

Janina Markowska¹, Wiesława Bednarek², Anna Markowska³

Received: 20.01.2010

Accepted: 16.02.2010

Published: 31.03.2010

Wybrane czynniki prognostyczne w raku jajnika

Selected prognostic factors in ovarian cancer

Некоторые прогностические факторы при раке яичника

¹ Katedra i Klinika Onkologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu² I Katedra i Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii UM w Lublinie³ Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Correspondence to: Dr hab. n. med. Anna Markowska, Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Polna 33, 60-535 Poznań, e-mail: annamarkowska@vp.pl

Source of financing: Department own sources

Streszczenie

W artykule omówiono szereg czynników prognostycznych związanych nie tylko z rokowaniem, ale również z możliwością zastosowania terapii docelowej w raku jajnika. Przedstawiono ekspresję mRNA *BRCA1*, VEGF i jego receptorów, CXCR4, HER-2, HIF-1 α , COX-2, *NM-23*, *KAI 1*, IGF-1R, kisspeptyny, neuropiliny i genu *Prox-1*. Ekspresja mRNA *BRCA1* wiąże się nie tylko z dziedzicznym rakiem jajnika, ale również z rakiem sporadycznym. Wyższa ekspresja powoduje lepszą odpowiedź na taksany. Przypuszcza się, że zawartość mRNA *BRCA1* u kobiet z rakiem sporadycznym może służyć do selekcji pacjentek do odpowiedniego typu chemioterapii. *BRMS1* działa jako gen hamowania przerzutów w raku jajnika. Poziomy mRNA dla *BRMS1* są niższe w zaawansowanych stadiach raka niż we wczesnych. Rodzina VEGF związana z angiogenezą i limfangiogenezą składająca się z 5 glikoprotein (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E) działa poprzez receptory VEGFR1-3. Neuropilina 1 odgrywa rolę w angiogenezie, a typ drugi moduluje proces limfangiogenezy, podobnie jak gen *Prox-1*. W uwalnianiu czynników proangiogennych bierze udział COX-2. Ekspresja HIF-1 α związana jest z opornością niedotlenionych komórek raka na leczenie chemiczne i napromienianiem. Ekspresja *c-Met* wiąże się z niższym zróżnicowaniem raka. Kompleks SDF-1/CXCR4 odgrywa kluczową rolę w tworzeniu przerzutów komórek nowotworowych. Surwiwina występująca wyłącznie na komórkach nowotworowych poprzez hamowanie apoptozy promuje rozwój raka. Gen supresji przerzutów (*BRMS1*), podobnie jak receptory VEGF, CXCR4, HER-2, HIF-1 α , COX-2, może być tarczą dla terapii celowanej. Obecnie coraz więcej badań dotyczy inhibitorów VEGF. Obniżona ekspresja *NM-23* oraz *KAI 1* koreluje ze zdolnością do przerzutowania. Omówiono markery biologiczne dla raka jasnomórkowego jajnika (IGF-1R i kisspeptynę). Ciekawym obiektem badań może być surwiwina, neuropilina i gen *Prox-1*.

Słowa kluczowe: markery prognostyczne w raku jajnika, terapia celowana, mRNA *BRCA1*, VEGF, HIF-1 α

Summary

The authors discuss several predictive factors related to ovarian cancer, both those associated with prognosis and those potentially useful in targeted therapy thereof. Expression of mRNA *BRCA1*, VEGF and its receptors, CXCR4, HER-2, HIF-1 α , COX-2, *NM-23*, *KAI 1*, IGF-1R, kisspeptin, neuropilin and *Prox-1* gene are discussed. Expression of mRNA *BRCA1* is associated not only with hereditary ovarian cancer, but also with its sporadic form. Higher expression correlates with a better response to taxanes. Hopefully, mRNA *BRCA1* level in women with sporadic ovarian cancer will become a useful parameter, qualifying patients for a particular chemotherapy protocol. *BRMS1* acts as a gene inhibiting development of metastases in ovarian cancer. Levels of mRNA for *BRMS1* are lower in late than in early stage ovarian cancer. The VEGF family is involved in angio- and lymphangiogenesis and includes 5 glycoproteins (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D

and VEGF-E), which acting upon receptors VEGFR1-3. Neuropilin 1 plays a role in angiogenesis, while neuropilin 2 modulates lymphangiogenesis, similar to the *Prox-1* gene. COX-2 mediates the release of pro-angiogenic factors. HIF-1 α expression is associated with resistance of hypoxic cancer cells against cytostatics and radiation. Expression of *c-Met* correlates with poorly differentiated cancer types. The SDF-1/CXCR4 complex plays a key role in the development of cancer metastases. Survivin is present in cancer cells only, where it inhibits apoptosis and promotes the development of cancer. Metastases suppressor gene (*BRMS1*) and receptors for VEGF, CXCR4, HER-2, HIF-1 α and COX-2, may serve as targets for targeted therapy. At present, an increasing number of studies focus on VEGF receptors. Poor expression of *NM-23* and *KAI 1* correlate with tumor ability to form metastases. The authors discuss the role of biological markers for clear-cell ovarian cancer (IGF-1R and kisspeptin). Promising topics for future studies are survivin, neuropilin and the *Prox-1* gene.

Key words: prognostic factors in ovarian cancer, targeted therapy, mRNA, *BRCA1*, VEGF, HIF-1 α

Содержание

В статье рассмотрены некоторые прогностические факторы связанные не только с прогнозированием, но также с возможностью применения щитовидной терапии при раке яичника. Представлена выразительность мРНА *BRCA1*, ВЕГФ и его рецепторов, КИксКР4, ХЕР-2, ХИФ-1 α , КОИкс-2, *NM-23*, *КАИ 1*, ИГФ-1Р, кисспептина, нейропилина и гена *Прокс-1*. Выразительность мРНА *BRCA1* связана не только с наследственным раком яичника, но также с раком спорадическим. Более высокая выразительность вызывает лучший ответ на таксаны. Предполагается, что содержимость мРНА *BRCA1* у женщин с раком пояляющимся спорадически может быть полезной при отборе пациенток для соответствующего вида химиотерапии. *BRMS1* действует в качестве гена тормозящего появление метастаз при раке яичника. Уровень мРНА для *BRMS1* более низкий при прогрессивном развитии определенной стадии рака, чем при более ранних. Семейство ВЕГФ связано с ангиогенезом (развитием кровеносных сосудов) и лимфангиогенезом состоящим из пяти гликопротеин (ВЕГФ-А, ВЕГФ-Б, ВЕГФ-Ц, ВЕГФ-Д, ВЕГФ-Е) действует посредством рецепторов ВЕГФР1-3. Нейропилин 1 играет роль в ангиогенезе, а тип 2 модулирует процесс лимфангиогенеза, подобно тому как ген *Прокс-1*. В освобождении проангиогенных факторов принимает участие КОИкс-2. Выразительность ХИФ-1 α связана с резистенцией недостаточно окисленных раковых клеток на химическое лечение и облучением. Выразительность *c-Met* связана с более низкой дифференциацией рака. Комплекс СДФ-1/КИксКР4 играет ключевую роль в образовании метастаз клеток с новообразованиями. Сурвивина пояляющаяся исключительно на клетках с новообразованиями посредством торможения апоптоза содействует развитию рака. Ген супрессии метастаз (*BRMS1*), аналогично рецепторам ВЕГФ, КИксКР4, ХЕР-2, ХИФ-1 α , КОИкс-2, может играть роль щита при проведении намеченной терапии. В настоящее время все больше исследований связано с ингибиторами ВЕГФ. Отмечаемая уменьшенная выразительность *NM-23* и *КАИ 1* связана со способностью к появлению метастаз. В статье рассмотрены также биологические маркеры для одноклеточного рака яичника (ИГФ-1Р и кисспептин). Интересным предметом исследования может быть сурвивин, нейропилин и ген *Прокс-1*.

Ключевые слова: маркеры прогностические при раке яичника, терапия намеченная, мРНА *BRCA1*, ВЕГФ, ХИФ-1 α

WSTĘP

Mimo znanych czynników prognostycznych w raku jajnika (wiek, stopień klinicznego zaawansowania, dojrzałość histologiczna, typ wykonanej operacji, wodobrzusze, zajęcie węzłów chłonnych, stężenie CA-125 itd.) nadal w tej heterogennej grupie stosowane są standardowe procedury chemiczne, a wyniki leczenia są złe.

Możliwość wykorzystania technologii proteomicznych do jednoczesowego oznaczenia setek lub tysięcy białek wytwarzanych przez organizm pozwoli prawdopodobnie na szybsze i bardziej precyzyjne wczesne, a nawet przedkliniczne zdiagnozowanie raka, na monitorowanie zindywidualizowanego leczenia, które powinno być oparte na lepszej znajomości mechanizmów wzrostu, podziału i przerzutowania oraz wiedzy o molekularnych czynnikach prognostycznych i tarczach do terapii celowanej. Poniżej przedstawiamy wybrane czynniki prognostyczne, które mogą być związane z niestandardową terapią celowaną.

INTRODUCTION

In spite of several established prognostic factors in ovarian cancer (age, clinical stage, histological grade, type of surgery, ascites, lymph node invasion, CA-125 level etc.), standard chemotherapy protocols are usually implemented in this heterogenous group of patients and treatment outcomes are poor.

Application of proteomic technology for simultaneous assay of hundreds or even thousands of proteins produced by the body, will probably enable a quicker and more precise, early or even preclinical diagnosis of cancer, monitoring of effectiveness of individually tailored treatment protocols, which should be based on a better understanding of mechanisms of tumor growth, proliferation and development of metastases, as well as on definition of proper targets for targeted therapy. We present selected prognostic factors, which may be associated with non-standard targeted therapy.

EKSPRESJA mRNA *BRCA1*

Szacuje się, że 5-10% wszystkich przypadków raka jajnika związanych jest z nosicielstwem zmutowanych genów, głównie *BRCA1* i *BRCA2*⁽¹⁾. Najczęściej mutacje w genie *BRCA1* występują wśród Żydówek aszkenazyjskich, są to: 185delAG, 5385insC⁽²⁾. W Polsce najczęściej występują mutacje 5385insC, C61G, 4153delA, rzadziej 185delAG, 300T/G i 4153delA⁽³⁾. Przeżycia kobiet chorych na raka jajnika wrodzonego i sporadycznego, będące przedmiotem licznych badań, są kontrowersyjne. Z badań Rubina i wsp.⁽⁴⁾, którzy pierwsi w 1996 roku opisali związek pomiędzy mutacją *BRCA1* i lepszym rokowaniem, wynika, że nosicielki mutacji *BRCA1* mają znacząco lepszą prognozę od kobiet obarczonych rakiem sporadycznym. Zaznaczyć jednak należy, że cytowane badania prowadzono przed rozpoczęciem stosowania paclitakselu. Od tego czasu opublikowano wyniki wielu badań prowadzonych w celu znalezienia takiego związku.

Według dwóch największych analiz: Boyda i wsp.⁽⁵⁾ oraz Ben Davida i wsp.⁽⁶⁾ (kontynuowanej w następnych latach przez tych autorów⁽⁷⁾), dotyczących przeżycia żydowskich kobiet chorych na raka jajnika czas wolny od choroby oraz całkowity czas przeżycia były dłuższe u kobiet nosicielek tych najczęstszych aszkenazyjskich mutacji *BRCA* w porównaniu z kobietami ze sporadycznym rakiem jajnika. Różnica ta w dwóch analizach^(6,7) była znamienna nawet po uwzględnieniu różnic w wieku chorych, radykalności operacji i typu histologicznego raka. Według Chetrit i wsp.⁽⁷⁾ wśród pacjentek z obserwacją trwającą 6,2 roku, objętych narodowym programem badań, nosicielstwo mutacji *BRCA1/2* zmniejszało śmiertelność o 28%.

Badania ostatnich lat^(8,9) wykazują związek między obniżoną ekspresją mRNA *BRCA1* w guzie a lepszą odpowiedzią na chemioterapię u kobiet ze sporadycznym rakiem jajnika, powodującą stan wzmoczonej wrażliwości na platynę, gdyż komórki raka z niedoborem *BRCA1*, podobnie jak produkowane niesprawne białko zmutowanego *BRCA*, nie są w stanie dokonać naprawy DNA uszkodzonego pochodnymi platyny lub też niskie poziomy mRNA *BRCA1* związane są z wolniejszym rozwojem raka⁽¹⁰⁾. W badaniach Quinn i wsp.⁽¹¹⁾ oraz Jamesa i wsp.⁽¹²⁾ pacjentki z wysoką ekspresją *BRCA1* w guzie reagują lepiej na leczenie taksanami niż te z niższą ekspresją. Według tych autorów⁽¹¹⁾ *BRCA1* indukuje ponad 1000-krotny wzrost wrażliwości na czynniki uszkadzające wrzeciono mitotyczne. Według innych badań⁽¹³⁾ *BRCA1* jest regulatorem krytycznego punktu G2/M w mitozie. Jest prawie pewne, że zgodnie z badaniami znawców^(11,12,14) konieczna będzie selekcja w leczeniu pacjentek z rakiem jajnika, która będzie opierać się na stanie *BRCA1* jako biologicznym markerze również w sporadycznym raku jajnika.

**GEN SUPRESJI PRZERZUTÓW *BRMS1*
(BREAST CANCER METASTASIS SUPPRESSOR)**

BRMS1, gen hamowania przerzutów w raku piersi, u ludzi zamapowano na chromosomie 11q13.1-q13.2⁽¹⁵⁾. Ekspresję mRNA dla *BRMS1* wykryto w wielu tkankach, w tym w normalnym zdrowym jajniku. Wykazano, że w pierwotnym raku jajnika

mRNA *BRCA1* EXPRESSION

According to current estimates, 5-10% of all cases of ovarian tumor develop in carriers of mutant genes, mainly *BRCA1* and *BRCA2*⁽¹⁾. The highest frequency of *BRCA1* mutations occurs among Ashkenazi Jews, including 185delAG and 5385insC⁽²⁾. In Poland, most frequently encountered mutations include 5385insC, C61G, 4153delA, and rarely: 185delAG, 300T/G and 4153delA⁽³⁾.

Survival rates of women affected with hereditary and sporadic ovarian cancer are a matter of much controversy, in spite of numerous studies performed hitherto. Studies by Rubin et al.⁽⁴⁾, who were the first to describe in 1996 a correlation of *BRCA1* mutation and a better prognosis, indicate that female carriers of *BRCA1* mutation have a significantly better prognosis than women affected by sporadic cancer. Noteworthy is, however, that this study has been performed prior to the introduction of paclitaxel. Since then, results of several studies investigating such a correlation have been published.

According both largest analyses by Boyd et al.⁽⁵⁾ and by Ben David et al.⁽⁶⁾, subsequently continued by the same authors⁽⁷⁾, concerning survival rates of Jewish women with ovarian cancer, disease-free survival and total survival time were longer in female carriers of *BRCA* mutation most common in Ashkenazi population as compared with women with sporadic ovarian cancer. In both analyses^(6,7) the difference was statistically significant, even considering differences in patients' age, extent of resection and histological grade of tumor. According to Chetrit et al.⁽⁷⁾, among patients participating in a national research program with a mean follow-up of 6.2 years, mortality rate in *BRCA1/2* carriers was reduced by 28%.

Recent studies^(8,9) demonstrated an association between reduced expression of mRNA *BRCA1* in tumor tissue and a more favorable response to chemotherapy in women with sporadic ovarian cancer, resulting from an enhanced sensitivity to platinum compounds, as cancer cells lacking *BRCA1* and producing an altered and ineffective protein *BRCA*, are unable to repair own DNA damaged by platinum derivatives, so level of mRNA *BRCA1* is associated with slower progress of cancer⁽¹⁰⁾. In the studies by Quinn et al.⁽¹¹⁾ and by James et al.⁽¹²⁾, patients with overexpression of *BRCA1* in tumor tissue respond better to taxanes-based therapy than those with underexpression. According to these authors⁽¹¹⁾, *BRCA1* induces an over 1000-fold increase of sensitivity to factors damaging mitotic spindle. According to other studies⁽¹³⁾, *BRCA1* regulates the critical G2/M point in the mitotic cycle. Several authorities^(11,12,14) consider it nearly certain that a selection of ovarian cancer patients will be necessary, based on their *BRCA1* status as biological marker, also in sporadic ovarian cancer type.

**BREAST CANCER METASTASIS
SUPPRESSOR (*BRMS*) GENE**

BRMS1, the breast cancer metastasis suppressor gene, has been mapped in humans on the chromosome 11q13.1-q13.2⁽¹⁵⁾. Expression of mRNA for *BRMS1* was detected in several

stężenia mRNA dla *BRMS1* są istotnie niższe niż w zdrowej gonadzie i guzach łagodnych jajnika, a ponadto w stadiach zaawansowanego raka z przerzutami do węzłów chłonnych i odległymi poziomymi mRNA dla *BRMS1* były znacznie niższe niż we wczesnych stadiach klinicznych⁽¹⁶⁾.

BRMS1 działa jako gen hamowania przerzutów w raku jajnika na drodze obniżenia adhezji komórek do składowych macierzy pozakomórkowej oraz modyfikacji licznych fenotypów związanych z przerzutami (w tym stwierdzana utrata heterozygotyczności chromosomu 11q w większości raków jajnika)⁽¹⁷⁾.

Poziomy *BRMS* mogą być czynnikiem prognostycznym w raku jajnika, a gen ten może być nową tarczą dla terapii celowanej⁽¹⁶⁾.

RODZINA VEGF I ICH RECEPTORY

Tworzenie prawidłowo funkcjonujących naczyń to proces złożony i ściśle kontrolowany, wymagający przestrzennej i czasowej koordynacji wielu angiogennych czynników, receptorów, wewnątrzkomórkowych szlaków sygnalizacyjnych oraz wielu komórek. Podczas wzrostu i różnicowania naczyń znaczna liczba różnorodnych szlaków współpracuje w budowie, podziałach i dojrzewaniu rozwijającej się sieci naczyń.

W trakcie dorosłego życia większość naczyń pozostaje w stanie spoczynku, a fizjologiczna neoangiogeneza znajduje się pod ścisłą kontrolą. W warunkach patologicznych proces ten związany jest głównie ze wzrostem nowotworów, ich przerzutowaniem, nie podlega regulacji ze strony organizmu; jest złożonym procesem wzajemnego oddziaływania między komórkami guza, czynnikami angiogennymi i składnikami macierzy zewnątrzkomórkowej⁽¹⁸⁾.

Szczególną rolę w procesie angiogenezy odgrywa rodzina VEGF, naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (*vascular endothelial growth factor*). Składa się ona z pięciu glikoprotein: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E oraz czynnika wzrostu łożyska – PIGF. Działanie VEGF odbywa się głównie przez receptory: VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (KDR) i VEGFR-3 (Flt-4). Receptory VEGF należą do rodziny receptorów kinazy tyrozynowej z trzema funkcjonalnymi domenami: domeną pozakomórkową wiążącą ligandy, domeną przezbłonową i wewnątrzkomórkową domeną kinazy tyrozynowej⁽¹⁹⁾. Wykazano, że VEGF i PIGF mobilizują komórki progenitorowe EPC (*endothelial progenitor cells*), które posiadają ekspresję VEGFR-1 i VEGFR-2, do przemieszczania się w miejsca tworzenia się naczyń⁽²⁰⁾.

Przyłączenie VEGF do swoistych receptorów prowadzi do autofosforylacji i aktywacji domeny wewnątrzkomórkowej, co następnie zapoczątkowuje kaskadę sygnałową, która stymuluje produkcję różnorodnych czynników odpowiedzialnych za przepuszczalność naczyń oraz proliferację i migrację komórek śródbłonka.

Metalloproteinazy macierzy komórkowej rozkładają białka błony podstawnej, umożliwiając mikronaczynom wniknięcie w macierz zewnątrzkomórkową. Nowo powstałe kapilary pokrywane są pericytami⁽²¹⁾. Pericyty to komórki przydanki ulokowane w obrębie błony podstawnej włóscinek i żyłek postkapilarnych,

tissues, including normal healthy ovary. Studies revealed that in primary ovarian cancer, the level of mRNA for *BRMS1* is significantly lower than in healthy gonads and in benign ovarian tumors, while in late-stage cancer with lymph node and distant metastases the level of mRNA for *BRMS1* was significantly lower than in early clinical stages⁽¹⁶⁾.

BRMS1 acts as a gene inhibiting development of metastases of ovarian cancer by reducing adherence of cells to components of extracellular matrix and by modifying several metastases-related phenotypes (including the reported loss of heterozygosity – LOH – of the chromosome 11q in most ovarian cancer cases)⁽¹⁷⁾.

BRMS levels may be considered a prognostic factor in ovarian cancer, and this gene may become a novel target in targeted therapy⁽¹⁶⁾.

VEGF FAMILY AND THEIR RECEPTORS

Formation of normally functioning vessels is a complex and precisely controlled process, necessitating spatial and temporal coordination of many angiogenic factors, receptors, intracellular signaling pathways and cooperation of several cell types. During growth and differentiation of vessels, numerous and diverse pathways cooperate in formation, branching and maturation of developing vascular network.

Throughout adult life, most vessels remain at a resting phase, while physiological angiogenesis remains under strict control. In pathological conditions, this process is mainly associated with the development of tumors, their spread and dissemination and is not subjected to normal physiological control mechanisms; this is a complex process of mutual interactions between tumor cells, angiogenic factors and components of extracellular matrix⁽¹⁸⁾.

A particular role in the process of angiogenesis is played by the vascular endothelial growth factors (VEGF) family. It includes five glycoproteins: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E and the placental growth factor (PIGF). VEGF activity is mediated mainly by receptors VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (KDR) and VEGFR-3 (Flt-4). VEGF receptors belong to the family of tyrosine kinase receptors with three functional domains: ligand-binding extracellular domain, transmembrane domain and intracellular domain of tyrosine kinase⁽¹⁹⁾. Studies revealed that VEGF and PIGF induce VEGFR1- and VEGFR2-expressing endothelial progenitor cells (EPCs) to migrate to sites where neoangiogenesis takes place⁽²⁰⁾.

Binding of VEGF to specific receptors results in autophosphorylation and activation of intracellular domain, subsequently initiating a signaling cascade, which in turn stimulates production of several different factors responsible for vascular permeability, proliferation and migration of endothelial cells.

Metalloproteinases of cellular matrix disintegrate proteins of basal membranes, enabling penetration of microvessels in the extracellular matrix. Newly formed capillaries become covered by pericytes⁽²¹⁾. Pericytes are adventitial cells located within the basal membrane of capillaries and post-capillary venules. They are provided with plasmatic processes and thus are considered

które ze względu na wypustki plazmatyczne uznaje się za komórki kurczliwe, stabilizujące naczynie i uczestniczące w regulacji mikrokrążenia.

VEGF-A i VEGF-B odgrywają kluczową rolę w procesie angiogenezy: są one ligandami dla VEGFR-1 i VEGFR-2⁽¹⁹⁾.

Poprzez przyłączenie VEGF-D i VEGF-C do VEGFR-3, którego ekspresja w przeważającej części obejmuje komórki śródbłonka naczyń limfatycznych, dochodzi do indukcji tworzenia nowych naczyń limfatycznych i zapoczątkowania procesu limfangiogenezy. Proteolityczne reakcje ludzkiego VEGF-D i VEGF-C poprzez konwertazy białkowe lub inne proteazy powoduje powstanie dojrzałych homodimerów o masie ok. 40 kDa, które wykazują większe podobieństwo do VEGFR-3 oraz do VEGFR-2, znajdujące się później w przeważającej części na komórkach śródbłonka naczyń krwionośnych. Limfangiogenna aktywność osi VEGF-C/VEGF-D/VEGFR-3 została ukazana w wielu modelach *in vitro* i *in vivo*⁽²²⁾. Zahamowanie tej drogi sygnałowej zmniejsza liczbę naczyń chłonnych w guzie oraz częstość występowania przerzutów w węzłach chłonnych w modelach guzów nowotworowych^(23,24).

Zwiększona ekspresja genu VEGF może być spowodowana przez szereg czynników, takich jak: niedotlenienie, tlenek azotu, estrogeny, różnorodne czynniki wzrostu (np. PDGF, TNF, TGF- β , EGF, IL-6, IL-1 β), oraz zdarzenia genetyczne związane z procesem nowotworzenia (tj. utrata genu supresorowego *TP53*, aktywacja onkogenów *ras*, *HER-2/neu*)⁽²⁵⁻²⁷⁾.

Rola VEGF w raku jajnika została ustalona. Około 75% raków jajnika wykazuje ekspresję VEGF. Po interakcji z receptorem VEGF nie tylko blokuje naczynia limfatyczne przepony, ale zwiększa wysięk białkowy do jamy brzusznej; stężenie VEGF jest znacznie podwyższone w płynie puchlinowym. Wykazano, że kobiety z wysoką ekspresją mają krótsze całkowite przeżycie i czas do wznowy. Dane te w literaturze są jednak rozbieżne⁽²⁷⁻²⁹⁾. W ostatnich latach stosowane są w próbach klinicznych inhibitory kinaz tyrozynowych VEGFR 1, 2, 3 oraz również proangiogenego PDGFR α/β (*platelet-derived growth factor*) (pazopanib, PTK/ZK – ASCO 2007), wyniki wydają się obiecujące.

NEUROFILINA (NRP)

VEGF-C i VEGF-D nie są jedynymi białkami regulującymi rozwój układu limfatycznego w nowotworze. Innymi czynnikami są neuropilina i jądrowy czynnik transkrypcyjny Prox-1.

Neuropilina może być przydatna do identyfikacji nabłonka naczyń limfatycznych. Wyróżniono jej dwie izoformy: NRP1 i NRP2, homologiczne w 47%. Mają one podobne struktury, ale różnią się ekspresją w *endothelium* w trakcie rozwoju. Neuropilina typu pierwszego to przezbłonowa glikoproteina o masie cząstkowej 130-140 kDa, obecna głównie w śródbłonku naczyń tętniczych, natomiast neuropilina typu drugiego – w śródbłonku naczyń żylnych i limfatycznych⁽³⁰⁻³²⁾.

NRP1 wiąże izoformy VEGF-A, VEGF-B i VEGF-E oraz PlGF, natomiast NRP2 – VEGF-A, VEGF-C i VEGF-D⁽³⁰⁾. Udowodniono, że myszy nieposiadające receptora neuropiliny 1 umierają w okresie zarodkowym z powodu zaburzeń sercowo-naczyniowych, co może wskazywać na kluczową rolę neuropiliny

contractile; they stabilize vessels and participate in regulation of microcirculation.

VEGF-A and VEGF-B play a key role in angiogenesis as ligands for VEGFR-1 and VEGFR-2⁽¹⁹⁾.

Binding of VEGF-D and VEGF-C to VEGFR-3, whose expression largely is limited to lymphatic vessels, results in induction of formation of new lymphatic vessels and thus initiation of the lymphangiogenic process. Proteolytic activity of human VEGF-D and VEGF-C mediated by protein convertases and other proteases results in formation of mature homodimers of about 40 kDa molecular weight, very similar to VEGFR-3 and VEGFR-2, subsequently located mostly on endothelial cells of blood vessels. Lymphangiogenic activity of the VEGF-C/VEGF-D/VEGFR-3 axis has been confirmed both *in vitro* and *in vivo*⁽²²⁾. Inhibition of this signal pathway reduces the density of lymphatic vessels in the tumor and frequency of metastases to lymph nodes in experimental models of malignant tumors^(23,24).

Overexpression of the VEGF gene may be caused by several factors, e.g. hypoxia, nitrogen monoxide, estrogens, various growth factors (e.g. PDGF, TNF, TGF- β , EGF, IL-6, IL-1 β) and genetic events associated with the process of neoplasia (e.g. loss of suppressor gene *TP53*, activation of oncogenes of the "ras" family, *HER-2/neu*)⁽²⁵⁻²⁷⁾.

The role of VEGF in the development of ovarian cancer is well established. Nearly 75% of all ovarian cancers present expression of VEGF. Upon interaction with a suitable receptor, VEGF not only blocks lymphatic vessels of the diaphragm, but also stimulates proteinaceous exudate to the peritoneal cavity; VEGF level is significantly elevated in ascites fluid. It was demonstrated that women with overexpression thereof have shorter both overall survival and recurrence-free survival. However, pertinent data in the literature are divergent⁽²⁷⁻²⁹⁾. Recently performed clinical trials implemented inhibitors of tyrosine kinase VEGF 1, 2, 3 and of pro-angiogenic PDGFR α/β (platelet-derived growth factor receptor – pazopanib, PTK/ZK – ASCO 2007) and results obtained to date are promising.

NEUROFILIN (NRP)

VEGF-C and VEGF-D are not the only proteins controlling the development of lymphatic vessels in tumor tissue. Other similar factors include neuropilin and nuclear transcription factor (Prox-1).

Neuropilin may be considered a marker of lymphatic vascular endothelium. Two isoforms thereof have been identified: NRP1 and NRP2, which are homologic in 47%. They have similar structure but differ in the degree of expression in the developing endothelium. NRP1 is a transmembrane glycoprotein with molecular weight of 130-140 kDa, present mainly in arterial endothelium, while NRP2 predominates in venous and lymphatic endothelium⁽³⁰⁻³²⁾.

NRP1 binds with isoforms VEGF-A, VEGF-B, VEGF-E and PlGF, while NRP2 – with VEGF-A, VEGF-C and VEGF-D⁽³⁰⁾. Studies revealed that mice devoid of NRP1-receptors die at embryonal age due to cardiovascular disorders, confirming

w rozwoju układu krążenia. Neuropilina typu drugiego współdziała z VEGFR-3, a przyłączenie VEGF-C do NRP2 wzmacnia biologiczne efekty działania osi VEGF-C/VEGFR-3⁽³²⁾. Poprzez to działanie NRP2 moduluje proces limfangiogenezy, ale jej znaczenie w nowotworzeniu naczyń chłonnych u dorosłych oraz w procesach nowotworowych pozostawało nie do końca poznane. W licznych pracach na modelach zwierzęcych stwierdzono, że po zastosowaniu przeciwciała monoklonalnego anti-NRP2 o wysokim powinowactwie do regionu wiążącego VEGF istnieje ekspresja NRP2 w naczyniach limfatycznych, a terapia anti-NRP2 redukowała liczbę guzów przerzutowych do płuc⁽³³⁾. Prace nad liniami komórkowymi raka jajnika ujawniły, że neuropilina 1 moduluje adhezję komórek, wpływa na migrację komórek nowotworowych i inwazję⁽³⁴⁾. Uważa się, że ekspresja neuropiliny może być związana ze złą prognozą⁽³⁰⁾.

GEN *Prox-1*

Jest zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 1. (1q32.2-32.3), ulega ekspresji w subpopulacji komórek nabłonkowych, które w procesie pączkowania i tworzenia rozgałęzień dają początek systemowi limfatycznemu^(35,36).

Stwierdzono, że ekspresja *Prox-1* jest wystarczająca do zapoczątkowania i rozwoju naczyń limfatycznych, a także do indukcji fenotypu „limfatycznego” w nabłonkowych komórkach naczyń krwionośnych. Zjawisku temu towarzyszy przeprogramowanie, czyli represja genów specyficznie związanych z nabłonkiem naczyniowym oraz indukcja ekspresji genów charakterystycznych dla linii komórek limfatycznych. Odkrycie to pozwala przypuszczać, że tworzenie się naczyń limfatycznych po zakończeniu embriogenezy może się odbywać nie tylko na bazie już istniejących naczyń, ale także na skutek „przeróżnicowania” otaczających naczyń krwionośnych^(37,38). Równocześnie na modelu zwierzęcym dowiedziono, że brak genu *Prox-1* powoduje całkowity brak rozwoju systemu naczyń limfatycznych, co pozwala przypuszczać, iż gen ten odgrywa kluczową rolę w procesie limfangiogenezy⁽³⁹⁾. Przypuszcza się, że *Prox-1* może brać udział w regulacji cyklu komórkowego, a w konsekwencji może być zaangażowany w nowotworzenie i może być markerem dla endotelialnych komórek limfatycznych⁽³⁸⁾.

EKSPRESJA GENU CZYNNIKA INDUKOWANEGO HIPOKSJĄ 1 α (HIF-1 α , HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR 1 α)

Niedotlenienie w guzie nowotworowym rozwija się na skutek nieprawidłowego ukrwienia spowodowanego patologicznymi naczyniami. Niedotlenienie uruchamia szereg mechanizmów:

- bezpośrednią oporność niedotlenionych komórek na leczenie napromienianiem lub cytostykami spowodowaną brakiem dostępu tlenu dla utrwalenia uszkodzeń DNA⁽⁴⁰⁻⁴²⁾;
- indukcję wzrostu VEGF (promotora angiogenezy) oraz ekspresję białek związanych z opornością na apoptozę^(41,42);
- selekcję komórek o bardzo agresywnym fenotypie dającym przerzuty⁽⁴¹⁾.

a crucial role of neuropilin in the development of cardiovascular system. NRP2 cooperates with VEGFR-3 and NRP2/VEGF-C complex enhances biological effects of VEGF-C/VEGFR-3 axis⁽³²⁾. In this mechanism, NRP2 modulates the process of lymphangiogenesis but its role in this process in adults and in neoplasia has not been fully elucidated yet. Several papers based on animal models indicate that upon application of anti-NRP2 monoclonal antibodies with high affinity to VEGF binding domain, expression of NRP2 is preserved in lymphatic vessels, while anti-NRP2 treatment contributes to reduce the incidence of pulmonary metastatic foci⁽³³⁾. Studies of ovarian cancer cell lines revealed that NRP1 modulates cellular adhesion, influencing migration and invasiveness of tumor cells⁽³⁴⁾. In general opinion, expression of neuropilin is associated with poor prognosis⁽³⁰⁾.

Prox-1 GENE

Prox-1 gene is located on the long arm of chromosome 1 (1q32.2-32.3) and is expressed in the subpopulation of endothelial cells which will subsequently differentiate to lymphatic vessels in the course of sprouting and branching^(35,36).

It was noticed that *Prox-1* expression is sufficient for initiation and maintenance of the process of development of lymphatic vessels and also for induction of “lymphatic” phenotype in endothelial cells derived from blood vessels. This phenomenon involves re-programming, i.e. suppression of genes specifically associated with vascular endothelium and induction and expression of genes characteristic for lymphatic cell lines. This discovery has led to the assumption, that formation of lymphatic vessels beyond the embryonal phase may take place – not only based on existing lymphatic vessels, but also as a result of “re-differentiation” of adjacent blood vessels^(37,38). Furthermore, experimental studies on animal models indicate that lack of *Prox-1* gene results in a total inhibition of development of lymphatic system, thus leading to the conclusion that this gene might play a key role in the lymphangiogenic process⁽³⁹⁾. It is assumed that *Prox-1* gene may participate in regulation of cell cycle and, consequently, may be involved in neoplasia, being a useful marker of endothelial lymphatic cells⁽³⁸⁾.

EXPRESSION OF HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR 1 α (HIF1 α)

Hypoxia in a malignant tumor develops as a result of inadequate perfusion due to pathologic blood vessels. Hypoxia initiates several pathogenetic mechanisms such as:

- direct resistance of hypoxic cells to radiotherapy and/or cytostatics, due to lack of oxygen which is necessary for induction of DNA damage⁽⁴⁰⁻⁴²⁾;
- induction of VEGF expression, promoting angiogenesis and stimulating expression of proteins associated with cell resistance to apoptosis^(41,42);
- selection of cells featuring an aggressive phenotype enabling development of metastases⁽⁴¹⁾.

Główny czynnik niedotlenienia stanowi HIF-1 α , białko, które w normalnych warunkach niszczone jest szybko w proteasomach, po połączeniu się z cząsteczką ubikwityny. W warunkach niedotlenienia kumuluje się w jądrze komórkowym, tworząc z podjednostką HIF-1 β heterodimer, który po połączeniu z genami regulowanymi niedotlenieniem (*hypoxia responsive elements*, HREs) wpływa na ich funkcję^(40,41). Wykryto ponad 30 takich genów i ich produktów, m.in. *VEGF*, *LDHA* (dehydrogenaza mleczanowa A) NOs (tlenek azotu), GLUT 1 (transporter glukozy), EPO (erytropoetyna)^(40,43).

Coraz więcej dowodów wskazuje na to, że HIF-1 α bierze udział w progresji, inwazji i powstaniu przerzutów raka⁽⁴¹⁻⁴³⁾. Badania immunohistochemiczne preparatów pooperacyjnych oraz ilości mRNA HIF-1 α u chorych na raka jajnika wykazały, że HIF-1 α jest niezależnym negatywnym czynnikiem prognostycznym w raku jajnika i może być jedną z nowych tarcz dla terapii celowanej w leczeniu tego nowotworu⁽⁴²⁾.

EKSPRESJA *c-Met*

Jednym z czynników wzrostu komórek nowotworowych jest czynnik wzrostu hepatocytów (*hepatocyte growth factor*, HGF). Interakcja HGF z jego receptorami może regulować apoptozę i angiogenezę. Receptory HGF to rodzina trzech kinaz tyrozynowych: Met, Ron i Sea. Uważa się, że aktywność mitogenna i morfogenetyczna związane są z protoonkogenem *c-Met*^(44,45). Met jest produktem protoonkogenu *c-Met*; Ayhan i wsp.⁽⁴⁶⁾ oznaczali immunohistochemicznie *c-Met* w tkankach pooperacyjnych raka jajnika w stadium zaawansowania klinicznego IIIC. Wykazali oni, że *c-Met* jest niezależnym czynnikiem prognostycznym w raku jajnika, którego ekspresja wiąże się z niższym zróżnicowaniem raka, przerzutami do węzłów chłonnych i gorszym przeżyciem.

HER-2 [C-ERBB2(NEU)]

Białko HER-2 jest receptorem dla naskórkowego czynnika wzrostu (EGF), który odgrywa kluczową rolę w procesach proliferacji tkanek prawidłowych, jak również guzów złośliwych. Znane są cztery warianty tego receptora: HER-1 (EGFR1), HER-2 (ErbB2), HER-3 i HER-4, które mogą formować cztery homodimery i sześć heterodimerów. Przyłączenie liganda powoduje dimeryzację receptora, aktywuje kinazę tyrozynową, włączając kaskadę sygnałową regulującą wzrost i proliferację komórki, oraz apoptozę⁽⁴⁷⁾. HER-2 jest przezbłonową glikoproteiną o masie 185 kD. Receptor HER-2 nie ma znanego liganda i jest aktywowany przez tworzenie się heterodimerów z EGFR, HER-3 lub HER-4. Receptory EGF okazały się przydatnym celem w tworzeniu nowej generacji celowanych leków przeciwnowotworowych. Trastuzumab – monoklonalne przeciwciało anty-HER-2 – znajduje powszechne zastosowanie w leczeniu raka piersi u chorych wykazujących ekspresję tego receptora.

U chorych z rakiem jajnika ujawniono, że proteina HER-2 ulega nadekspresji średnio u około 15-30% pacjentek, choć niektóre badania wykazały jej obecność nawet u 76% chorych. Nadekspresja HER-2 w tkance raka jajnika w licznych badaniach

The main factor present in hypoxic environment is HIF-1 α , a protein, which in normal conditions is quickly destroyed in proteasomes after binding with an ubiquitin molecule.

In hypoxic conditions, it accumulates in cell nucleus binding with the HIF-1 β subunit to form a heterodimer, which in turn binds with specific regulator genes, the hypoxia-responsive elements (HREs), influencing their function^(40,41). Over 30 such genes and their products have been discovered to date, including *VEGF*, *LDHA* (lactate dehydrogenase A), nitrogen oxide (NO), GLUT 1 (glucose transporter) and EPO (erythropoietin)^(40,43).

An increasing body of evidence indicates that HIF-1 α participates in progression, invasion and development of tumor metastases⁽⁴¹⁻⁴³⁾. Immunohistochemical studies of surgical specimens and quantities of mRNA HIF-1 α in ovarian cancer patients indicate that HIF-1 α is an independent negative prognostic factor in ovarian cancer and may be one of several new targets for targeted therapy in the treatment of this tumor⁽⁴²⁾.

EXPRESSION OF *c-Met*

One of growth factors affecting tumor cells is the hepatocyte growth factor (HGF). Interaction of HGF with its receptors may influence apoptosis and angiogenesis. HGF receptors is a family of three tyrosine kinases: Met, Ron and Sea. In general opinion, mitotic and morphogenetic activity is associated with proto-oncogene *c-Met*^(44,45). Met is a product of proto-oncogene *c-Met*. Ayhan et al.⁽⁴⁶⁾ provided immunohistochemical evidence for presence of *c-Met* in surgical specimens of ovarian cancer at IIIC clinical stage. They demonstrated that *c-Met* is an independent prognostic factor in ovarian cancer, whose expression correlates with poor differentiation, early lymph node metastases and worse survival rates.

HER-2 [C-ERBB2(NEU)]

The HER-2 protein is a receptor for epidermal growth factor (EGF) playing a key role in proliferation processes, both in normal tissues and in malignant tumors. Four variants of this receptor have been discovered: HER-1 (EGFR1), HER-2 (ErbB2), HER-3 and HER-4, able to form four homodimers and six heterodimers. Binding of a ligand results in dimerization of the receptor, activating tyrosine kinase and initiating a signal cascade which in turn influences growth and proliferation of cells and their apoptosis⁽⁴⁷⁾. HER-2 is a transmembrane glycoprotein, with a molecular mass of 185 kDa. HER-2 receptor has no known ligand and is activated by formation of heterodimers with EGFR, HER-3 or HER-4. EGF receptors turned out to be useful targets for a new generation of targeted anti-tumor drugs. Trastuzumab – monoclonal anti-HER-2 antibody – is currently widely used in the treatment of breast cancer in patients with confirmed expression of this receptor.

Studies in ovarian cancer patients revealed that HER-2 protein is overexpressed in about 15-30% of patients, although some authors report its presence in even 76% of women affected. In numerous studies reported by Steffensen et al.⁽⁴⁸⁾, overexpression of HER-2 in ovarian cancer tissue correlated with poor

cytowanych przez Steffensena i wsp.⁽⁴⁸⁾ wiązała się z gorszym rokowaniem, podczas gdy inne badania nie potwierdziły ekspresji HER-2 jako niezależnego czynnika prognostycznego dla przeżycia.

Dotychczas opublikowano wyniki jednego dużego badania klinicznego, w którym stosowano trastuzumab (11,4% chorych HER-2-pozytywnych) w monoterapii w nawrotowym i platynopornym raku jajnika i obserwowano odpowiedź na leczenie tylko u 7% chorych z nadekspresją HER-2⁽⁴⁹⁾. Nie potwierdzono zatem szczególnej przydatności trastuzumabu w leczeniu raka jajnika. Również próby kliniczne z zastosowaniem inhibitorów kinazy EGFR w raku jajnika (erlotynib – Tarceva) zakończyły się niepowodzeniem.

Kupryjańczyk i wsp.⁽⁵⁰⁾ jako pierwsi wykazali kliniczne znaczenie ekspresji HER-2 u chorych na raka jajnika. Wykazano, że wpływa on na oporność na cisplatynę wyłącznie u chorych z prawidłowym białkiem p53. Tak więc wartość HER-2 jako czynnika prognostycznego może być również związana z innymi markerami.

COX-2 (CYKLOOKSYGENAZA 2)

Jest enzymem, który katalizuje reakcję biosyntezy prostanoidów z kwasu arachidonowego. Gen *COX* stanowi matrycę dla trzech produktów białkowych: COX-1, COX-2 oraz COX-3, która jest wynikiem alternatywnego składania RNA.

COX-1 i COX-2 są prawie identyczne, posiadają w 65% homologiczną sekwencję aminokwasów i prawie identyczne miejsca katalityczne, izoleucyna w pozycji 523 cyklooksygenazy 1 jest zastąpiona przez walinę w COX-2. Białko COX-1 jest stale obecne w większości tkanek organizmu. COX-2 pojawia się w komórkach w odpowiedzi na bodźce zapalne lub stres fizjologiczny. W warunkach fizjologicznych COX-2 jest obecny w niewielkich ilościach w mózgu, jądrach, jajnikach, nerkach oraz w tchawicy.

COX-2 odgrywa ważną rolę w biologii nowotworów. Jego ekspresja następuje pod wpływem działania EGF, VEGF, FGF oraz cytokin⁽⁵¹⁾. Uważa się, że ekspresja tego białka odgrywa rolę w uwalnianiu czynników proangiogennych (tromboksan A, PGI₂ i PGE₂), których rola polega na bezpośredniej stymulacji procesu migracji komórek *endothelium*⁽⁵²⁾. Seletywne inhibitory COX-2 odgrywają rolę w hamowaniu angiogenezy. W badaniach na linii raka jajnika, SKOV-3, wykazano, że nadekspresja COX-1 jest obecna we wszystkich komórkach guza. *In vitro* stosowanie inhibitorów COX-1 spowodowało zahamowanie wzrostu komórek oraz angiogenezy⁽⁵³⁾. Uważa się, że nadekspresja COX-2 koreluje z dobrym zróżnicowaniem guza, ale także jest obecna w przerzutach nowotworów. Nadekspresja tego białka w raku jajnika zależy od typu histologicznego raka (w rakach śluzowych tylko 5,6%) i okazała się niekorzystnym czynnikiem prognostycznym u chorych leczonych chemioterapią. Ekspresja COX-2 korelowała ponadto z ekspresją p53 oraz VEGF⁽⁵⁴⁾. Możliwe jest też, że COX-2 generuje powstawanie oporności wielolekowej, również na cisplatynę i taksany^(55,56). Duże ilości COX-2 produkują monocyty w odpowiedzi na działanie taksanów. Powoduje to powstawanie

prognosis, while other studies did not confirm HER-2 expression as independent prognostic factor for patients' survival.

To date, results of a single large clinical trial has been published, where trastuzumab was used in monotherapy of recurrent and platinum-resistant ovarian cancer (11.4% of HER-2-positive patients), resulting in therapeutic response in just 7% of patients with HER-2 overexpression⁽⁴⁹⁾. So trastuzumab was not particularly useful in the treatment of ovarian cancer. Also, clinical trials with application of EGFR kinase inhibitors (erlotinib – Tarceva) in ovarian cancer resulted in a therapeutic failure.

Kupryjańczyk et al.⁽⁵⁰⁾ were the first to demonstrate clinical significance of HER-2 expression in ovarian cancer patients. They confirmed that it affects resistance to cisplatin only in patients with normal p53 protein. Therefore, the value of HER-2 as prognostic factor may depend on other markers.

CYCLOOKSYGENAZA 2 (COX-2)

COX-2 is an enzyme catalyzing reaction of biosynthesis of prostanoids from arachidonic acid. The *COX* gene is a matrix for three protein products: COX-1, COX-2 and COX-3, which is a product of alternative RNA assembly.

COX-1 and COX-2 are nearly identical, with a 65% homological sequence of amino acids and nearly identical catalytic domains: in COX-1, isoleucine at position 523 is replaced by valine in COX-2. COX-1 protein is always present in most tissues of the body, while COX-2 appears only as a response to inflammatory stimuli or physiological stress. In normal conditions, COX-2 is present in small quantities in the brain, testes, ovaries, kidneys and trachea. COX-2 plays an important role in tumor biology. Its expression takes place after exposure to EGF, VEGF, FGF and cytokines⁽⁵¹⁾. It is believed that expression of this protein plays a role in the release of pro-angiogenic factors (thromboxane A, PGI₂ and PGE₂), whose role consists in direct stimulation of migration of endothelial cells⁽⁵²⁾. Selective inhibitors of COX-2 play a role in inhibition of angiogenesis. Studies of cultured ovarian cancer cell lines (SKOV-3) revealed that overexpression of COX-1 is present in all tumor cells. Application of COX-1 inhibitors *in vitro* resulted in arrest of cell growth and angiogenesis⁽⁵³⁾. It is believed that COX-2 overexpression correlates with well differentiated tumors, but is also present in tumor metastases. Overexpression of this protein in ovarian cancer depends on histological tumor type (only 5.6% in mucinous cancers) and turned out to be an unfavorable prognostic factor in persons receiving chemotherapy. Furthermore, COX-2 expression correlated with p53 and VEGF expression⁽⁵⁴⁾. It is also possible that COX-2 generates multidrug resistance, including cisplatin and taxanes^(55,56). Large amounts of COX-2 are produced by monocytes in response to taxanes. This results in adverse effects of such a therapy and may contribute to a reduced effectiveness thereof. It appears that administration of COX-2 inhibitors (i.e. non-steroid anti-inflammatory drugs) concomitantly with taxanes is clinically promising, particularly in view of reduced toxicity and possible enhancement of therapeutic effects of the drug⁽⁵⁵⁾. To date, no randomized trials have been published,

objawów niepożądanych takiej terapii oraz może zmniejszać siłę działania leków. Wydaje się, iż stosowanie inhibitorów COX-2, czyli niesterydowych leków przeciwzapalnych, razem z taksanami jest obiecujące klinicznie właśnie poprzez zmniejszenie toksyczności oraz możliwe nasilenie terapeutycznego działania leku⁽⁵⁵⁾. Nie są dotychczas znane wyniki randomizowanych badań, w których stosowano inhibitory COX-2 razem z taksanami i pochodnymi platyny.

KISSPEPTYNA (METASTATYNA)

Jest neurohormonem odgrywającym kluczową rolę w biologii rozrodu (modulacja osi podwzgórze – przysadka – jajnik) oraz w hamowaniu przerzutowania nowotworów⁽⁵⁷⁾. Kisspeptyna występuje w kilku biologicznie aktywnych formach, których obecność wykazano w wielu tkankach, w tym w jajniku. Jedną z form, kisspeptyna-10, wykazuje silne powinowactwo do receptora GPR54, którego obecność stwierdzono w wielu tkankach, w tym także w jajniku. Już w niskich femtomolowych stężeniach kisspeptyna wykazuje silne działanie: hamuje przerzutowanie w czerniaku, raku piersi, raku trzustki, odpowiedzialna jest za inwazję i złe rokowanie raka żołądka, a także zatrzymuje cykl komórkowy i powoduje apoptozę w komórkach wielu raków^(58,59). Według dobrze udokumentowanych wielośrodkowych badań immunoreaktywność kisspeptyny i jej receptora GPR54 (518 przypadków raka jajnika) kojarzona jest z dobrą prognozą i dłuższym przeżyciem w jasnokomórkowym raku jajnika i uważana jest za niezależny biomarker prognostyczny w tym typie raka jajnika⁽⁶⁰⁾.

KAI 1 (CD 82)

Jest genem supresji przerzutów, zmapowanym na chromosomie 11p11.2. Należy on do rodziny białek przezbłonowych 4 glikoprotein powierzchni komórki. *KAI 1*, podobnie jak kadheryny E i N, to cząsteczki adhezji, które odgrywają rolę w progresji licznych raków. W różnych typach nowotworów u ludzi: raku płuca, wątroby, odbyticy, piersi, *endometrium* oraz jajnika stwierdzono zmniejszoną ekspresję *KAI 1*⁽⁶¹⁾. W badaniach licznych autorów silną ekspresję *KAI 1* wykazywały torbiele inkluzyjne w jajnikach i ciałkach żółtych, zaobserwowano także zmienną ekspresją *KAI 1* w ciągu fazy folikularnej i lutealnej, co sugeruje, że pełni on funkcję fizjologiczną. Stwierdzono, że obniżona ekspresja *KAI 1* jest niezależnym, niekorzystnym czynnikiem prognostycznym w raku jajnika⁽⁶²⁾.

NM-23-H1 (NON-METASTATIC CLONE NO 23-H1)

Gen supresji przerzutowania zlokalizowany jest na chromosomie 17q21. Koduje on białka mające czynność enzymatyczną kinaz NDP (nukleazy dwufosfohydrolazowe), które biorą udział w procesie naprawy DNA, funkcjonowaniu mikrotubul, a tym samym wpływają na podziały komórek. *NM-23-H1* jest jednym z ośmiu genów *NM-23* i jego ekspresja ma związek ze zdolnością

where COX-2 inhibitors would be administered in combination with taxanes and platinum derivatives.

KISSPEPTIN (METASTIN)

Kisspeptin is a neurohormone playing a crucial role in reproduction biology (modulation of the hypothalamus-hypophysis-ovary axis) and in inhibition of development of tumor metastases⁽⁵⁷⁾. Kisspeptin exists in several biologically active forms, whose presence has been confirmed in many different tissues, including the ovary. One of these forms, the kisspeptin-10 has high affinity to the receptor GPR54, which is present in many different tissues, including the ovary. Even at ultra low concentrations (in femtomole range) kisspeptin has significant biological activity, inhibiting the development of metastases in melanoma, breast cancer, pancreas cancer, while being responsible for invasion and poor prognosis in stomach cancer, interrupting cell cycle and inducing apoptosis in several cancer types^(58,59). According to well documented multicenter trials, immunoreactivity of kisspeptin and its receptor GPR54 (518 cases of ovarian cancer) correlates with favorable prognosis and better survival rates in clear-cell ovarian cancer, by many being considered an independent prognostic biomarker in this type of ovarian cancer⁽⁶⁰⁾.

KAI 1 (CD 82)

KAI 1 is a metastases suppressor gene, localized on the chromosome 11 (11p11.2). It belongs to the family of four transmembrane glycoproteins on cell surface. *KAI 1*, similar to cadherins E and N, are adhesion molecules, participating in progression of several cancer types. In many types of tumors in humans (e.g. lung cancer, liver cancer, rectal cancer, breast cancer, endometrial cancer and ovarian cancer), studies revealed a reduced expression of *KAI 1*⁽⁶¹⁾. Several authors report strong expression of *KAI 1* in ovarian inclusion cysts and luteal follicles, as well as variable expression thereof in both follicular and luteal phases, suggesting that it may fulfill a definite physiological function. A reduced *KAI 1* expression was found to be an independent unfavorable prognostic factor in ovarian cancer⁽⁶²⁾.

NM-23-H1 (NON-METASTATIC CLONE 23-H1)

Metastases suppressor gene is located on the chromosome 17 (17q21). It encodes proteins featuring enzymatic activity of NDP kinases (nucleoside-diphosphate), which are vital for DNA repair, proper function of microtubules, thus influencing cell division process. *NM-23-H1* is one of eight *NM-23* genes and its expression correlates with ability of tumor cells to form metastases. Loss of heterozygosity (LOH) or punctiform mutations result in reduced *NM-23* expression, which is in turn associated with cancer progression and its ability to metastasize⁽⁶³⁾.

In spite of much controversy related to prognostic value of *NM-23-H1* expression in ovarian cancer, most papers confirm

przerzutowania komórek nowotworowych. Utrata heterozygotyczności (LOH) lub mutacje punktowe powodują obniżenie ekspresji *NM-23*, co związane jest z progresją raka i zdolnością do przerzutowania⁽⁶³⁾.

Mimo kontrowersyjnej wartości ekspresji *NM-23-H1* w raku jajnika większość prac dowodzi, że niższa ekspresja związana jest z przerzutowaniem do węzłów chłonnych oraz że ekspresja mRNA i białka dla *NM-23* może służyć jako wskaźnik prognostyczny w raku jajnika⁽⁶⁴⁻⁶⁶⁾.

CZYNNIK KOMÓREK ZRĘBU 1 (STROMAL CELL-DERIVED FACTOR-1, SDF-1) I RECEPTOR CXCR4

SDF-1 to chemokina, kodowana przez gen *SDF-1*, znajdujący się na chromosomie 10q11.1⁽⁶⁷⁾. W wyniku splicingu pre-mRNA SDF-1 posiada dwie izoformy: SDF-1 α i SDF-1 β , które różnią się zawartością aminokwasów oraz funkcją. W większym stopniu poznany jest SDF-1 α : czynnik chemotaksji limfocytów T, monocytów i neutrofilów, którego ekspresję wykryto w wielu tkankach, w tym w jajniku⁽⁶⁸⁾.

SDF-1 działa poprzez swój receptor CXCR4 i jest jego jedynym ligandem. Receptor CXCR4 ulega ekspresji na limfocytach, neutrofilach, a także na wielu innych komórkach, także nowotworowych. Kompleks SDF-1/CXCR4 regulowany jest przez różne biologiczne mechanizmy związane z zapaleniem lub zniszczeniem tkanki (np. biorą w tym udział molekuly, takie jak anafilatoksyna C3a, kwas hialuronowy, fibronektyna, fibrynogen, trombina) i odgrywa kluczową rolę w tworzeniu przerzutów komórek nowotworowych CXCR-4 dodatnich do narządów, które wydzielają lub posiadają ekspresję SDF-1. SDF-1/CXCR4 odpowiada za sygnałowanie związane z promocją wzrostu, indukcją angiogenezy i hamowaniem apoptozy, a także za wzmożoną oporność komórek nowotworowych na chemioterapię. Mechanizm ten miałby polegać na zwiększeniu ekspresji integryn na komórkach nowotworowych i wzmożonej adhezji tych komórek do zrębu i cząsteczek macierzy pozakomórkowej (np. do węzłów chłonnych). Interakcja SDF-1 i CXCR4 jest istotna w wielu typach raka, w tym w naprowadzaniu przerzutów komórek nowotworowych CXCR-4 dodatnich do węzłów chłonnych, płuc lub kości. Stwierdzono, że przeciwciała monoklonalne przeciwko CXCR4 hamują przerzutowanie raka do płuc i węzłów chłonnych. Wykazano, że CXCR4/SDF-1 stymuluje proliferację linii komórkowych raka jajnika w taki sam sposób jak estradiol⁽⁶⁹⁾. Wskazywać to może na możliwość blokowania CXCR4 – jako tarczy terapeutycznej, a ekspresja CXCR4 może mieć znaczenie prognostyczne w raku jajnika.

SURWIWINA

Surwiwina należy do grupy ośmiu znanych białek, inhibitorów apoptozy (*inhibitor of apoptosis*, IAP) i jednocześnie promotorów proliferacji komórkowej^(70,71). Surwiwina jest najmniejszą z protein tej grupy: składa się ze 142 aminokwasów. Fizjologicznie przybiera postać homodimera. Na drodze alternatywnego składania mRNA powstaje pięć produktów białkowych

that lower expression thereof is associated with lymph node metastases and that expression of mRNA and NM-23 protein may be used as a prognostic indicator in ovarian cancer⁽⁶⁴⁻⁶⁶⁾.

STROMAL CELL-DERIVED FACTOR-1 (SDF-1) AND CXCR4 RECEPTOR

SDF-1 is a chemokine, encoded by *SDF-1* gene located at the chromosome 10 (10q11.1)⁽⁶⁷⁾. As a result of pre-mRNA splicing, SDF-1 exists in two isoforms: SDF-1 α and SDF-1 β , which differ by content of amino acids and function. Better known is the former a factor inducing chemotaxy of T-lymphocytes, monocytes and neutrophils, expressed in many tissues, including the ovary⁽⁶⁸⁾.

SDF-1 acts by its receptor CXCR4, being its only ligand. CXCR4 receptor is expressed in lymphocytes, neutrophils and in many other cells, including cancer cells. The SDF-1/CXCR4 complex is influenced by several biological mechanisms associated with inflammation and destruction of tissues (e.g. such molecules as anaphylatoxin C3a, hyaluronic acid, fibronectin, fibrinogen, thrombin) and plays a key role in formation of metastases of CXCR4-positive tumor cells to tissues, which secrete or express SDF-1. The SDF-1/CXCR4 complex is responsible for signaling in processes associated with promotion of growth, induction of angiogenesis and inhibition of apoptosis, as well as with greater resistance of tumor cells to chemotherapy. This mechanism would be based on increased expression of integrins on tumor cells' surface and their stronger adhesion to extracellular stroma and matrix (e.g. in lymph nodes). Interaction of SDF-1 and CXCR4 is important for the development of many types of cancer, including formation directing CXCR4-positive cells to form metastases in lungs, lymph nodes and bones. It was also noticed that monoclonal antibodies anti-CXCR4 inhibit metastases to lungs and lymph nodes. Studies proved that CXCR4/SDF-1 complex stimulates proliferation of ovarian cancer cell lines in the same way as estradiol⁽⁶⁹⁾. This may indicate a possibility to block CXCR4 as a therapeutic target, while CXCR4 expression may have prognostic significance in ovarian cancer.

SURVIVIN

Survivin belongs to the family of eight proteins inhibitors of apoptosis (IAP) and concomitantly – promoters of cellular proliferation^(70,71). Survivin has the smallest particle of the entire family, composed of only 142 amino acids. In physiologic conditions it takes the form of a homodimer. As a result of alternative mRNA synthesis, it serves as template for five protein products: survivin, survivin 2B, Δ Ex3, 3B and survivin 2 α . Studies *in vitro* and *in vivo* revealed that survivin inhibits apoptosis by several mechanisms: *FAS*, *BAX*, caspases 3 and 7 (apoptosis-executing enzymes)⁽⁷²⁾. It also enhances therapeutic effects of methotrexate and taxol. Expression of survivin in normal cells is low. Its overexpression occurs in tumor cell only. There is abundant evidence that expression of survivin mRNA correlates with other prognostic factors, such as clinical stage,

(surwiwina, surwiwina 2B, ΔEx3, 3B i 2α surwiwina). W badaniach *in vitro* i *in vivo* wykazano, że surwiwina hamuje apoptozę poprzez różne mechanizmy *FAS*, *BAX*, kaspazy 3 i 7 (enzymy wykonawcze apoptozy)⁽⁷²⁾. Wzmaga także działanie metotreksatu i taksolu. Ekspresja surwiwiny w prawidłowych komórkach jest niska. Jej nadekspresja występuje tylko w komórkach nowotworowych.

Według licznych badań ekspresja mRNA surwiwiny koreluje z innymi czynnikami prognostycznymi, takimi jak stopień klinicznego zaawansowania, zróżnicowania histologicznego i przerzutami do węzłów chłonnych, oraz skojarzona jest z progresją raka jajnika⁽⁷³⁾.

Jako powszechnie występujące białko na komórkach nowotworowych surwiwina stała się celem dla nowych terapii, także raka jajnika. Zahamowanie ekspresji tego białka związane jest z wieloma trudnościami, ponieważ jego model krystalograficzny wskazuje na możliwość wielomejscowego wiązania przeciwciał. W tej sytuacji wydaje się, że tylko inhibitory translacji (antysensowne oligonukleotydy i siRNA) lub tzw. „fałszywe proteiny” mogą mieć szansę powodzenia w próbach zahamowania ekspresji surwiwiny w tkankach nowotworu⁽⁷⁴⁾. Badania mające na celu zahamowanie ekspresji surwiwiny są na razie w fazie I lub II badań klinicznych w raku jajnika, jedynie na liniach komórkowych. Według innych badaczy w raku jajnika konieczne jest badanie izoform surwiwiny⁽⁷⁵⁾.

IGF-1R (RECEPTOR INSULINOPODOBNEGO CZYNNIKA WZROSTU)

Rodzina IGF składa się z dwóch receptorów przezbłonowych IGF-1R i IGF-2R o aktywności kinazy tyrozynowej, dwóch ligandów (IGF-I i IGF-II) oraz sześciu białek wiążących (IGFBP). IGF-1R wraz z ligandami jest szeroko rozpowszechniony w wielu tkankach u ludzi. Jego nadekspresję stwierdzono w licznych nowotworach złośliwych u ludzi; stymuluje proliferację, angiogenezę i przerzutowanie⁽⁷⁶⁾. Jego blokowanie może być skuteczne w redukcji masy nowotworowej, głównie na drodze apoptozy⁽⁷⁷⁾. Badania wykazały, że ekspresja IGF2BP3 jest niezależnym, negatywnym czynnikiem prognostycznym – pierwszym biomarkerem dla raka jasnokomórkowego jajnika⁽⁷⁸⁾.

PIŚMIENNICTWO: BIBLIOGRAPHY:

1. Zografos G.C., Panou M., Panou N.: Common risk factors of breast and ovarian cancer: recent view. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2004; 14: 721-740.
2. Frank T.S., Deffenbaugh A.M., Reid J.E. i wsp.: Clinical characteristics of individuals with germline mutations in *BRCA1* and *BRCA2*: analysis of 10,000 individuals. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 1480-1490.
3. Gronwald J., Huzarski T., Byrski B. i wsp.: Cancer risks in first degree relatives of *BRCA1* mutation carriers: effects of mutation and proband disease status. *J. Med. Genet.* 2006; 43: 424-428.
4. Rubin S.C., Benjamin I., Behbakht K. i wsp.: Clinical and pathological features of ovarian cancer in women with germ-line mutations of *BRCA1*. *N. Engl. J. Med.* 1996; 335: 1413-1416.

histological grade and lymph node metastases, and usually accompanies progression of ovarian cancer⁽⁷³⁾.

As a protein commonly occurring on tumor cells, survivin became an obvious target for novel therapies, including ovarian cancer. Inhibition of expression of this protein is associated with several difficulties, as its crystallographic model indicates the existence of many antibody-binding domains. In this situation it appears that only translation inhibitors (antisense oligonucleotides and siRNA) or the so-called “false proteins” may have a chance to effectively block the expression of survivin in tumor tissue⁽⁷⁴⁾. Studies aiming at inhibition of survivin expression in ovarian cancer are currently at the level of phase I or phase II clinical trials on cultured cell lines only. According to other authors’ opinion, exploration of other isoforms of survivin is mandatory in the setting of ovarian cancer⁽⁷⁵⁾.

INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR 1 RECEPTOR (IGF-1R)

The IGF family includes two transmembrane receptors (IGF-1R and IGF-2R) featuring enzymatic activity of tyrosine kinase, two ligands (IGF-I and IGF-II) and six binding proteins (IGFBP).

IGF-1R and its ligands commonly occur in many different tissues in humans. Its overexpression was observed in several malignant tumors; it stimulates proliferation, angiogenesis and metastasis development⁽⁷⁶⁾. Inhibition of IGF-1R may effectively reduce tumor mass, mainly as a result of intensified apoptosis⁽⁷⁷⁾. Studies revealed that IGF2BP3 expression is an independent, negative prognostic factor and the first biomarker for clear-cell ovarian cancer⁽⁷⁸⁾.

5. Boyd J., Sonoda Y., Federici M.G. i wsp.: Clinicopathological features of *BRCA*-linked and sporadic ovarian cancer. *JAMA* 2000; 283: 2260-2265.
6. Ben David Y., Chetrit A., Hirsh-Yechezkel G. i wsp.: Effect of *BRCA* mutations on the length of survival in epithelial ovarian tumors. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 463-466.
7. Chetrit A., Hirsh-Yechezkel G., Ben David Y., i wsp.: Effect of *BRCA1/2* mutations on long-term survival of patients with invasive ovarian cancer: the National Israeli Study of Ovarian Cancer. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 20-25.
8. Cannistra S.A.: *BRCA-1* in sporadic epithelial ovarian cancer: lessons learned from the genetics of hereditary disease. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 7225-7227.
9. Lafarge S., Sylvain V., Ferrara M., Bignon Y.J.: Inhibition of *BRCA1* leads to increased chemoresistance to microtubule-interfering agents, an effect that involves the JNK pathway. *Oncogene* 2001; 20: 6597-6606.
10. Buller R.E., Shahin M.S., Geisler J.P., i wsp.: Failure of *BRCA1* dysfunction to alter ovarian cancer survival. *Clin. Cancer Res.* 2002; 8: 1196-1202.
11. Quinn J.E., Kennedy R.D., Mullan P.B. i wsp.: *BRCA1* functions as a differential modulator of chemotherapy-induced apoptosis. *Cancer Res.* 2003; 63: 6221-6228.
12. James C.R., Quinn J.E., Mullan P.B. i wsp.: *BRCA1* as a predictive marker of survival in sporadic ovarian cancer (Meeting Abstracts). *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 5512.
13. Xu X., Weaver Z., Linke S.P. i wsp.: Centrosome amplification and a defective G2-M cell cycle checkpoint induce

- genetic instability in *BRCA1* exon 11 isoform-deficient cells. *Mol. Cell* 1999; 3: 389-395.
14. Kauff N.D.: Is it time to stratify for *BRCA* mutation status in therapeutic trials in ovarian cancer? *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 9-10.
 15. Seraj M.J., Samant R.S., Verderame M.F., Welch D. R.: Functional evidence for a novel human breast carcinoma metastasis suppressor, *BRMS1*, encoded at chromosome 11q13. *Cancer Res.* 2000; 60: 2764-2769.
 16. Zhang S., Lin Q.D., Di W.: Suppression of human carcinoma metastasis by the metastasis-suppressor gene, *BRMS1*. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2006; 16: 522-531.
 17. Foulkes W.D., Campbell I.G., Stamp G.W., Trowsdale J.: Loss of heterozygosity and amplification on chromosome 11q in human ovarian cancer. *Br. J. Cancer* 1993; 67: 268-273.
 18. Goh P.P., Sze D.M., Roufogalis B.D.: Molecular and cellular regulators of cancer angiogenesis. *Curr. Cancer Drug Targets* 2007; 7: 743-758.
 19. Karkkainen M.J., Petrova T.V.: Vascular endothelial growth factor receptors in the regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Oncogene* 2000; 9: 5598-5605.
 20. Takahashi T., Kalka C., Masuda H. i wsp.: Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat. Med.* 1999; 5: 434-438.
 21. Jain R.K.: Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science* 2005; 307: 58-62.
 22. Achen M.G., Stacker S.A.: Tumor lymphangiogenesis and metastatic spread-new players begin to emerge. *Int. J. Cancer* 2006; 119: 1755-1760.
 23. Lin J., Lalani A.S., Harding T.C. i wsp.: Inhibition of lymphogenous metastasis using adeno-associated virus-mediated gene transfer of a soluble VEGFR-3 decoy receptor. *Cancer Res.* 2005; 65: 6901-6909.
 24. He Y., Rajantie I., Pajusola K. i wsp.: Vascular endothelial cell growth factor receptor 3-mediated activation of lymphatic endothelium is crucial for tumor cell entry and spread via lymphatic vessels. *Cancer Res.* 2005; 65: 4739-4746.
 25. Shweiki D., Itin A., Soffer D., Keshet E.: Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992; 359: 843-845.
 26. Ferrara N., Gerber H.P., LeCouter J.: The biology of VEGF and its receptors. *Nat. Med.* 2003; 9: 669-676.
 27. Shimogai R., Kigawa J., Itamochi H. i wsp.: Expression of hypoxia-inducible factor 1 α gene affects the outcome in patients with ovarian cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2008; 18: 499-505.
 28. Shen G.H., Ghazizadeh M., Kawanami O. i wsp.: Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in human ovarian carcinoma. *Br. J. Cancer* 2000; 83: 196-203.
 29. Sönmezer M., Güngör M., Ensari A., Ortaç F.: Prognostic significance of tumor angiogenesis in epithelial ovarian cancer: in association with transforming growth factor β and vascular endothelial growth factor. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2004; 14: 82-88.
 30. Narazaki M., Segarra M., Tosato G.: Neuropilin-2: a new molecular target for antiangiogenic and antitumor strategies. *J. Natl. Cancer Inst.* 2008; 100: 81-83.
 31. Gu C., Rodriguez E.R., Reimert D.V. i wsp.: Neuropilin-1 conveys semaphorin and VEGF signaling during neural and cardiovascular development. *Dev. Cell* 2003; 5: 45-57.
 32. Favier B., Alam A., Barron P. i wsp.: Neuropilin-2 interacts with VEGFR-2 and VEGFR-3 and promotes human endothelial cell survival and migration. *Blood* 2006; 108: 1243-1250.
 33. Caunt M., Mak J., Liang W.C. i wsp.: Blocking neuropilin-2 function inhibits tumor cell metastasis. *Cancer Cell* 2008; 13: 331-342.
 34. Baba T., Kariya M., Higuchi T. i wsp.: Neuropilin-1 promotes unlimited growth of ovarian cancer by evading contact inhibition. *Gynecol. Oncol.* 2007; 105: 703-711.
 35. Zinovieva R.D., Duncan M.K., Johnson T.R. i wsp.: Structure and chromosomal localization of the human homeobox gene *Prox1*. *Genomics* 1996; 35: 517-522.
 36. Wigle J.T., Oliver G.: *Prox1* function is required for the development of the murine lymphatic system. *Cell* 1999; 98: 769-778.
 37. Hirakava S., Hong Y.K., Harvey N. i wsp.: Identification of vascular lineage-specific genes by transcriptional profiling of isolated blood vascular and lymphatic endothelial cells. *Am. J. Pathol.* 2003; 162: 575-586.
 38. Hong Y.K., Harvey N., Noh Y.H. i wsp.: *Prox1* is a master control gene in the program specifying lymphatic endothelial cell fate. *Dev. Dyn.* 2002; 225: 351-357.
 39. Wilting J., Papoutsis M., Christ B. i wsp.: The transcription factor *Prox1* is a marker for lymphatic endothelial cells in normal and diseased human tissues. *FASEB J.* 2002; 16: 1271-1273.
 40. Vordermark D., Brown J.M.: Endogenous markers of tumor hypoxia predictors of clinical radiation resistance? *Strahlenther. Onkol.* 2003; 179: 801-811.
 41. Zhou J., Schmid T., Schnitzer S., Brüne B.: Tumor hypoxia and cancer progression. *Cancer Lett.* 2006; 237: 10-21.
 42. Shimogai R., Kigawa J., Itamochi H. i wsp.: Expression of hypoxia-inducible factor 1 α gene affects the outcome in patients with ovarian cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2008; 18: 499-505.
 43. Semenza G.L.: HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J. Appl. Physiol.* 2000; 88: 1474-1480.
 44. Yo Y., Morishita R., Nakamura S. i wsp.: Potential role of hepatocyte growth factor in the maintenance of renal structure: anti-apoptotic action of HGF on epithelial cells. *Kidney Int.* 1998; 54: 1128-1138.
 45. Medico E., Mongiovi A.M., Huff J. i wsp.: The tyrosine kinase receptors Ron and Sea control "scattering" and morphogenesis of liver progenitor cells *in vitro*. *Mol. Biol. Cell* 1996; 7: 495-504.
 46. Ayhan A., Ertunc D., Tok EC, Ayhan A. Expression of the c-Met in advanced epithelial ovarian cancer and its prognostic significance. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2005; 15: 618-623.
 47. Schlessinger J.: Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 2000; 103: 211-225.
 48. Steffensen K.D., Waldstrøm M., Jeppesen U. i wsp.: The prognostic importance of cyclooxygenase 2 and HER2 expression in epithelial ovarian cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2007; 17: 798-807.
 49. Bookman M.A., Darcy K.M., Clarke-Pearson D. I wsp.: Evaluation of monoclonal humanized anti-HER2 antibody, trastuzumab, in patients with recurrent or refractory ovarian or primary peritoneal carcinoma with overexpression of HER2: a phase II trial of the Gynecologic Oncology Group. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21: 283-290.
 50. Kupryjańczyk J., Mądry R., Plisiecka-Hałasa J. i wsp.: P53 status determines clinical significance of ERBB2 expression in ovarian cancer. *Br. J. Cancer* 2004; 91: 1916-1923.
 51. Toomey D.P., Murphy J.F., Conlon C.: COX-2, VEGF and tumour angiogenesis. *Surgeon* 2009; 3: 174-180.
 52. Wróbel T., Mazur G., Surowiak P. i wsp.: Increased expression of vascular endothelial growth factor in bone marrow of multiple myeloma patients. *Eur. J. Intern. Med.* 2003; 14: 98-100.
 53. Li W., Ji Z.L., Zhuo G.C. i wsp.: Effects of a selective cyclooxygenase-1 inhibitor in SKOV-3 ovarian carcinoma xenograft-bearing mice. *Med. Oncol.* 2009; 26: 170-177.
 54. Seo S.S., Song Y.S., Kang D.H. i wsp. Expression of cyclooxygenase-2 in association with clinicopathological prog-

- nostic factors and molecular markers in epithelial ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 2004; 92: 927-933.
55. Gasparini G, Longo R, Sarmieto R, Morabito A. Inhibitors of cyclo-oxygenase 2: a new class of anticancer agents? *Lancet Oncol.* 2003; 10: 605-615.
 56. Patel V.A., Dunn M.J., Sorokin A.: Regulation of MDR-1 (P-glycoprotein) by cyclooxygenase-2. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 38915-38920.
 57. Kuohung W, Kaiser U.B.: GPR54 and KiSS-1: role in regulation of puberty and reproduction. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2006; 7: 257-263.
 58. Harms J.F., Welch D.R., Miele M.E.: KISS1 metastasis suppression and emergent pathways. *Clin. Exp. Metastatic* 2003; 20: 11-18.
 59. Becker J.A., Mirjolet J.F., Bernard J. i wsp.: Activation of GPR54 promotes cell cycle arrest and apoptosis of human tumor cells through a specific transcriptional program not shared by other G_q-coupled receptors. *Biol. Biophys. Res. Commun.* 2005; 326: 677-686.
 60. Prentice L.M., Klausen C., Kaloger S. i wsp.: Kisspeptin and GPR54 immunoreactivity in a cohort of 518 patients defines favourable prognosis and clear subtype ovarian carcinoma. *BMC Med.* 2007; 5: 33.
 61. Liu F.S., Dong J.T., Chen J.T. i wsp.: KAI1 metastasis suppressor protein is down-regulated during the progression of human endometrial cancer. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9: 1393-1398.
 62. Schindl M., Birner P., Breitenecker G., Oberhuber G.: Downregulation of KAI1 metastasis suppressor protein is associated with a dismal prognosis in epithelial ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 2001; 83: 244-248.
 63. Mandai M., Konishi I., Koshiyama M. i wsp.: Expression of metastasis-related *nm23-H1* and *nm23-H2* genes in ovarian carcinomas: correlation with clinicopathology, *EGFR*, *c-erbB-2*, and *c-erbB-3* genes, and sex steroid receptor expression. *Cancer Res.* 1994; 54: 1825-1830.
 64. Galani E., Sgouros J., Petropoulou C. i wsp.: Correlation of *MDR-1*, *nm23-H1* and *H Sema E* gene expression with histopathological findings and clinical outcome in ovarian and breast cancer patients. *Anticancer Res.* 2002; 22: 2275-2280.
 65. Scambia G., Ferrandina G., Marone M. i wsp.: *nm23* in ovarian cancer: correlation with clinical outcome and other clinicopathologic and biochemical prognostic parameters. *J. Clin. Oncol.* 1996; 14: 334-342.
 66. Tas F, Tuzlali S., Aydiner A. i wsp.: Prognostic role of *nm23* gene expression in patients with ovarian cancer. *Am. J. Clin. Oncol.* 2002; 25: 164-167.
 67. Müller A., Homey B., Soto H. i wsp.: Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 2001; 410: 50-56.
 68. Kucia M., Jankowski K., Reza R. i wsp.: CXCR4-SDF-1 signalling, locomotion, chemotaxis and adhesion. *J. Mol. Histol.* 2004; 35: 233-245.
 69. Hall J.M., Korach K.S. Stromal cell-derived factor 1 α novel target of estrogen receptor action, mediates the mitogenic effects of estradiol in ovarian and breast cancer cells. *Mol. Endocrinol.* 2003; 17: 792-797.
 70. Hunter A.M., LaCasse E.C., Korneluk R.G.: The inhibitors of apoptosis (IAPs) as cancer targets. *Apoptosis* 2007; 12: 1543-1568.
 71. Ambrosini G., Adida C., Altieri D.C.: A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat. Med.* 1997; 8: 917-921.
 72. Tamm I., Wang Y., Sausville E. i wsp.: IAP-family protein apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anti-cancer drugs. *Cancer Res.* 1998; 58: 5315-5320.
 73. Liguang Z., Peishu L., Hongluan M. i wsp.: Survivin expression in ovarian cancer. *Exp. Oncol.* 2007; 29: 121-125.
 74. Talbot D.C., Davies J., Callies S. i wsp.: First human dose study evaluating safety and pharmacokinetics of LY2181308, an antisense oligonucleotide designed to inhibit survivin. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26 (suppl.), abstr. 3518.
 75. Ferrandina G., Legge F., Martinelli E. i wsp.: Survivin expression in ovarian cancer and its correlation with clinicopathological, surgical and apoptosis-related parameters. *Br. J. Cancer* 2005; 92: 271-277.
 76. Pollak M.N., Schernhammer E.S., Hankinson S.E.: Insulin-like growth factors and neoplasia. *Nat. Rev. Cancer* 2004; 4: 505-518.
 77. Wang Y., Sun Y.: Insulin-like growth factors receptor-1 as an anti-cancer target: blocking transformation and inducing apoptosis. *Curr. Cancer Drug Targets* 2002; 2: 191-207.
 78. Köbel M., Xu H., Bourne P.A. i wsp.: IGF2BP3 (IMP3) expression is a marker of unfavorable prognosis in ovarian carcinoma of clear cell subtype. *Mod. Pathol.* 2009; 22: 469-475.

Szanowni Prenumeratory,

Uprzejmie przypominamy, że zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dn. 6 października 2004 roku w sprawie sposobów dopełnienia obowiązku doskonalenia zawodowego lekarzy i lekarzy dentyków prenumerata czasopisma „Current Gynecologic Oncology” – indeksowanego w Index Copernicus – umożliwi doliczenie 5 punktów edukacyjnych do ewidencji doskonalenia zawodowego. Podstawą weryfikacji jest dowód opłacenia prenumeraty lub zaświadczenie wydane przez Wydawcę.

Dear Subscribers,

We kindly remind you that according to the decree of the Minister of Health dated from the 6th October 2004 and concerning obligatory postgraduate professional improvement of doctors and dentists, subscription to the journal “Current Gynecologic Oncology”, indexed in the Index Copernicus, grants 5 additional educational points to the evidence of professional improvement. The basis for verification is subscription bill or certificate issued by the Editor.