworową, zaproponowali w 1977 r. Ausprunk i Folkman (ryc. 1A) [2].

W pierwszym etapie błona podstawna ulega miejscowej degradacji od strony rozszerzonej żyłki, która otacza nowotwór i znajduje się w pobliżu czynnika proangiogenne- go. Powoduje to osłabienie połączeń między komórkami śródbłonka i ich przemieszczanie do tkanki łącznej, w kierunku tego czynnika. Następnie komórki łączą się dwubiegunowo w lity sznur, który wykrzywia się, tworząc światło naczynia. Ostatnim etapem neowaskularyzacji jest synteza nowej błony podstawnej i oplecenie naczynia przez perycyty i komórki nieśródnabłonkowe.

W powyższym modelu, niestety, nie zidentyfikowano czynników odpowiedzialnych za powstawanie światła naczynia oraz nie uwzględniono odróżnicowania i ponownego różnicowania komórek podczas utraty i odzyskiwania polarności między światłem naczynia a błoną podstawną. Co więcej, chociaż zakłada się, że czynniki niezbędne do tworzenia światła naczynia pochodzą z błony podstawnej, to jej budowanie zachodzi dopiero po powstaniu lumenu.

Na początku lat 90. ub.w. Paku i wsp. opisali zmodyfikowaną wersję powyższego modelu (ryc. 1B) [17]. W pierwszym etapie procesu angiogenezy nowotworowej dochodzi do rozszerzenia naczynia macierzystego, co przyczynia się do zmniejszenia gęstości błony podstawnej. Prowadzi to do jej częściowej degradacji w miejscu połączenia z ECs i uwypuklenia komórek do tkanki łącznej, w której migrują równolegle, utrzymując polaryzację błona podstawna – światło naczynia. Utworzona nowa szczelina, będąca przedłużeniem światła naczynia macierzystego, jest bardzo szczelna ze względu na nie naruszone połączenia międzykomórkowe. Spolaryzowane komórki śródbłonka, z wyjątkiem szczytowej części kiełkującego naczynia, uwalniają jednocześnie białka, które budują nową błonę podstawną. Ostatnim etapem procesu jest stabilizacja nowo powstałego naczynia, zachodząca w wyniku przemieszczania się (po tworzonej błonie podstawnej) proliferujących komórek przydatki macierzystego naczynia – od miejsca pączkowania w kierunku końca powstającej kapilary.

W zaproponowanym modelu angiogenezy nowotworowej komórki śródbłonka podczas całego procesu nie tracą polarności i dlatego też nie są wymagane żadne czynniki odpowiedzialne za tworzenie światła naczynia.

Czynniki aktywujące i inicjujące proces neowaskularyzacji mogą być pochodzenia endokrynnego (z układu krążenia), parakrynnego (z przyległych komórek nowotworowych, podścieliska, macierzy pozakomórkowej czy makrofagów) oraz autokrynnego (z samych komórek śródbłonka) [27]. Po ich połączeniu ze swoistymi receptorami znajdującymi się na powierzchni ECs dochodzi do lokalnej przebudowy macierzy pozakomórkowej (extracellular matrix – ECM) i zmian w strukturze błony podstawnej (basement membrane – BM), w której biorą udział proteazy.

1.1. Czynniki inicjujące kiełkowanie naczyń

Stres metaboliczny towarzyszący rozwojowi tkanki nowotworowej, np. hipoksja i kwasica, powoduje nadekspresję w komórkach nowotworowych czynnika wzbudzanego hipoksją – HIF-1 α (hypoxia-induced factor-1 α). Indukuje on i w nich, i w komórkach śródbłonka transkrypcję kolejnych czynników proangiogennych: pochodzącego z płytek czynnika wzrostu B (platelet-derived growth factor, type B – PDGF-B), czynnika wzrostu hepatocytów (hepatocyte growth factor – HGF) [10], angiopoietyny 2 (angiopoietin-2 – Ang-2), naskórkowego czynnika wzrostu (epidermal growth factor – EGF), łożyskowego czynnika wzrostu (placental growth factor – PlGF) oraz naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor – VEGF/VPF), który jest głównym stymulatorem neowaskularyzacji.

HIF-1 α stymuluje także ekspresję syntazy tlenu azotu eNOS (endothelial nitric oxide synthase), która – rozkładając argininę – uwalnia NO rozszerzający naczynia krwionośne i stymulujący syntezę VEGF. Powoduje to dalsze zwiększenie przepuszczalności naczyń i redystrybucję międzykomórkowych białek adhezyjnych, np. płytkowo-śródbłonkowego białka adhezyjnego 1 (platelet endothelial cell adhesion molecule-1 – PECAM-1) czy naczyniowo-śródbłonkowej (VE)-kadheryny (vascular endothelial cadherin – (VE)-cadherin). VEGF, zwiększając przepuszczalność błony naczyń, przyczynia się do wynacznienia białek osocza, m.in. fibrynogenu [18]. Powstałe tymczasowe struktury macierzowe umożliwiają migrację, w którą zaangażowany jest receptor fibrynogenu, integryna $\alpha_v\beta_3$. Zbyt duża przepuszczalność naczyń spowodować może lokalne uszkodzenie tkanki, dlatego proces ten jest kontrolowany przez angiopoietynę 1 (angiopoietin-1 – Ang-1), będącą ligandem śródbłonkowego receptora Tie-2. Oprócz tego Ang-1 stymuluje uwalnianie przez komórki śródbłonka MMP-2 oraz proteazy serynowe biorące udział w przekształcaniu plazminogenu do plazminy. MMP-2 oddziałując z integryną $\alpha_v\beta_1$ przyczynia się – przez uruchomienie szlaku kinaz aktywowanych mitogenami (mitogen-activated protein kinases – MAPK) – do proliferacji i migracji ECs [10].

Enzymy, trawiąc białka błony podstawnej i macierzy pozakomórkowej, umożliwiają nie tylko migrację ECs, ale także uwalniają wiele czynników proangiogennych, np. należących do rodziny czynników wzrostu fibroblastów (fi-

broblast growth factor – FGF), rodziny białek VEGF oraz insulinopodobnego czynnika wzrostu (insulin-like growth factor-1 – IGF-1). FGF, który wytwarzany jest również przez same komórki nowotworowe i makrofagi, odpowiada za różnicowanie, proliferację ECs, degradację ECM oraz kontrolę połączeń międzykomórkowych. Chroni on także komórki przed apoptozą wywołaną niedoborem substancji odżywczych [13].

W degradacji ECM uczestniczy ponad 20 metaloproteaz macierzowych (matrix metalloproteinases – MMPs) i aktywatory plazminogenu, tPA i uPA (tissue plasminogen activator i urokinase plasminogen activator). Wykazano, że supresja Ang-1 i inhibitora MMP-2, TIMP-2 (tissue-localized inhibitors of metalloproteinase-2 – TIMP-2) oraz podwyższona synteza MMP-2, -3 i -9 stymuluje kiełkowanie komórek śródbłonka [5]. Proces ten pośrednio zależy również od wydzielanej przez komórki nowotworowe MMP-7, która wzmacnia ekspresję VEGF w fibroblastach.

Komórki nowotworowe zmieniają swój fenotyp na proangiogenny w wyniku mutacji aktywujących onkogeny eg (endothelial-derived gene), src i ras lub inaktywacji genów supresorowych, p53 oraz vHL (von Hippel-Lindau) [27,29]. Mutacja genu ras prowadzi do nadekspresji VEGF, z kolei utrata genu supresorowego p53 zwiększa ekspresję HIF-1 α i zmniejsza syntezę inhibitora angiogenezy, trombospodiny 1 (thrombospondin-1 – TSP-1). Ponadto zmiana profilu ekspresji genu supresorowego aktywuje syntezę białek indukowanych hipoksją oraz wywołuje nadekspresję VEGF [24,27].

1.2. Czynniki aktywujące migrację kiełkujących komórek śródbłonka

Rozwojowi guza towarzyszą procesy zapalne, podczas których tak leukocyty, jak i same komórki nowotworowe syntetyzują, oprócz TNF α , transformującego czynnika wzrostu (transforming growth factor – TGF), czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów (granulocyte colony-stimulating factor – G-CSF) i zasadowego czynnika wzrostu fibroblastów (basic fibroblast growth factor – bFGF lub FGF-2) wiele cytokin oraz ich receptory. Uważa się, że cytokiny z rodziny CXC (z motywem ELR, ELR⁺ (kwas glutaminowy, leucyna, arginina)) indukują migrację i proliferację komórek śródbłonka. Do grupy tej należą interleukina 8 (IL-8), nabłonkowe białko 78 aktywujące neutrofile (epithelial-derived neutrophil-activating protein-78 – ENA-78), białka α , β i γ powiązane ze wzrostem (growth-related protein- α , β , γ GRO- α , β , γ), białko 2 chemotaktyczne granulocytów (granulocyte chemotactic protein-2 – GCP-2) oraz białko 2 pobudzające neutrofile (neutrophil-activating protein-2 – NAP-2) [8,31]. Do czynników pobudzających migrację należy również VEGF, który przyspiesza proliferację komórek oraz chroni je przed apoptozą wzbudzaną czynnikami zewnątrzkomórkowymi, takimi jak: czynnik martwicy nowotworu α (tumor necrosis factor- α – TNF- α) i interferon γ (IFN- γ) [8].

Aktywowane przez ww. czynniki wzrostu komórki śródbłonka zaczynają migrować, gdy białka błony podstawnej i macierzy pozakomórkowej otaczające śródbłonek zostaną lokalnie zdegradowane przez proteazy. Niektóre komórki śródbłonka, zwane komórkami szczytowymi (tip cells),

wyznaczają kierunek wzrostu kiełkującego odgałęzienia naczynia. Stwierdzono w nich (w przeciwieństwie do pozostałych, sąsiednich ECs) zahamowanie szlaku sygnałowego receptora Notch i zwiększoną ekspresję jego liganda DLL4 (delta-like-4 ligand). Wzrost syntezy DLL4 spowodowany jest utworzeniem kompleksu VEGF-A z jego receptorem VEGFR-2. Wykazano, że komórki szczytowe, w odpowiedzi na VEGF-A₁₆₅, tworzą i wydłużają filopodia (przy czym jego gradient wyznacza kierunek migracji), natomiast obecność VEGF-A₁₂₁ stymuluje proliferację pozostałych ECs w nowo powstałej wypustce naczynia. Powstawanie filopodiów może być również stymulowane przez wiązanie się z VEGF-A₁₆₅ transbłonowych receptorów semaforyn – neuropilin (neuropilin – NRP) [1].

W procesie migracji główną rolę odgrywają receptory integrynowe, takie jak: $\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_3\beta_1$, $\alpha_3\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$ i $\alpha_v\beta_5$. VEGF wzmacnia ekspresję integryny $\alpha_v\beta_3$ na linii czołowej kiełkującej kapilary, a bFGF, TNF- α i IL-8 indukują syntezę receptora $\alpha_5\beta_1$ [24]. Podczas migracji ma również znaczenie oddziaływanie integryn z proteazami, np. tworzenie kompleksu integryny $\alpha_3\beta_1$ z urokinazowym aktywatorem plazminogenu i jego receptorem (urokinase plasminogen activator/urokinase plasminogen activator receptor – uPA/uPAR) lub $\alpha_v\beta_3$ z MMP-2 [25]. Wykazano, że trawienie białek błony podstawnej może nie tylko stymulować, ale także hamować ten proces. Niezdegradowany kolagen typu IV wiąże się z $\alpha_1\beta_1$ oraz $\alpha_2\beta_1$, co wzmacnia proliferację i przemieszczanie się komórek śródbłonka, natomiast zdegradowany – łączy się z integryną $\alpha_v\beta_3$ dając przeciwny efekt [14].

1.3. Czynniki stabilizujące naczynie

Ostatni etap angiogenezy nowotworowej obejmuje dojrzewanie nowo powstałego naczynia. Mechaniczny stres, towarzyszący przemieszczającym się komórkom śródbłonka, aktywuje PDGF-B, który bierze udział w stabilizacji naczynia. Stymuluje on migrację komórek przydanki oraz VSMCs, a te z kolei hamują proliferację i ruch ECs [24]. Zmniejszenie przepuszczalności naczyń i stymulacja oddziaływań między ECs i perycytami odbywa się dzięki Ang-1, TGF- β i fosforanowi sfingozyny (sphingosine-1 phosphate – S1-P) [5,10,16]. Z kolei w tworzeniu światła naczynia biorą udział (VE)-kadheryna i koneksyny, które utrzymują połączenia między komórkami śródbłonka [1,6].

1.4. Inhibitory kiełkowania naczyń

Podczas rozwoju guza do środowiska wydzielane są nie tylko czynniki pobudzające proces tworzenia naczyń krwionośnych, ale także związki go hamujące. Prócz wspomnianej wcześniej trombospondyny 1 i TIMPs należy do nich angiostatyna (będąca wewnętrznym fragmentem plazminogenu), endostatyna (stanowiąca C-terminalny fragment kolagenu XVIII) – łącząca się z integrynami $\alpha_3\beta_1$ i $\alpha_v\beta_3$ oraz inhibitor bFGF – troponina I [31]. Kolejnymi inhibitorami są: arrestyna (arrestin) (łącząca się z $\alpha_1\beta_1$), kanstatyna (canstatin) (- z $\alpha_v\beta_3$ i $\alpha_3\beta_1$) oraz tumstatyna (tumstatin) (- z $\alpha_v\beta_3$ i $\alpha_6\beta_1$) [14]. W uwalnianiu endogennych inhibitorów angiogenezy biorą udział metaloproteazy. Na przykład MMP-7 i -9 generują angiostatynę, MMP-2 i -9 aktywują trombospondynę 1, a MMP-1 i -3, zaburzając oddziaływanie MMP-2 z integryną $\alpha_v\beta_3$, hamują neowa-

skularyzację. Inhibitor aktywatora plazminogenu (plasminogen activator inhibitor-1 – PAI-1) znosi proangiogenne działanie uPA [5]. Omawiany proces hamują również chemokiny bez motywu ELR, ELR-, np. płytkowy czynnik 4 (platelet factor-4 – PF-4), monokina indukowana przez interferon γ (monokine induced by IFN- γ – Mig) oraz białko 10, indukowane przez IFN γ (IFN- γ inducible protein-10 – IP-10). Podobne działanie wykazują IL-10 – zmniejszająca syntezę VEGF, TNF- α i MMP-9 – oraz IL-12 i -18 – zwiększające ekspresję IFN- γ i IP-10 [8,31].

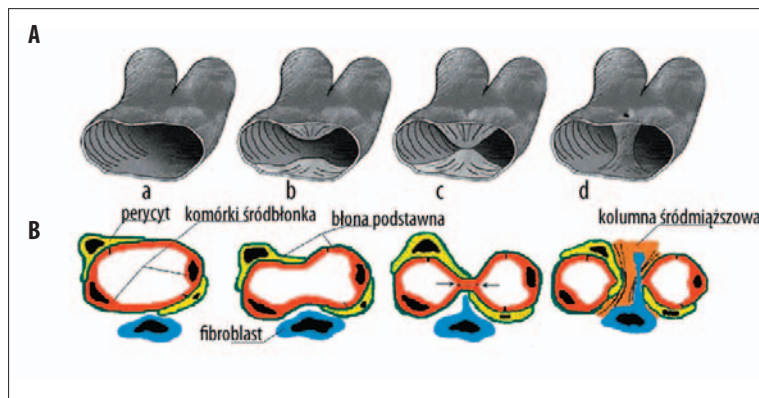
1.5. Udział komórek macierzystych i progenitorowych w angiogenezie nowotworowej

Czynniki angiogenne uwalniane przez komórki nowotworowe mogą się przyłączać do pochodzących ze szpiku kostnego progenitorowych komórek śródbłonka (bone marrow-derived circulating endothelial progenitor cells – EPS) (mających na powierzchni receptory VEGFR-2, Tie-2, CD31 i CD34) oraz hematopoetycznych komórek macierzystych (hematopoietic stem cells – HSC) z receptorem VEGFR-1 [10]. W wyniku różnicowania się lub fuzji komórki macierzyste, które kooperują z VEGFR2⁺ komórek progenitorowych nabywają cech komórek śródbłonka [8]. Udział EPCs w budowie naczyń krwionośnych w stanach nowotworowych zależy od rodzaju guza. W raku piersi jest znamienny, podczas gdy w raku żołądka czy glejakach – niewielki. EPCs uwalniane są ze szpiku kostnego do krwiobiegu w wyniku działania MMP-9, Ang-1, G-CSF, czynnika 1 komórek pochodzących z podścieliska (stroma cell-derived factor-1 – SCF-1) oraz innych białek związanych z hipoksją. Wykazano, że EPCs mają zdolność migracji do miejsca, w którym tworzone są naczynia i różnicowania się do komórek śródbłonka *in situ* [19,20,21]. Pozyskiwanie komórek progenitorowych jest procesem złożonym z następujących etapów: 1) chemoatrakcja do VEGF i PlGF; 2) unieruchomienie w obrębie guza; 3) migracja do przestrzeni śródmiąższowej z udziałem selektyny i integryn; 4) inkorporacja do powstających naczyń [13].

1.6. Fenotyp naczyń nowotworowych

Tkanka nowotworowa łatwo ulega hipoksji i nekrozie z powodu zachodzących intensywnie procesów proliferacji i niewystarczającego dostarczenia przez krew składników odżywczych. Oprócz tego, wskutek braku równowagi w działaniu czynników pro- i antyangiogennych – z przewagą stymulatorów, klasyczny układ tętniczek, żyłek i naczyń włosowatych ulega zaburzeniu. Powstaje chaotyczny układ silnie poskręcanych, o zmiennej średnicy naczyń z nieregularnymi odgałęzieniami [24]. Przylega do nich mniej perycytów, a efektem podwyższonej aktywności proteolitycznej jest zwiększona przepuszczalność ich ścian i wylew krwi do tkanki [8,24].

Zmianie ulega również część komórek śródbłonka. Ich jądro staje się duże i aneuploidalne. Charakteryzuje je wysoka aktywność szlaku MAPK, kinazy białkowej C i aktywacja białka Akt, promującego ich przeżycie [8]. Ponadto występują na ich powierzchni własne nowotworowe markery śródbłonkowe (tumor endothelial markers – TEMs), CD105, endogliny i śródbłonkowa białkowa izomeraza disiarczkowa (endothelial protein-disulfide isomerase – EndoPDI).



Ryc. 2. Trójwymiarowy (A) i dwuwymiarowy (B) schemat angiogenezy wgłobieniowej (opis w tekście) (wg [4] – zmodyfikowano)

Nowotworowe komórki śródbłonna mogą powstawać na skutek:

- 1) transdiferencjowania się komórek progenitorowych, np. krwiotwórczych do komórek nowotworowych lub śródbłonna;
- 2) odróżnicowywania się komórek nowotworowych do komórek śródbłonna;
- 3) oddziaływania środowiska, w którym wzrasta guz, powodującego genetyczną niestabilność komórek nowotworowych i EPCs;
- 4) fuzji komórek nowotworowych z EPCs;
- 5) pobierania przez EPCs – za pomocą fagocytozy ciałek apoptotycznych – onkogenów [12].

2. ANGIOGENEZA WGŁOBIONIOWA (INTUSSUSCEPTIVE ANGIOGENESIS)

Jest to proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych poprzez wpuklanie tkanki łącznej – tworzącej tzw. kolumny tkankowe (tissue pillars) – do wnętrza już istniejących naczyń. Jego mechanizm, opisany po raz pierwszy w latach 80. ubiegłego stulecia, obejmował przebudowę sieci naczyń płucnych w życiu postnatalnym. Doświadczenia przeprowadzone w błonie kosmówkowo-omoczniowej kurzych zarodków (chorioallantoic membrane – CAM) oraz w ksenograftach raka jelita grubego, czerniaku czy raku piersi wykazały, że wzrost naczyń kapilarnych w wyniku wgłobienia jest procesem szybszym i energetycznie oszczędniejszym niż kiełkowanie. Ponieważ na początku nie jest on zależny od rekrutacji, podziału i inwazji ECs oraz degradacji błony podstawnej może trwać tylko kilka godzin, a nawet minut. Zachodzi on tylko w obrębie już istniejącej sieci naczyniowej, powstałej w procesie waskulogenezy i/lub angiogenezy, której – dzięki rozbudowie i ekspansji – wzrasta złożoność i gęstość [7].

Wgłobienie rozpoczyna się od zwiększenia rozmiarów naczynia macierzystego, przez co ECs wydłużają się i stają cieńsze (ryc. 2A). Następnie komórki śródbłonna, położone symetrycznie na przeciwległych ścianach naczynia, tworzą powiększające się wpuklenia (ryc. 2B), które kontaktują się z błonami w miejscu zwanym „kissing contacts” (ryc. 2C).

W kolejnym etapie ECs łączą się z komórkami przeciwległej ściany naczynia. Zachodząca perforacja błony komórkowej i reorganizacja połączeń międzykomórkowych umożliwia odkładanie się tkanki śródmiąższowej między

dwuwarstwą komórek śródbłonna. Rozrastaniu kolumny towarzyszy przemieszczanie się perycytów i miofibroblastów, wytwarzających włókna kolagenowe (ryc. 2D). Podobne fizjologiczne zjawisko występuje podczas tworzenia otworów międzypęcherzykowych płuc [13].

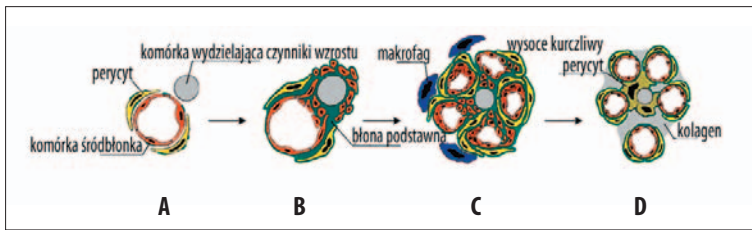
Kolumny śródmiąższowe również mogą formować się w wyniku:

- „peg-like contacts” – model ten różni się od opisanego powyżej tym, że jest asymetryczny i wypukłość formowana jest tylko przez jedną ścianę naczynia, a stopniowy wzrost przegrody prowadzi do jej „zahaczenia” o przeciwległą ścianę naczynia;
- „meso-like intraluminal folds” – asymetryczne wpuklenie światła naczynia powoduje powstanie cienkiej fałdy, w której dwuwarstwa ECs rozdzielona jest przez włókna tkanki łącznej („meso-like”). Jej przerwanie przyczynia się do formowania kolumn wewnątrz światła naczynia;
- „merging of adjacent capillaries” – kolumny, często o wydłużonym kształcie, powstają w wyniku łączenia (w dowolnych miejscach) ścian sąsiadujących ze sobą naczyń krwionośnych;
- „splitting of intercapillary meshes” – niewielka międzynaczyniowa kolumna powstaje w wyniku odcięcia jej od pierwotnej [4,23].

Powyższy opis dotyczy mechanizmów wgłobienia zależnego od tkanki śródmiąższowej (interstitium-dependent intussusception). Dekompozycja naczynia może nastąpić również w wyniku podziału jego światła przez tworzenie mostków między komórkami śródbłonna (endothelium-dependent intussusception) [4]. Wówczas kolumny tkanki śródmiąższowej są wbudowywane między nowe naczynia potomne.

2.1. Czynniki uczestniczące w angiogenezie wgłobieniowej

Mechanizm inicjujący angiogenezę wgłobieniową nie jest do końca poznany. Być może miejscowy bodziec, jakim jest np. wewnątrznaczyniowe naprężenie ścinające, wywołuje kaskadę fizjologicznych i patologicznych reakcji w komórkach śródbłonna, które prowadzą m.in. do utworzenia kolumn śródmiąższowych. Do wgłobienia na pewno przyczyniają się niektóre cytokiny, zwłaszcza te, które pośredniczą w przekazywaniu informacji między ECs i komórkami nieśródbłonnymi: PDGF-BB, angiopo-



Ryc. 3. Schemat przebiegu angiogenezy kłębuszkowej. Na skutek wydzielania przez komórkę sąsiadującą z naczyniem krwionośnym czynnika wzrostu VEGF dochodzi do rozluźnienia struktury pierwotnego naczynia krwionośnego z jednoczesną degradacją błony podstawnej (A). Komórki śródbłonna proliferują oraz migrują w kierunku źródła czynników wzrostu. Zjawisku towarzyszy intensywne uwalnianie białek błony podstawnej (B). Komórki śródbłonna, które tworzą światło nowych naczyń krwionośnych zostają otoczone przez perycyty, a w ich sąsiedztwie pojawiają się makrofagi (C). Nowo utworzone naczynia krwionośne oddalają się od siebie, lecz nadal są połączone w grupę przez wysocę kurczliwy perycyt (D) (wg [26] – zmodyfikowano)

etyny i ich receptory Tie, TGF- β , chemotaktyczne białko 1 monocytów oraz efryny i ich receptory, Eph-B. Zmiany w wewnątrznaczyniowym naprężeniu ścinającym mogą być odbierane przez komórki śródbłonna i przekazywane do ich wnętrza przez antygen CD31, czego następstwem jest wzrost ekspresji ww. czynników angiogennych, białek adhezyjnych oraz eNOS [13].

3. ANGIOGENEZA KŁĘBUSZKOWA (GLOMERULOID ANGIOGENESIS)

W tym procesie neowaskularyzacji powstają kanały naczyniowe, uformowane w struktury przypominające kępi, które wyścielane są komórkami śródbłonna i otoczone różnej grubości błoną podstawną oraz nieciągłą warstwą komórek przydanki [3,7]. Nazywane są one ciałkami kłębuszkowymi (glomeruloid bodies – GBs) i występują w glejakomięsakach wielopostaciowych, rzadziej w rakach żołądka, jelita, grasicy i skóry [26]. Ich obecność źle rokuje pacjentom [7].

GBs są tworzone z naczyń macierzystego, które pod wpływem VEGF zwiększa rozmiar. Jego ściana staje się cienka i skąpo otoczona niedzielnymi się komórkami przydanki. Naczynie to - osadzone w środowisku bogatym w włókniak i białka płynu wysiękowego – ma rozmiar tętniczki [18] (ryc. 3A). W warunkach doświadczalnych *in vivo* ciała kłębuszkowe są widoczne w obrębie naczynia macierzystego, w pobliżu komórki uwalniającej VEGF, np. nowotworowej, już po 3 dniach. Tworzą skupisko szybko namnażających się, rozrastających do wnętrza i na zewnątrz komórek śródbłonna, które skierowane jest do tkanki łącznej otaczającej naczynie. Błona podstawna jest miejscowo trawiona, a perycyty występują tylko na peryferiach tworzącej się struktury (ryc. 3B). ECs wrastające w światło naczyń macierzystego dzielą je na mniejsze, liczniejsze kanały, co utrudnia, a czasami nawet uniemożliwia przepływ krwi. Po około 7 dniach na brzegach struktury pojawiają się makrofagi, których rola w tym procesie nie jest jeszcze poznana. W miarę obniżenia poziomu VEGF rozpoczyna się reorganizacja struktury – komórki przydanki dzielą ją na mniejsze klastry, a część ECs, makrofagów i perycytów – w wyniku parakrynnego oddziaływania między sobą – ulega apoptozie, przy czym apoptoza ECs spowodowana jest brakiem ich osłony przez komórki przydanki [3] (ryc. 3C).

Końcowym etapem angiogenezy kłębuszkowej jest rozdzielenie i zwiększenie dystansu między naczyniami potomnymi. Odpowiedzialne są za to komórki przydanki o fenotypie kurczliwym: z ekspresją α -aktyny mięśni gładkich (α -smooth muscle actin – α -SMA) i γ -aktyny. Odbudowywana jest również błona podstawna, a przemieszczające się – w odpowiedzi na wydzielany przez ECs PDGF-BB i/lub VEGF – perycyty odkładają białka tworzące ECM. Przypuszcza

się, że ich migrację w warunkach hipoksji wywołuje sam VEGF, który oddziałuje z makrofagami lub komórkami mięśni gładkich [26] (ryc. 3D).

Powyższy opis dotyczy aktywnej postaci kłębuszkowej angiogenezy. Niektórzy badacze uważają jednak, że ciała kłębuszkowe tworzone są w obrębie nowotworu w sposób pasywny – poprzez gromadzenie istniejących naczyń kapilarnych oraz przyległych do nich odgałęzień, po czym następuje ich przebudowa i formowanie naczyń potomnych [7].

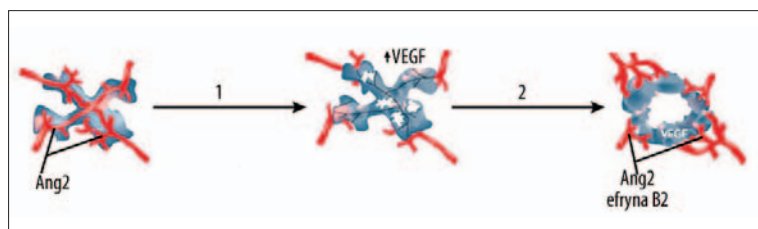
3.1. Czynniki regulujące

Na proces „kłębuszkowej” angiogenezy, poza VEGF i PDGF-BB, mają wpływ Ang-1 i jej receptor Tie-2 oraz – w stabilizacji i późniejszym różnicowaniu się naczyń – efryna B2 (ephrin-B2) [3].

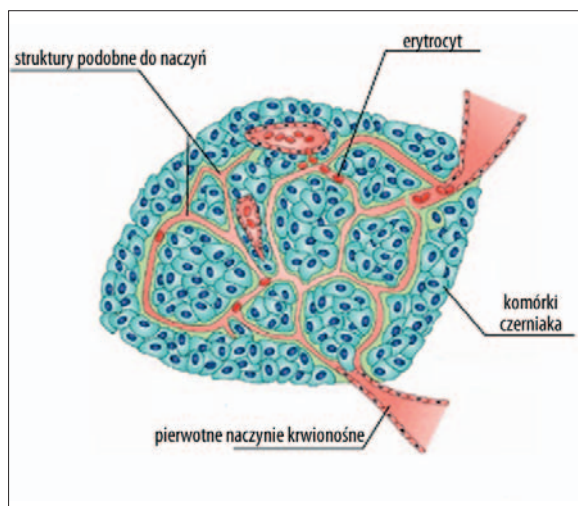
4. WBUDOWYWANIE NACZYŃ KRWIONOŚNYCH GOSPODARZA (VESSEL CO-OPTION)

Na podstawie licznych obserwacji przyjęto, że chociaż początkowo rozwój guza odbywa się bez udziału naczyń krwionośnych, to do jego dalszego rozrostu wymagana jest neowaskularyzacja. Jednocześnie wykazano, że w dobrze ukrwionych organach, np. mózgu, płucach i wątrobie, nowotwory nie rozwijają własnej sieci naczyń, lecz korzystają z już istniejącej. Ten rodzaj angiogenezy nowotworowej, opisywany od lat 90. XX wieku, nazywany jest wbudowywaniem naczyń krwionośnych gospodarza do guza.

Powyższy proces – zaobserwowany w raku płuc, we wtórnych ogniskach nowotworowych w węzłach chłonnych, przerzutach komórek nowotworowych raka jelita grubego w wątrobie oraz w glejakach – zwiastuje złe rokowania dla pacjenta [7]. Wykazano, że we wtórnych ogniskach nowotworowych komórki śródbłonna dzielą się w mniejszym stopniu niż w pierwotnych, a więc wzrost guza nie odbywa się w oparciu o klasyczny model angiogenezy [22]. Mimo braku zwiększonej ekspresji czynników wzrostu (poziom Ang-1 nie zmienia się) już w drugim tygodniu glejak o małych rozmiarach jest bardzo dobrze unaczyniony. W czwartym tygodniu dochodzi do regresji naczyń i śmierci komórek je otaczających, co jest mechanizmem obron-



Ryc. 4. Wbudowywanie naczyń krwionośnych gospodarza do guza. 1) Komórki śródbłonna naczyń krwionośnych wbudowanego do guza wydzielają Ang-2, która jest destabilizująca i powoduje zanik naczyń; 2) Zaistniała hipoksja stymuluje komórki nowotworowe do wytwarzania VEGF, który inicjuje proces kiełkowania nowych naczyń (wg [28] – zmodyfikowano)



Ryc. 5. Przekrój poprzeczny przez czerniaka z widocznymi pseudonaczymi przewodzącymi płyn, zbudowanymi z białek macierzy pozakomórkowej, głównie lamininy. Pierwotne naczynie krwionośne sąsiaduje bezpośrednio z nimi (wg [11] – zmodyfikowano)

nym organizmu [13]. Na tym etapie apoptoza jest wzbudzana w wyniku autokrynnego działania Ang-2, która – przy braku ekspresji VEGF – powoduje destabilizację naczyń i uniemożliwia ich dojrzewanie. Dlatego też awaskularny i niedotleniony guz rozpoczyna syntezę VEGF, co inicjuje kiełkowanie nowych naczyń i zapobiega obumieraniu guza [3, 28] (ryc. 4).

5. MIMIKRA NACZYNIOWA (VASCULOGENIC MIMICRY)

Jest to unikatowa zdolność komórek nowotworów złośliwych do ekspresji fenotypu ECs i formowania struktur podobnych do naczyń. Pojęcie to wprowadzono w 1999 r. w celu podkreślenia, że ich tworzenie zachodzi *de novo*, bez udziału ECs, oraz że płyny mogą być transportowane bez neowaskularyzacji [15].

Pierwotnie zjawisko to opisano w czerniaku, gdzie zaobserwowano istnienie wyściełanej lamininą sieci, która przynosi płyny (ryc. 5).

Występuje ono również w raku błony naczyniowej oka (obecność cyst i jam wypełnionych krwią), skóry i jamy ustnej, raku piersi, gruczołu krokowego, jajników, pęcherza moczowego, mięśniakomięsaku prądkowanym, wątrobowo-komórkowym kostniakomięsaku i gwiaździaku. Mimikra naczyniowa w nowotworach złośliwych koreluje z wysoką śmiertelnością wśród pacjentów, ponieważ zapewniając wymianę substancji odżywczych zapobiega

nekrozie komórek nowotworów złośliwych. Analizy immunohistopatologiczne guzów raka jelita grubego wykazały, że 15% istniejących naczyń – przy zachowaniu ich ciągłości – nie wybarwia się markerami komórek śródbłonna: CD31 i CD105 sugerując, że mogą być utworzone również z innych komórek [22].

Przypuszcza się, że zjawisko mimikry może być promowane niedotlenieniem tkanki nowotworu. Ponieważ bFGF, VEGF, TGF- β , PDGF, TNF- α i endostatyna nie mają wpływu na omawiany proces uważa się, że jest on niezależny od szlaków omawianych w klasycznych modelach angiogenezy [13,22].

5.1. Zmiana profilu białek komórek nowotworowych

Analiza genów komórek agresywnych i łagodnych nowotworów skóry i jamy ustnej wykazała ich jednoczesną zdolność do ekspresji genów komórek śródbłonna, przydatki i fibroblastów [7]. Mogą się one odróżnicowywać, by uzyskać embrionalny fenotyp komórek pluripotencjalnych [22]. Etiologia omawianego zjawiska nie jest znana. Można przypuszczać, że przyczyna leży w silnym rozregulowaniu profilu białek komórek nowotworowych. Zaobserwowano zwiększoną ekspresją IGF, proteaz MMP-1, -2, -9 i błonowej MT1-MMP, cyklooksygenazy 2 (cyclooxygenase-2 – COX-2), białka wiążącego 3 (binding protein-3 – BP-3), efryny A, (VE)-kadheryny, CD34, neuropiliny 1, E-selektyny, endoglin oraz fibronektyny, kolagenów IV i I, jak i łańcucha 5 γ 2 lamininy. Ponadto stwierdzono nadekspresję genów inhibitorów krzepnięcia (tissue factor pathway inhibitor-1, -2 – TEPI-1, -2). Wykazano również, że w procesie mimikry znaczenie odgrywa fosfoinozytolo-3 kinaza (phosphoinositide-3-kinase – PI3K) oraz kinaza FAK (focal adhesion kinase), a aktywacja szlaku ERK 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2) zwiększa ekspresję uPA i aktywność MMP-2/MT1-MMP.

PODSUMOWANIE

Guzy nowotworowe, tak jak inne tkanki wymagają obecności naczyń krwionośnych, które zaopatrują je w tlen i substancje odżywcze. Najlepiej opisanym mechanizmem angiogenezy nowotworowej jest kiełkowanie komórek śródbłonna tworzących macierzyste naczynia. Badania nad nim trwają już od ponad stu lat, co przyczyniło się do zdobycia bardzo obszernej wiedzy zarówno na temat etapów, jak i czynników biorących udział w tym procesie. Jednak wyniki prac doświadczalnych przeprowadzonych w ostatnich kilkunastu latach udowodniły, że nie jest to jedyny mechanizm przyczyniający się do rozrostu guzów i ich przerzutowania do innych organów. Wykazano istnienie angiogenezy wgłobieniowej i kłębuszkowej, a także mimikry naczynio-

wej oraz wbudowywania naczyń krwionośnych gospodarza do guza. Procesy te bardzo często przebiegają szybciej niż kiełkowanie, a ponieważ nie wymagają dużego nakładu energii, czyni je to znacznie groźniejszymi.

Do angiogenezy wgłobieniowej nie jest potrzebna rekrutacja, podział i inwazja komórek śródbłonna oraz degradacja błony podstawnej i wbudowywanie tkanki łącznej, w związku z czym potomne naczynia mogą powstawać nawet w ciągu kilku-kilkudziesięciu minut. Co gorsze, nowo powstałe naczynia mogą się stać miejscem kiełkowania i powstawania naczyń potomnych. Wgłobienie, zachodząc tylko w obrębie już istniejącej sieci naczyniowej, utworzonej w procesie waskulogenezy i/lub angiogenezy, powoduje znaczne zwiększenie gęstości naczyń.

Powstawanie ciałek kłębuszkowych również przebiega szybciej niż neowaskularyzacja w wyniku kiełkowania. Podejrzewa się, że ich tworzenie zachodzi natychmiast po wynaczynieniu komórek nowotworowych, które dzieląc się i migrując są zdolne przyciągać kapilary i powodować, że sąsiadujące z nimi naczynia formują nowe punkty rozgałęzień w centrum guza. Tworząc ściśle ze sobą połączone agregaty, naczynia są w stanie bardzo intensywnie odżywiać istniejący guz, prowadząc do jego szybkiego rozrostu. Ten typ angiogenezy występuje najczęściej w glejakach złośliwych.

Bardzo niepomyślne rokowania dla pacjentów z chorobami nowotworowymi ma również wbudowywanie ich naczyń krwionośnych do niedotlenionych guzów, co prowo-

duje je do syntezy VEGF. Proces ten zachodzi nieustająco zarówno w guzach pierwotnych, jak i wtórnych.

Szczególnie niebezpieczne wydaje się zjawisko mimikry, towarzyszące najczęściej czerniakowi. Wysoce agresywne komórki nowotworowe mogą zmieniać swój fenotyp w kierunku angioblastów, leukocytów i makrofagów, a zwłaszcza komórek śródbłonna. Utworzone pseudonaczynia mogą transportować płyny, które odżywiając guz prowadzą do jego niekontrolowanego rozrostu.

Wszystkie opisane wyżej procesy nie wykluczają się wzajemnie, a wręcz przeciwnie: w wielu przypadkach są ze sobą połączone, współistniejąc zarówno w fizjologicznej, jak i patologicznej neowaskularyzacji.

Nowe strategie walki z rozrostem i przerzutowaniem guzów muszą zatem uwzględniać alternatywne mechanizmy angiogenezy nowotworowej. I tak, w przypadku angiogenezy, podczas której zachodzi kiełkowanie naczyń efektywniejsza będzie terapia skierowana przeciwko czynnikom proangiogennym, podczas gdy w pozostałych – przeciwko czynnikom naczyniowym. Jej zastosowanie powinno uwzględniać również stadium rozwoju guza i rodzaj komórek go tworzących, jako że mechanizmy i intensywność neowaskularyzacji nowotworowej są od nich w wysokim stopniu zależne. Poznanie ich na poziomie molekularnym oraz uwzględnienie rodzaju guza i jego progresji z pewnością w znacznym stopniu przyczyni się do opracowania efektywniejszej terapii przeciwnowotworowej.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Adams R.H., Alitalo K.: Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2007; 8: 464–478
- [2] Ausprunk D.H., Folkman J.: Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc. Res.*, 1977; 14: 53–65
- [3] Brat D.J., Van Meir E.G.: Glomeruloid microvascular proliferation orchestrated by VPF/VEGF. *Am. J. Pathol.*, 2001; 158: 789–796
- [4] Burri P.H., Hlushchuk R., Djonov V.: Intussusceptive angiogenesis: its emergence, its characteristics, and its significance. *Dev. Dyn.*, 2004; 231: 474–488
- [5] Conway E.M., Collen D., Carmeliet P.: Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc. Res.*, 2001; 49: 507–521
- [6] Davis G.E., Camarillo C.W.: An α 2 β 1 integrin-dependent pinocytic mechanism involving intracellular vacuole formation and coalescence regulates capillary lumen and tube formation in three-dimensional collagen matrix. *Exp. Cell Res.*, 1996; 224: 39–51
- [7] Döme B., Hendrix M.J., Paku S., Tovari J., Timar J.: Alternative vascularization mechanisms in cancer. *Pathology and therapeutic implications. Am. J. Pathol.*, 2007; 170: 1–15
- [8] Furuya M., Nishiyama M., Kasuya Y., Kimura S., Ishikura H.: Pathophysiology of tumor neovascularization. *Vasc. Health Risk Manag.*, 2005; 1: 277–290
- [9] Gerhardt H., Golding M., Fruttiger M., Ruhrberg C., Lundkvist A., Abramson A., Jeltsch M., Mitchell C., Alitalo K., Shima D., Betsholtz C.: VEGF guides angiogenic sprouting utilizing endothelial tip cell filopodia. *J. Cell Biol.*, 2003; 161: 1163–1177
- [10] Ghajar C.M., George S.C., Putnam A.J.: Matrix metalloproteinase control of capillary morphogenesis. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.*, 2008; 18: 251–278
- [11] Hendrix M.J., Seflor E.A., Hess A.R., Seflor R.E.: Vasculogenic mimicry and tumour-cell plasticity: lessons from melanoma. *Nat. Rev. Cancer*, 2003; 3: 411–421
- [12] Hida K., Hida Y., Shindoh M.: Understanding tumor endothelial cell abnormalities to develop ideal anti-angiogenic therapies. *Cancer Sci.*, 2008; 99: 459–466
- [13] Hillen F., Griffioen A.W.: Tumor vascularization: sprouting angiogenesis and beyond. *Cancer Metastasis Rev.*, 2007; 26: 489–502
- [14] Kalluri R.: Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat. Rev. Cancer*, 2003; 3: 422–433
- [15] Maniotis A.J., Folberg R., Hess A., Seflor E.A., Gardner L.M., Pe'er J., Trent J.M., Meltzer P.S., Hendrix M.J.: Vascular channel formation by human melanoma cells *in vivo* and *in vitro*: vasculogenic mimicry. *Am. J. Pathol.*, 1999; 155: 739–752
- [16] Napione L., Cascone I., Mitola S., Serini G., Bussolino F.: Integrins: A flexible platform for endothelial vascular tyrosine kinase receptors. *Autoimmun. Rev.*, 2007; 7: 18–22
- [17] Paku S., Paweletz N.: First steps of tumor-related angiogenesis. *Lab. Invest.*, 1991; 65: 334–346
- [18] Pettersson A., Nagy J.A., Brown L.F., Sundberg C., Morgan E., Jungles S., Carter R., Krieger J.E., Manseau E.J., Harvey V.S., Eckelhoefer I.A., Feng D., Dvorak A.M., Mulligan R.C., Dvorak H.F.: Heterogeneity of the angiogenic response induced in different normal adult tissues by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Lab. Invest.*, 2000; 80: 99–115
- [19] Rafii S.: Circulating endothelial precursors: mystery, reality, and promise. *J. Clin. Invest.*, 2000; 105: 17–19
- [20] Rafii S., Lyden D., Benezra R., Hattori K., Heissig B.: Vascular and haematopoietic stem cells: novel targets for anti-angiogenesis therapy? *Nat. Rev. Cancer.*, 2002; 2: 826–835
- [21] Ribatti D.: The involvement of endothelial progenitor cells in tumor angiogenesis. *J. Cell Mol. Med.*, 2004; 8: 294–300
- [22] Ribatti D., Vacca A., Dammacco F.: New non-angiogenesis dependent pathways for tumour growth. *Eur. J. Cancer*, 2003; 39: 1835–1841
- [23] Ruegg C., Mariotti A.: Vascular integrins: pleiotropic adhesion and signaling molecules In vascular homeostasis and angiogenesis., *Cell Mol. Life Sci.*, 2003; 60: 1135–1157
- [24] Rundhaug J.E.: Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J. Cell. Mol. Med.*, 2005; 9: 267–285

- [25] Stefanidakis M., Koivunen E.: Cell-surface association between matrix metalloproteinases and integrins: role of the complexes in leukocyte migration and cancer progression. *Blood.*, 2006; 108: 1441–1450
- [26] Sundberg C., Nagy J.A., Brown L.F., Feng D., Eckelhoefer I.A., Manseau E.J., Dvorak A.M., Dvorak H.F.: Glomeruloid microvascular proliferation follows adenoviral vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor-164 gene delivery. *Am. J. Pathol.*, 2001; 158: 1145–1160
- [27] Swidzińska E., Naumnik W., Chyczewska E.: Angiogeneza i neoangiogeneza – znaczenie w raku płuca i innych nowotworach. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 2006; 74: 414–420
- [28] Yancopoulos G.D., Davis S., Gale N.W., Rudge J.S., Wiegand S.J., Holash J.: Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature*, 2000; 407: 242–248
- [29] Zhang L., Maul R.S., Rao J., Apple S., Seligson D., Sartippour M., Rubio R., Brooks M.N.: Expression pattern of the novel gene EG-1 in cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2004; 10: 3504–3508
- [30] Zielonka T.M.: Angiogeneza – Część I. Mechanizm powstawania nowych naczyń krwionośnych. *Alergia Astma Immunol.*, 2003; 8: 169–174
- [31] Zielonka T.M.: Angiogeneza. Część II. Czynniki modulujące proces powstawania nowych naczyń krwionośnych. *Alergia Astma Immunol.*, 2004; 9: 25–31

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.