

Received: 2011.05.11
Accepted: 2011.06.18
Published: 2011.07.04

Nowotworowe naczynia krwionośne*

Tumor blood vessels

Stanisław Szala, Magdalena Jarosz

Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Streszczenie

Wzrost nowotworu uzależniony jest od własnego unaczynienia. Małe, awaskularne nowotwory (1–2 mm³) nie mogą się rozwijać dopóki w środowisku nowotworowym nie nastąpi załamanie równowagi między czynnikami proangiogennymi a czynnikami antyangiogennymi. Angiogeneza nowotworowa nie jest jedynym mechanizmem biorącym udział w powstawaniu naczyń nowotworowych. Waskulogenna mimikra odgrywa równie istotną rolę w powstawaniu unaczynienia. Struktury naczyniopodobne powstające w wyniku tego procesu są zbudowane z komórek nowotworowych i z różnych komórek mikrośrodowiska: z makrofagów lub z komórek tucznych. Niektóre nowotwory mogą się rozwijać bez udziału własnych naczyń krwionośnych wykorzystując do swego wzrostu naczynia prawidłowe gospodarza.

Spowolniony przepływ krwi w nieprawidłowych nowotworowych naczyniach krwionośnych jest główną przyczyną powstawania niedotlenienia (hipoksji) komórek nowotworowych. niesprawne, defektywne naczynia nowotworowe i spowodowane przez nie niedotlenienie odgrywają ważną rolę w progresji nowotworowej. Niedotlenienie indukuje powstanie nowych naczyń, a nowe niesprawne naczynia są główną przyczyną niedotlenienia. Pod wpływem niedotlenienia komórki nowotworowe stają się komórkami inwazyjnymi, złośliwymi. W niedotlenionych naczyniach pojawia się też szczególnie proces transróżnicowania: przekształcania komórek nowotworowych w komórki śródbłonne.

Wzrost nowotworów zależy od własnej sieci naczyń krwionośnych. Zahamowanie powstawania tej sieci lub jej uszkodzenie ma wpływ na zahamowanie wzrostu nowotworów. Długotrwałe stosowanie leków antyangiogennych napotyka jednak na nieoczekiwane trudności. Oporność na leki antyangiogenne oraz paradoksalna stymulacja przez te leki inwazyjności i powstawania przerzutów stają się obecnie ważnymi problemami w terapii nowotworów.

Słowa kluczowe:

nieprawidłowe nowotworowe naczynia krwionośne • angiogeneza nowotworowa • waskulogenna mimikra • niedotlenienie • progresja nowotworowa

Summary

Growth of tumors usually depends on the development of the tumor's own vasculature. Small avascular tumors (1–2 mm³) cannot continue growth provided an equilibrium between pro-angiogenic and anti-angiogenic factors is maintained within the tumor environment. Angiogenesis is not the only factor responsible for tumor blood vessels forming, as vasculogenic mimicry plays an equally substantial role in this process. Vessel-like structures formed during this process are made up from cancer cells, macrophages and mast cells. Certain neoplasms are capable of growing without developing their own vasculature; instead they secure growth via normal blood vessels of the host.

* Publikacja została sfinansowana z grantu MNiSW nr NN 401 587 540.

Slowed-down blood flow through an abnormally built tumor vascular network is the main reason for cancer cells' underoxygenation (hypoxia). Defective blood vessels, with hypoxia resulting, play a major role in tumor progression. Underoxygenation induces formation of novel vessels and these new defective vessels are in turn the principal reason for hypoxia. The latter increases cancer cells' malignancy and invasiveness. A particular process, called transdifferentiation, takes place in tumor vasculature when hypoxia is present and involves neoplastic cells transforming into endothelial cells.

Since growth of a tumor is dependent on its own blood supply, inhibition of such vascular network growth and/or damage to this network should exert a strong impact on tumor growth. Long-term administration of anti-angiogenic drugs, however, encounters unexpected problems. Anti-angiogenic drug resistance, together with paradoxical stimulation of invasiveness and metastasis by these drugs, has lately become a dominant issue in anticancer therapy.

Key words: abnormal tumor blood vessels • tumor angiogenesis • vasculogenic mimicry • hypoxia • tumor progression

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=951193>

Word count: 3790

Tables: –

Figures: 4

References: 89

Adres autora: prof. dr hab. Stanisław Szala, Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice; e-mail: sszala@io.gliwice.pl

WSTĘP

W 2000 r. D. Hanahan i R. A. Weinberg [31] zaproponowali sześć podstawowych cech komórek nowotworowych: nieograniczony potencjał replikacyjny, wytwarzanie własnych czynników wzrostowych, niewrażliwość na zewnętrzne czynniki wzrostowe, oporność na apoptozę, inwazyjność i powstawanie przerzutów oraz zdolność do tworzenia własnej sieci naczyń krwionośnych. W niedawno opublikowanej pracy [32] dodają jeszcze cztery nowe: ucieczkę spod nadzoru immunologicznego, metaboliczne przeprogramowanie podczas hipoksji, indukowanie stanu zapalnego oraz genomową niestabilność. Zdolność do inwazyjności i tworzenia przerzutów, wytwarzanie własnych naczyń krwionośnych, ucieczka spod nadzoru immunologicznego i stymulacja stanu zapalnego to skomplikowane procesy, w których biorą udział komórki nowotworowe oraz makrofagi, fibroblasty, komórki śródbłonkowe czy układu odpornościowego. Relacje między tymi komórkami, międzykomórkowe oddziaływania, tworzą swoiste mikrośrodowisko, bez którego powstanie i rozwój nowotworów byłby niemożliwy [39]. Z jednej strony mikrośrodowisko nowotworowe chroni komórki nowotworowe przed rozpoznaniem i eliminacją przez układ odpornościowy gospodarza, a z drugiej umożliwia im dalszy wzrost [80].

Wytwarzanie przez komórki nowotworowe własnej sieci naczyń krwionośnych to bardzo ważny element mikrośrodowiska nowotworowego [9,50,89]. Unaczynienie umożliwia bowiem odpowiednie utlenowanie komórek nowotworowych oraz ich zaopatrzenie w substancje odżywcze i wzrostowe. Ułatwia usuwanie zbędnych metabolitów. Unaczynienie staje się także ważną drogą rozsiewu komórek nowotworowych. Wraz z siecią naczyń limfatycznych

umożliwia komórkom nowotworowym zasiedlenie odległych narządów i powstawanie przerzutów [75].

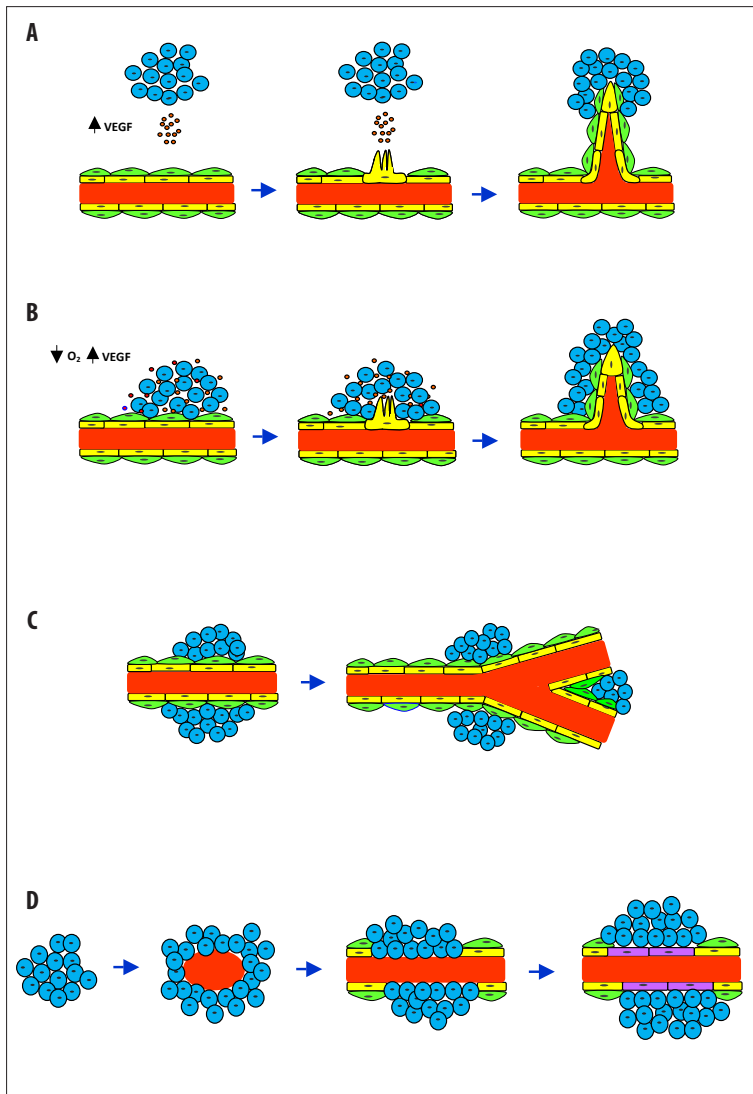
Spowolniony przepływ krwi w niesprawnych, nieprawidłowych nowotworowych naczyniach krwionośnych powoduje powstanie zmiennego niedotlenienia (hipoksji) w komórkach nowotworowych [16]. Niedotlenienie indukuje w komórkach nowotworowych aktywność dwóch czynników transkrypcyjnych: HIF-1 α i HIF-2 α , które z kolei aktywują duże grupy genów kodujących białka mające istotny wpływ na progresję nowotworową (zezłotnienie komórek nowotworowych) [28,49].

Artykuł nasz omawia istotne funkcje nowotworowych naczyń krwionośnych. Wiele podstawowych informacji dotyczących nowotworowych naczyń krwionośnych i ich powstawania można także znaleźć w pracach przeglądowych [63,68,76,80].

POWSTAWANIE NOWOTWOROWYCH NACZYŃ KRWIONOŚNYCH

W powstaniu nowotworowych naczyń krwionośnych uczestniczą głównie trzy procesy: angiogeneza nowotworowa (powstawanie naczyń z już istniejących naczyń nowotworowych), wgłobienie (rozpad naczynia większego na mniejsze) i waskulogenna mimikra (powstawanie struktur naczyniopodobnych, imitujących naczynia prawidłowe) [18] (ryc. 1).

Udział waskulogenezy (powstawanie naczyń nowotworowych *de novo* z progenitorowych komórek śródbłonkowych) budzi coraz większe wątpliwości [24,62,67]. Okazuje się bowiem, że komórki uważane za progenitorowe komórki śródbłonkowe (EPC) zawierające takie markery jak np.



Ryc. 1. Schematy trzech podstawowych mechanizmów powstawania nowotworowych naczyń krwionośnych: angiogenezy nowotworowej (A, B), wgłobienia (C) i waskulogennej mimikry (D). Na niebiesko zaznaczono komórki nowotworowe, na żółto – komórki śródbłonne, na zielono – perycyty, na fioletowo – komórki śródbłonne powstałe z komórek nowotworowych. Czerwonym kolorem zaznaczono światło naczynia. 1A – przedstawia najprostszony wariant procesu angiogenezy inicjowany przez komórki nowotworowe oddalone od naczyń krwionośnych. Czynnikiem inicjującym jest VEGF wydzielany przez komórki nowotworowe, w których znajdują się zmutowane geny *onc* i geny supresorowe. 1B – proces angiogenezy stymulowany przez komórki nowotworowe znajdujące się w bliskim kontakcie z naczyniami. Spowolniony przepływ krwi w niesprawnych naczyniach indukuje niedotlenienie komórek nowotworowych i, w konsekwencji, wydzielanie VEGF

CD34⁺AC133⁺VEGFR2⁺ niezmiernie rzadko są wbudowywane w ściany naczyń. Komórki te wywodzą się raczej z macierzystych komórek hematopoetycznych (HSC), mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC), a nawet z monocytów [59]. Nie biorą one bezpośredniego udziału w powstawaniu naczyń nowotworowych. Wydzielają natomiast wiele czynników proangiogennych [59].

W przeciwieństwie do angiogenezy fizjologicznej, angiogeneza nowotworowa jest procesem przewlekłym [14]. Jest, jak pisze H. Dvorak [20]: „nieogracana rana”. Ta niekończąca angiogeneza jest wynikiem ciągłego, praktycznie niekontrolowanego, wydzielania różnych czynników proangiogennych (głównie VEGF, a także: PlGF, bFGF, IL-1 β , TNF- α , IL-8, PDGF β , TGF- β itd.). VEGF może być wydzielany przez komórki nowotworowe z mutacjami genów supresorowych (np. *p53*, *VHL*, *PTEN*) oraz niektórych onkogenów (*ras*, *src*, *EGFR*, *erbB-2/HER2*) [48], a także przez komórki mikrośrodowiska: fibroblasty, makrofagi i komórki przewlekłej reakcji zapalnej w nowotworach (granulocyty, komórki tłuszczne) [55]. Różne czynniki proangiogenne są także wydzielane przez komórki będące w stanie stresu: hipoksji, niedoboru glukozy i żelaza, kwasicy, czy też podczas powstawania reaktywnych

form tlenu (ROS) [4]. Niektóre czynniki proangiogenne, takie jak np. VEGF, mogą być uwalniane z macierzy pozakomórkowej przez niektóre metaloproteiny np. przez MMP-9 [72]. Czynniki proangiogenne, takie jak VEGF czy TGF- β mogą także brać udział w powstawaniu swojego środowiska immunosupresyjnego, umożliwiającego ucieczkę komórek nowotworowych spod nadzoru immunologicznego [80,81].

Mechanizm powstawania naczyń krwionośnych z udziałem angiogenezy nowotworowej w swych głównych zarysach niewiele różni się od angiogenezy fizjologicznej [14]. Podstawowe etapy obu procesów są podobne i dotyczą: degradacji błony podstawnej, odsunięcia perycytów od komórek śródbłonkowych (EC), migracji i proliferacji EC, tubulogenezy i stabilizacji nowo powstałych naczyń [2,64].

W powstawaniu nowotworowych naczyń krwionośnych istotną rolę odgrywa tzw. przejście angiogenne lub przełom angiogeny (angiogenic switch) [4]. Przejście angiogenne to przejście nowotworu z fazy awaskularnej do unaczyniowej. Małe, awaskularne nowotwory (1–2 mm³) nie mogą się rozwijać dopóki nie uaktywnią się w nich geny kodujące czynniki proangiogenne, dopóki w środowisku

nowotworowym nie nastąpi zachwianie równowagi między czynnikami proangiogennymi a czynnikami antyangiogennymi. W środowisku tym zaczynają więc dominować czynniki proangiogenne: VEGF, FGF, PDGF, TGF- β itp. kosztem takich inhibitorów angiogenezy jak m.in. trombospondyna, endostatyna czy angiostatyna. W przejściu angiogennym ważną rolę odgrywają także takie enzymy jak MMP9, które uwalniają związany z macierzą pozakomórkową czynnik VEGF [4].

W angiogenezie główną rolę odgrywa czynnik VEGFA (i jego podstawowe izoformy: VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆) oraz receptor VEGFR2. Izoforny VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆ wiążą się z heparyną. Ich uwolnienie z powierzchni komórek wymaga enzymatycznego trawienia. VEGF₁₂₁ występuje w postaci niezwiązanej (nie wiąże się z heparyną) [4]. VEGFA wchodzi w skład rodziny, którą stanowią: VEGFB, VEGFC, VEGFD i VEGFE (wirusowy) oraz PIGF-1 i PIGF-2. Czynniki te wiążą się z trzema receptorami: VEGFR1, VEGFR2 i VEGFR3 znajdującymi się głównie na komórkach śródbłonkowych naczyń krwionośnych i limfatycznych (receptor VEGFR2 może się także znajdować na powierzchni niektórych komórek nowotworowych). W przyłączeniu ligandów do receptorów biorą udział także koreceptory NRP-1 i NRP-2 (neuropilina 1 i 2) [3]. Receptory VEGFR1 i VEGFR2 odgrywają głównie rolę w angiogenezie, natomiast receptor VEGFR3 w limfangiogenezie. Koreceptory NRP1 prawdopodobnie biorą udział w przyłączeniu VEGFA do receptora VEGFR1 i VEGFR2, natomiast NRP2 w wiązaniu VEGFC i VEGFD z receptorem VEGFR3. NRP1 występuje głównie na komórkach EC tętnic, a NRP2 na komórkach EC żył i naczyń limfatycznych [15]. Ligandy VEGFC i VEGFD biorą także udział w angiogenezie wiążąc się z receptorami VEGFR2 i VEGFR3. Receptor VEGFR3 znajduje się w „kiełkującej” czołowej komórce śródbłonkowej, w której pojawiają się filopodia [4].

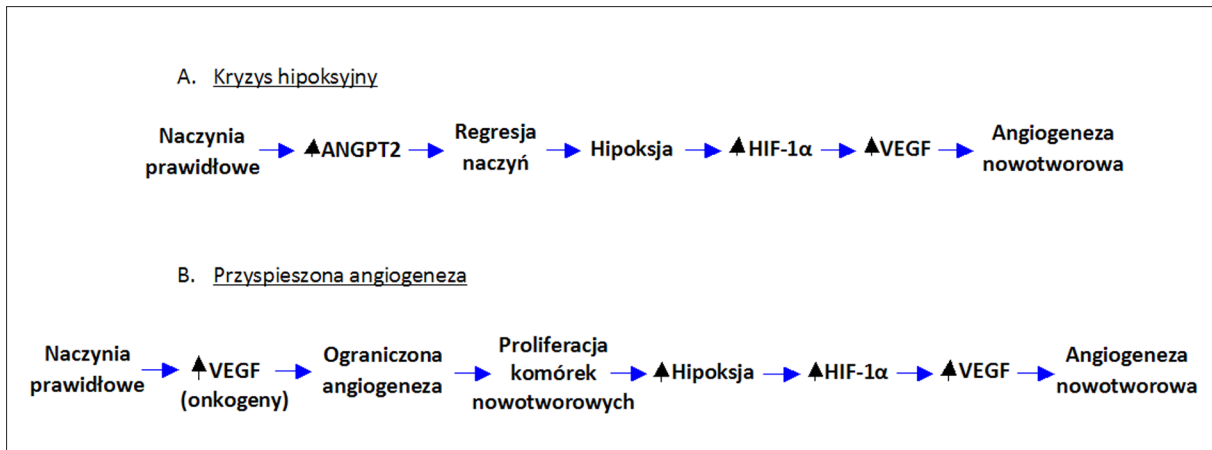
VEGFA (dalej dla uproszczenia: VEGF) jest białkiem plejotropowym. Po przyłączeniu do receptora VEGFR2 i internalizacji, VEGF aktywuje w komórkach śródbłonkowych (EC) szlak sygnałowy PLC γ -PKC-Raf-MEK-MAPK (VEGF staje się wówczas mitogenem). VEGF może być także czynnikiem przetrwania komórek EC aktywując w nich szlak sygnałowy PI3-Akt [48]. VEGF jest białkiem zwiększającym przepuszczalność naczyń krwionośnych [73] oraz czynnikiem immunosupresyjnym hamującym dojrzewanie komórek dendrytycznych [6]. Jest chemoatraktantem mobilizującym z krwiobiegu i ze szpiku komórki reakcji zapalnej [50]. VEGF stymuluje duplikację centromerów i powstanie aneuploidii w komórkach EC [83]. Niektóre dane wskazują, że może brać udział w transróżnicowaniu: w powstawaniu komórek EC z komórek nowotworowych [84]. VEGF stymuluje także aktywność aktywatora plazminogenu typu urokinazowego (uPA) i tkankowego (tPA) oraz inhibitora aktywatorów plazminogenu typu I (PAI-1) [85].

Inicjowana przez VEGF angiogeneza (zarówno ta fizjologiczna jak i nowotworowa) rozpoczyna się od lokalnej degradacji błony podstawnej (w procesie tym biorą udział enzymy zlokalizowane w macierzy pozakomórkowej (ECM)) i odsunięcia perycytów od komórek EC [64]. W odsłoniętej komórce EC, pod wpływem VEGF, pojawiają się wypustki (filopodia) [41]. Wypustki te kierują się w stronę źródła

VEGF; w istocie filopodia rozpoznają gradient stężenia VEGF. Źródłem VEGF mogą być zarówno komórki nowotworowe jak i komórki mikrośrodowiska. VEGF może być także uwalniany z ECM. W filopodiach „kiełkującej” komórki EC znajduje się enzym MT1-MMP, który degradowuje białka macierzy tworząc w ten sposób miejsce dla rosnącego („migrującego”) naczynia (komórka „kiełkująca” wykazuje fenotyp proteolityczny). „Kiełkująca” komórka EC traci kontakt z lamininą błony podstawnej i zaczyna tworzyć swoiste relacje z kolagenem macierzy pozakomórkowej. Te nowe oddziaływania komórki EC z ECM powodują reorganizację cytoszkieletu i powstawanie filopodiów [14]. Pod wpływem VEGF komórki EC znajdujące się za czołową „kiełkującą” komórką dzielą się tworząc swoisty splot naczyniowy uformowany z nowo powstałych komórek EC. Proliferacja komórek splotu jest stopniowo wygaszana przez zaktywowane receptory Notch znajdujące się w tych komórkach. Receptory Notch są stymulowane przez ligandy DLL4 umiejscowione w „kiełkującej” komórce [1]. Kontakt komórek splotu z perycytami wpływa na zahamowanie aktywności enzymu MT1-MMP [14]. W proliferujących komórkach EC tworzą się wewnątrzkomórkowe wakuole, które łącząc się ze sobą tworzą światło naczynia (tubulogeneza). Końcowe etapy angiogenezy to dojrzewanie, stabilizacja naczyń: hamowanie fenotypu proteolitycznego komórek EC przez inhibitory metaloproteinaz, osłanianie powstających naczyń przez perycyty oraz synteza błony podstawnej przez nowo powstałe komórki EC i perycyty [64]. Wielkość naczyń, średnica naczyń zależy od tego czy w procesie angiogenezy VEGF był związany z macierzą pozakomórkową, czy też był w postaci swobodnej (niezwiązanej). Uwalniany z macierzy VEGF stymuluje powstawanie naczyń o większych średnicach niż VEGF niezwiązany [42]. W swoim umocowaniu nowo powstałych naczyń w ECM znaczącą rolę odgrywają różne białka macierzy, zwłaszcza integryny $\alpha_v\beta_3$ [85].

Oprócz VEGF i jego głównego receptora VEGFR2 oraz receptora Notch i liganda DLL4, w powstawaniu nowych naczyń biorą także udział m.in.: efryna B2 i jej receptor EPHB4 (rola w powstawaniu tętniczek i żyłek), PDGF-BB i receptor PDGFRB (rekrutacja perycytów), ANGPT1 (angiopoetyna 1) i receptor TIE2 (stabilizacja naczyń), ANGPT2 (angiopoetyna 2) i receptor TIE2 (destabilizacja naczyń) oraz TGF- β i receptor TGF- β R2 (powstawanie ECM i różnicowanie fibroblastów do miofibroblastów, a także komórek mezenchymalnych do perycytów) [14]. Coraz więcej danych wskazuje też na udział w angiogenezie ścieżek sygnałowych stymulowanych przez semaforyny, pleksyny, netriny. Białka te mogą odgrywać rolę w ukierunkowanym wzroście naczyń, migracji i proliferacji komórek EC [2].

I choć podstawowe etapy powstawania naczyń są prawie identyczne, angiogeneza nowotworowa różni się jednak od angiogenezy fizjologicznej [14]. Różnice dotyczą głównie roli VEGF. Czynnikiem ten jest jedynym istotnym czynnikiem proangiogennym biorącym udział w angiogenezie fizjologicznej. Natomiast w angiogenezie nowotworowej, oprócz VEGF, bierze udział wiele różnych czynników wydzielanych przez różne komórki mikrośrodowiska nowotworowego (zwłaszcza przez komórki reakcji zapalnej). Ponadto czynniki te, działające w dość swoistym mikrośrodowisku (środowisku przewlekłej reakcji zapalnej), mogą często



Ryc. 2. Modele angiogenezy nowotworowej: (A) model kryzysu hipoksyjnego wg [38] oraz (B) model przyspieszonej angiogenezy wg [13]

zmieniać swoje funkcje. PDGF, który w prawidłowej angiogenezie stimuluje migrację perycytów i ich przyleganie do nowo powstałych naczyń krwionośnych, podczas angiogenezy nowotworowej rekrutuje także inne komórki mikrośrodowiska i wraz z TGF- β bierze udział w przejściu epithelialno-mezenchymalnym (EMT). ANGPT2 w prawidłowej angiogenezie może destabilizować naczynia krwionośne (indukując apoptozę w komórkach EC podczas niedoboru VEGF). Natomiast w angiogenezie nowotworowej ANGPT2 bierze udział w rekrutacji komórek TEM (monocytów z receptorem TIE2) i stimuluje powstawanie naczyń zależnych od VEGF [14].

Niektóre komórki nowotworowe, zanim wytworzą własną sieć naczyń krwionośnych, wykorzystują do swego wzrostu prawidłowe naczynia krwionośne gospodarza. W jednym z modeli angiogenezy nowotworowej, tzw. modelu „kryzysu hipoksyjnego” [38] (ryc. 2A), komórki nowotworowe rosnące wokół prawidłowych naczyń wydzielają ANGPT2. Czynniki te destabilizują naczynia prawidłowe indukując w nich apoptozę. Ulegające regresji naczynia prawidłowe powodują powstanie niedotlenienia (hipoksji). Hipoksja stimuluje pojawienie się czynnika transkrypcyjnego HIF-1 α , który z kolei inicjuje transkrypcję i wydzielanie proangiogenego czynnika VEGF. Model ten dość wiernie opisuje powstawanie naczyń krwionośnych w glejakach.

W innym modelu, tzw. „przyspieszonej angiogenezy” [13] (ryc. 2B), komórki nowotworowe, we wstępnej fazie nowotworzenia, również wykorzystują do swego wzrostu prawidłowe naczynia. W komórkach nowotworowych, w których występują mutacje niektórych genów *onc* oraz pewnych genów supresorowych, dochodzi do ekspresji VEGF i powstawania „ograniczonej” angiogenezy. Angiogeneza ta ma wpływ na wzrost proliferacji komórek nowotworowych. W komórkach nowotworowych oddalonych od światła naczyń pojawia się hipoksja, która stimuluje powstawanie HIF-1 α oraz ekspresję VEGF. Według tego modelu mają powstawać naczynia krwionośne w rakach jelita grubego i gruczołu mlecznego u myszy [13].

Oprócz angiogenezy nowotworowej także wgłobienie i waskulogenna mimikra biorą udział w powstawaniu nowotworowych naczyń krwionośnych [18] (ryc. 1). W wyniku wgłobienia, rozpadu większych naczyń na mniejsze, powstaje około 50% nowych naczyń krwionośnych [65].

W tych nowo powstałych małych naczyniach przepływ krwi jest spowolniony.

Waskulogenna mimikra to proces, dzięki któremu powstają unikalne struktury naczyniopodobne. Ściany tych struktur są zbudowane z komórek nowotworowych [25] lub z makrofagów [70], a nawet z komórek tłuszczowych [57]. W naczyniach zbudowanych z komórek nowotworowych, wykazujących pewne cechy komórek macierzystych, może się rozpocząć proces transróżnicowania: fenotypowego przekształcenia komórek nowotworowych w komórki mające cechy komórek EC [17,66,77,84]. Tak powstałe naczynia mogą stanowić 20–90% naczyń nowotworowych [66]. Dane te świadczą, że waskulogenna mimikra odgrywa również istotną rolę w powstawaniu nowotworowych naczyń krwionośnych jak nowotworowa angiogeneza. W procesie nowotworzenia prawdopodobnie w pierwszej kolejności powstają naczyniopodobne struktury. Naczynia powstające z udziałem angiogenezy nowotworowej mają się pojawiać raczej w dalszych etapach nowotworzenia [88]. Opisywane w piśmiennictwie jako naczynia mozaikowe o ścianach zbudowanych z komórek EC i nowotworowych [35], mogą być tzw. naczyniami przejściowymi, w których proces przekształcania komórek nowotworowych w EC jeszcze się nie zakończył.

NOWOTWOROWE NACZYNIA KRWIONOŚNE

Naczynia nowotworowe to naczynia nieprawidłowe, zbudowane z nieprawidłowych komórek śródbłonkowych, z nieprawidłowych perycytów i z nieprawidłowej błony podstawnej [5,54]. Charakteryzują się chaotyczną architekturą – nie można odróżnić żyłek i tętniczek. Komórki EC w naczyniach nowotworowych nie przylegają ściśle do siebie, raczej zachodzą na siebie tworząc wypustki sterczące do światła naczyń. W takich „szorstkich naczyniach” przepływ krwi jest spowolniony. W naczyniach nowotworowych perycyty luźno przylegają do komórek EC. Podobnie luźno przylegają komórki do błony podstawnej. Błona ta może się składać z wielu warstw i różni się swym składem od błony podstawnej naczyń prawidłowych [54]. Między komórkami występują liczne pory i okienka [5]. Naczynia stają się nieszczelne. Zwiększona przepuszczalność ściany naczyniowej prowadzi do powstawania wysięków. W przestrzeni międzykomórkowej obserwuje się także występowanie erytrocytów. Wysokie ciśnienie płynu międzykomórkowego

panujące w nowotworach hamuje dyfuzję tlenu. W przestrzeni międzykomórkowej mogą również powstawać skrzepy. Powstają one, ponieważ na powierzchni komórek nowotworowych jest zwiększona ekspresja czynnika tkankowego (TF) [27]. Natomiast skrzepy powstające wewnątrz naczyń mogą często powodować powstanie zatorów. Odkładająca się w przestrzeni pozakomórkowej fibryna może tworzyć swego rodzaju zastępczą macierz pozakomórkową dla nowo powstających naczyń krwionośnych [54,63]. Chaotyczny przebieg naczyń, nieprawidłowe połączenia między naczyniami, często ślepe odnogi, dodatkowo spowalniają przepływ krwi. W naczyniach nowotworowych może się pojawiać zastój, a nawet cofanie krwi. Oczywistym skutkiem dysfunkcji naczyń jest niedobór tlenu i niedotlenianie komórek nowotworowych [16]. Zmiana metabolizmu komórek z oddychania tlenowego na oddychanie beztlenowe powoduje dodatkowo zakwaszenie środowiska [49].

Sieć nowotworowych naczyń krwionośnych to struktura dynamiczna: większe naczynia rozpadają się na mniejsze (wgłobienie) [18]. Inne mogą ulegać regresji [38]. Zmienny przepływ krwi powoduje powstanie zmiennego niedotlenienia. Niedotlenienie może się pojawiać w różnych miejscach nowotworu i ustępować [16]. Pod wpływem niedotlenienia struktury naczyniopodobne zbudowane z komórek nowotworowych mogą się przekształcać w naczynia zbudowane z EC [77]. O remodelowaniu naczyń, ich przekształcaniach, świadczy wiele warstw błony podstawnej [54].

Nagy i wsp. [56] wyróżnili sześć podstawowych rodzajów naczyń nowotworowych. Głównym naczyniem, pierwszym nowo powstałym jest „naczynie matka”. Jego odnogi: kapilary, naczynia przypominające kłębuszki nerkowe, naczynia zdeformowane nieprawidłowym odkładaniem się perycytów oraz naczynia typu tętnic („odżywiających nowotwory”) czy żył („odprowadzających produkty metabolizmu”) powstają z udziałem angiogenezy.

Osobną grupą naczyń są naczynia („struktury naczyniopodobne”) powstałe w wyniku tzw. waskulogennej mimikry. Mechanizm powstania struktur naczyniopodobnych nie jest dobrze poznany [25]. Przypuszczalnie struktury te powstają w wyniku łączenia się ze sobą kanałów znajdujących się między komórkami nowotworowymi. Kanały te, których ściany zbudowane są z komórek nowotworowych, a nawet z makrofagów czy komórek tucznych [57,70], wewnątrz których znajdują się pochodzące z nieszczelnych naczyń eryocyty, mogą być następnie wbudowane do istniejącej sieci naczyń krwionośnych. Pod wpływem VEGF i panującego w nowotworach niedotlenienia, komórki nowotworowe znajdujące się w strukturach naczyniopodobnych ulegają swoistemu fenotypowemu przekształceniu, transróżnicowaniu do komórek EC [17,66,77,84]. Nowo powstałe komórki mają niektóre cechy fenotypowe charakterystyczne dla komórek EC (np. antygen CD31, CD105) i zachowują mutacyjny profil charakterystyczny dla komórek nowotworowych, z których się wywodzą. Poza tym, w warunkach *in vitro*, wykazują wiele cech charakterystycznych dla komórek macierzystych (m.in. zdolność tworzenia mikrosfer, obecność antygeny CD133) [66,77,84].

Proces transróżnicowania, powstawania komórek EC z innych komórek jest znany od kilku lat. Niektóre dane wskazują, że mieloidalne komórki supresorowe (MDSC) [86] i komórki dendrytyczne [29,78] mogą ulegać przekształceniu

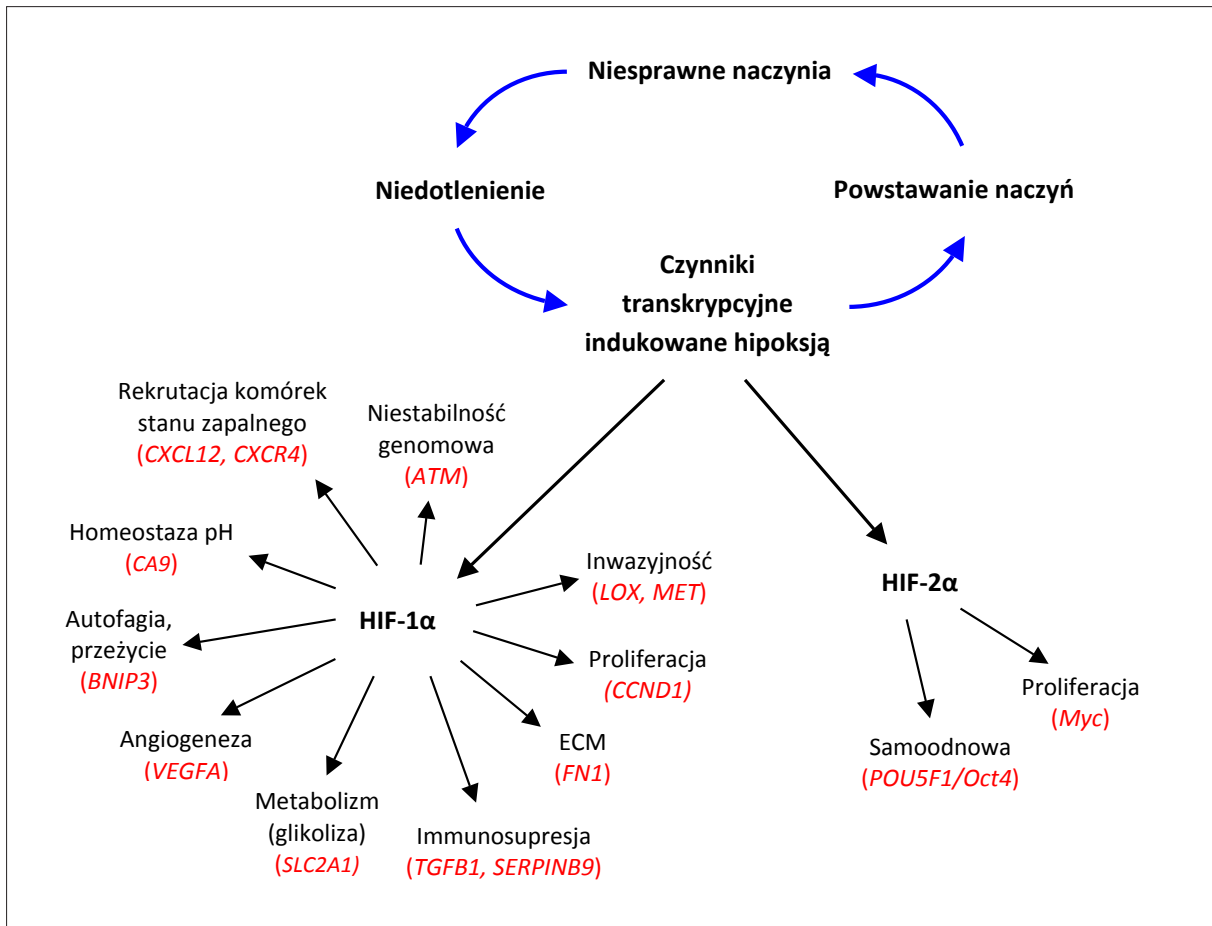
w komórki EC. Procesowi transróżnicowania mogą również ulegać same komórki EC znajdujące się w naczyniach nowotworowych. Komórki EC ulegają fenotypowemu przekształceniu w komórki mezenchymalne (wykazujące cechy chondrocytów i osteoblastów) [19]. W procesie transróżnicowania komórek EC w komórki mezenchymalne (EndMT) powstają także fibroblasty [87]. Proces EndMT może być źródłem powstawania fibroblastów swoistych dla nowotworów (tzw. CAF) [58]. Komórki nowotworowe, zwłaszcza te które mają cechy komórek macierzystych, jak i komórki MDSC, iDC oraz EC, znajdujące się w ścianach nowotworowych naczyń krwionośnych, wykazują nietypową elastyczność: mają zdolność przekształcania się w inne komórki. Niewykluczone, że niedotlenienie może tworzyć swoiste mikrośrodowisko sprzyjające takim procesom transróżnicowania.

NACZYNI NOWOTWOROWE I HIPOKSJA

Budowa naczyń nowotworowych, powstawanie i regresja, ich ustawiczne przekształcanie (remodelowanie) są główną przyczyną zmiennego przepływu krwi [16]. Zmienny przepływ krwi powoduje pojawianie się cyklicznego, zmiennego niedotlenienia (hipoksji). Brak tlenu kompensowany jest przez komórki nowotworowe zwiększonym wydzielaniem czynników proangiogennych i wzmocnionym powstawaniem nowych naczyń krwionośnych oraz metabolicznym przeprogramowaniem. W niedotlenionych komórkach, także w niektórych komórkach mikrośrodowiska (np. makrofagach), indukowane są dwa czynniki transkrypcyjne: HIF-1 α i HIF-2 α [28]. HIF1- α jest indukowany niewielkim stężeniem O₂ ($\leq 1\%$). Czynniki te stymulują ekspresję genów odpowiedzialnych za metabolizm komórek (glikolizę), angiogenezę, autofagię i przeżycie (przetrwanie), homeostazę pH, proliferację, immunosupresję oraz samodzielne przemieszczanie się (mobilność). HIF1- α indukuje również transkrypcję genów warunkujących oporność niedotlenionych komórek nowotworowych na leki i promieniowanie [7,10,46,47]. Natomiast HIF-2 α indukowany jest wyższym stężeniem O₂ (2–5%). Czynniki te stymulują ekspresję genów swoistych dla komórek macierzystych, np.: *POU5F1 (Oct4)* i *Sox2* [33,51,53,71] (ryc. 3).

Niedotlenienie indukuje zatem czynniki proangiogenne biorące udział w powstawaniu naczyń, a powstające nieprawidłowe nowotworowe naczynia krwionośne, zamiast coraz to lepszego utleniania komórek nowotworowych, paradoksalnie powodują niedotlenianie znacznych obszarów guzów nowotworowych [16]. Jest to klasyczny przykład „błędnego koła”: niedotlenianie indukuje powstanie nowych naczyń, a nowe niesprawne naczynia są główną przyczyną niedotlenienia [45] (ryc. 3).

Wiele danych wskazuje na istotny wpływ niedotlenienia na progresję nowotworową. W wyniku niestabilności genomowej spowodowanej niedotlenieniem w nowotworach mogą się pojawić nowe warianty genetyczne komórek nowotworowych [11]. Dzięki indukowanemu przez niedotlenienie, procesowi EMT (przejściu epitelialno-mezenchymalnemu) komórki nowotworowe uzyskują zdolność do samodzielnego przemieszczania się [61]. W komórkach nowotworowych, podległych procesowi EMT, ujawniają się fenotypowe cechy charakterystyczne dla komórek macierzystych, np. zdolność do samoodnowy, oporność na sygnały proapoptotyczne czy oporność na sygnały starzenia (senescence). Komórki takie ulegają zezłżliwieniu, wzrasta ich



Ryc. 3. Schemat tzw. „błędnego koła”: zależność między powstawaniem naczyń a niedotlenieniem. Przedstawiono także najważniejsze grupy ludzkich genów indukowanych przez HIF-1α i HIF-2α (**ATM** – ataxia telangiectasia mutated; **BNIP3** – BCL2/adenovirus E1B 19kDa interacting protein 3; **CA9** – carbonic anhydrase IX; **CCND1** – cyclin D1; **CXCL12** – chemokine (C-X-C motif) ligand 12; **CXCR4** – chemokine (C-X-C motif) receptor 4; **FN1** – fibronectin 1; **LOX** – lysyl oxidase; **MET** – met proto-oncogene (hepatocyte growth factor receptor); **Myc** – v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian); **POU5F1 (Oct4)** – POU class 5 homeobox 1; **SERPINB9** – serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 9; **SLC2A1** – solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 1; **TGFB1** – transforming growth factor, beta 1; **VEGFA** – vascular endothelial growth factor) oraz ważniejsze procesy indukowane przez te dwa czynniki transkrypcyjne

tumorogennosc. W procesie EMT obserwuje się także proces transróżnicowania komórek śródbłonkowych do fibroblastów charakterystycznych dla nowotworów (CAF) [58].

Najogólniej rzecz biorąc, naczynia nowotworowe pełnią trzy podstawowe funkcje (ryc. 4).

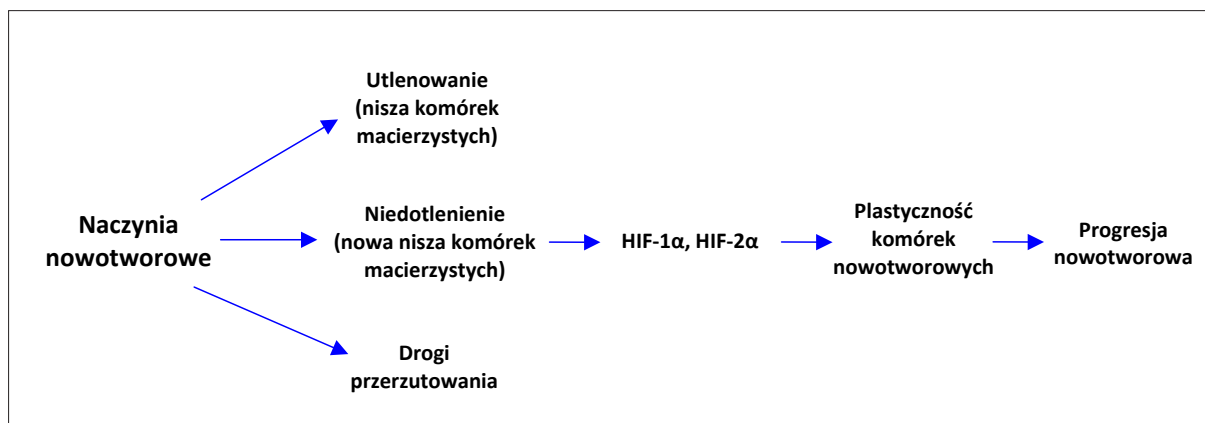
1. Nowotworowe naczynia krwionośne są drogami przetrzutowania komórek nowotworowych [75].
2. Tam, gdzie to możliwe naczynia nowotworowe zapewniają utlenianie komórkom nowotworowym i mikrośrodoowisku (dotyczy to głównie komórek sąsiadujących z naczyniami). Dodajmy, że komórki mające cechy komórek macierzystych rezydują w miejscach dobrze utlenianych, w sąsiedztwie naczyń nowotworowych (w tzw. niszach) [8]. W niszach takich może dochodzić do różnicowania komórek macierzystych.
3. Dzięki swej nieprawidłowej architekturze i budowie naczynia nowotworowe powodują powstawanie zmiennego przepływu krwi, który z kolei powoduje powstanie zmiennego niedotlenienia komórek nowotworowych [16].

Niedotlenienie stymuluje przekształcanie komórek nietumorogennych w komórki tumorogenne [34]. Pojęcie komórek

tumorogennych jest definiowane operacyjnie: komórkami tumorogennymi są te komórki nowotworowe, które wywołują powstawanie nowotworu po ortotopowym przeszczepieniu komórek nowotworowych odpowiednim zwierzętom. Dodajmy, że w guzach nowotworowych znajdują się komórki nowotworowe, z których nie powstaje nowotwór [12,30]. W komórkach tumorogennych ujawniają się także cechy typowe dla komórek macierzystych [34]. Niewykluczone, że pojawienie się w komórkach nowotworowych właśnie cech komórek macierzystych sprawia, że komórki nowotworowe stają się komórkami niezwykle elastycznymi, zdolnymi choćby do procesu transróżnicowania. Niedotlenienie hamuje proces różnicowania komórek macierzystych (np.: komórek macierzystych glejaków do astrocytów, oligodendrocytów i neuronów) [34,40,71], ale bierze także udział w procesie transróżnicowania: powstawania komórek EC z komórek nowotworowych [77].

NOWOTWOROWE NACZYNIENIA KRWIONOŚNE JAKO CELE TERAPEUTYCZNE

Założenia terapii są oczywiste: skoro wzrost nowotworów zależy od własnej sieci naczyń krwionośnych, to zahamowanie powstawania tej sieci lub jej wręcz uszkodzenie,



Ryc. 4. Schemat najważniejszych funkcji naczyń nowotworowych. Rola naczyń nowotworowych w progresji nowotworowej

czy też niszczenie, powinno wpłynąć na zahamowanie wzrostu nowotworów [26]. W pierwszym wypadku, w celu zahamowania proliferacji komórek śródbłonkowych, stosuje się inhibitory hamujące aktywność głównego czynnika proangiogenego VEGF lub też inhibitory hamujące aktywność niektórych jego receptorów [52]. W drugim wypadku stosuje się leki, które wywołują w komórkach śródbłonkowych śmierć nekrotyczną, są to tzw. leki antynaczyniowe [79]. Śmierć nekrotyczna jest jednak główną przyczyną wznowy nowotworowej. Z obumierających komórek uwalniane jest białko HMGB1. Ta wielofunkcyjna cytokina jest nie tylko czynnikiem proangiogenym. Ma także zdolność mobilizowania ze szpiku i z krwiobiegu komórek reakcji zapalnej, które biorą udział w odbudowie i regeneracji uszkodzonych tkanek [82].

Jak dotąd, z wielu zaprojektowanych i badanych leków antyangiogenych tylko cztery uzyskały aprobatę agencji FDA (Food and Drug Administration) [21]. Są to bewacizumab (awastin), swoiste przeciwciało skierowane przeciwko VEGF oraz trzy niskocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych: sorafenib, sunitinib i pazopanib. Sorafenib rozpoznaje i swoiście hamuje aktywność VEGFR2, VEGFR3, B-Raf, PDGFR, FGFR1, c-kit. Sunitinib działa natomiast swoiście na VEGFR1, VEGFR2, FLT3, PDGFR a i b, c-kit, c-Ret, a pazopanib na VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, PDGFR, c-kit [3]. Leki te przebadano u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuc, jelita grubego, nerki, wątroby, piersi, a także u chorych na nowotwory podścieliska przewodu pokarmowego [21].

Bewacizumab stosowany w dawkach 5 mg/kg m.c., w połączeniu z fluorouracylem i leukoworyną, wydłuża medianę przeżycia pacjentów z rakiem jelita grubego do 21,5 miesiąca. Paradoksalnie, mediana przeżycia pacjentów leczonych wyższą dawką (10 mg/kg) bewacizumabu w kombinacji z fluorouracylem i leukoworyną wynosiła 16,1 miesiąca, a dla grupy otrzymującej tylko fluorouracyl i leukoworynę: 13,9 miesiąca [44].

Długotrwałe stosowanie leków antyangiogenych napotyka jednak na nieoczekiwane trudności. Nie dość, że komórki śródbłonkowe stają się odporne na działanie leków antyangiogenych [23] to, co gorsze, leki antyangiogenne stymulują wzrost inwazyjności komórek nowotworowych i powstawanie przerzutów [22,60].

Oporność komórek EC na leki antyangiogenne może mieć różne przyczyny. Jeśli w procesie angiogenezy bierze udział wiele różnych czynników proangiogenych to zrozumiałe, że zahamowanie aktywności jednego z nich może być skompensowane aktywnością innych czynników proangiogenych, wydzielanych przez komórki mikrośrodowiska. Zahamowanie aktywności VEGF może być zrekompensowane proangiogenym czynnikiem Bv8 wydzielanym przez supresorowe komórki MDSC (CD11⁺Gr1⁺) [74]. Leki antyangiogenne (swoiste inhibitory proliferacji komórek śródbłonkowych) nie będą działały na naczynia krwionośne, które powstają bez udziału proliferacji komórek, np. na naczynia powstałe w wyniku wgłobienia. Opornymi na wiele leków, nie tylko na leki antyangiogenne, są komórki śródbłonkowe, w których obserwuje się niestabilność genomową [36,37], jak i komórki EC wywodzące się z komórek nowotworowych, w których jest niski poziom VEGFR2 [77]. Niewykluczone, że nowo powstałe komórki EC, podobnie jak macierzyste komórki nowotworowe, mają także dużą aktywność genów oporności wielolekowej [40].

Nieoczekiwane zjawisko stymulacji inwazyjności komórek nowotworowych i powstawania przerzutów przez leki antyangiogenne może być spowodowane powstającą w nowotworach tzw. polekową hipoksją [21]. Hipoksja ta może mieć wpływ na pojawienie się białek, takich jak HMGB1, a także powstawanie EMT, supresję czynników antymetastatycznych, mobilizację ze szpiku różnych komórek, które mogą brać udział w powstawaniu niszy premetastatycznej, dysfunkcję perycytów, aktywację niektórych szlaków sygnałowych związanych z reakcją zapalną. Problem oporności na leki antyangiogenne, stymulacja przez te leki inwazyjności i powstawania przerzutów, staje się obecnie ważnym problemem w terapii przeciwnowotworowej [21].

*

Próby wyjaśnienia roli unaczynienia w procesie nowotworzenia, w miarę upływu lat, ulegały różnym modyfikacjom i korektom. Dziś wiemy, że nowotwory nie muszą być uzależnione od angiogenezy. Mogą się rozwijać bez udziału własnych naczyń krwionośnych wykorzystując do swego wzrostu naczynia prawidłowe gospodarza [69]. Natomiast w nowotworach, których wzrost uzależniony jest od własnego unaczynienia, angiogeneza nowotworowa nie jest jedynym mechanizmem biorącym udział w powstawaniu naczyń nowotworowych [18]. Struktury naczyniopodobne, zbudowane

z komórek nowotworowych lub z różnych komórek mikrośrodowiska, wydają się odgrywać równie istotną rolę w powstawaniu naczyńnowości jak angiogeneza [25]. Niesprawne, zdefektowane naczynia nowotworowe i spowodowane przez nie niedotlenienie odgrywają ważną rolę w progresji nowotworowej [11,16,49]. Pod wpływem niedotlenienia komórki nowotworowe stają się komórkami coraz bardziej inwazyjnymi, coraz bardziej złośliwymi. W niedotlenionych naczyniach pojawia się też szczególny proces transdiferencjacji: przekształcania komórek nowotworowych w komórki śródbłonkowe naczyń krwionośnych. Last, not least,

komórki śródbłonkowe naczyń nowotworowych stają się odporne na większość stosowanych leków [21]. W dodatku, leki antyangiogenne stymulują inwazyjność i powstawanie przerzutów. Co nowego nas jeszcze czeka?

Artykuł pozwolimy sobie zakończyć cytatem zaczerpniętym z książki F. Jacoba „Historia i dziedziczność” puentującym nasze wywody: „Świat składa się dziś z przekazów, kodów, informacji. Jakie cięcie przegrupuje jutro nasze przedmioty, by ułożyć je ponownie w nowej przestrzeni? Jaka nowa niespodzianka się z nich wyłoni?” [43].

PIŚMIENNICTWO

- [1] Adams R.H., Alitalo K.: Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2007; 8: 464–478
- [2] Ahmed Z., Bicknell R.: Angiogenic signalling pathways. W: *Methods in Molecular Biology, Angiogenesis Protocols*, red.: S. Martin, C. Murray. Humana Press, Springer, New York, 2009; 467: 3–24
- [3] Azam F., Mehta S., Harris A.L.: Mechanisms of resistance to antiangiogenic therapy. *Eur. J. Cancer*, 2010; 46: 1323–1332
- [4] Baeriswyl V., Christofori G.: The angiogenic switch in carcinogenesis. *Semin. Cancer Biol.*, 2009; 19: 329–337
- [5] Baluk P., Hashizume H., McDonald D.M.: Cellular abnormalities of blood vessels as targets in cancer. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2005; 15: 102–111
- [6] Bennaceur K., Chapman J.A., Touraine J.L., Portoukalian J.: Immunosuppressive networks in the tumour environment and their effect in dendritic cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009; 1795: 16–24
- [7] Bertout J.A., Patel S.A., Simon M.C.: The impact of O₂ availability on human cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2008; 8: 967–975
- [8] Borovski T., De Sousa E., Melo F., Vermeulen L., Medema J.P.: Cancer stem cell niche: the place to be. *Cancer Res.*, 2011; 71: 634–639
- [9] Box C., Rogers S.J., Mendiola M., Eccles S.A.: Tumour-microenvironmental interactions: paths to progression and targets for treatment. *Semin. Cancer Biol.*, 2010; 20: 128–138
- [10] Brahimi-Horn M.C., Chiche J., Pouyssegur J.: Hypoxia and cancer. *J. Mol. Med.*, 2007; 85: 1301–1307
- [11] Bristow R.G., Hill R.P.: Hypoxia and metabolism. Hypoxia, DNA repair and genetic instability. *Nat. Rev. Cancer*, 2008; 8: 180–192
- [12] Campbell L.L., Polyak K.: Breast tumor heterogeneity: cancer stem cells or clonal evolution? *Cell Cycle*, 2007; 6: 2332–2338
- [13] Cao Y., Li C.Y., Moeller B.J., Yu D., Zhao Y., Dreher M.R., Shan S., Dewhirst M.W.: Observation of incipient tumor angiogenesis that is independent of hypoxia and hypoxia inducible factor-1 activation. *Cancer Res.*, 2005; 65: 5498–5505
- [14] Chung A.S., Lee J., Ferrara N.: Targeting the tumour vasculature: insights from physiological angiogenesis. *Nat. Rev. Cancer*, 2010; 10: 505–514
- [15] Cueni L.N., Detmar M.: Lymphatic vascular system and lymphangiogenesis. W: *Angiogenesis. An Integrative Approach From Science to Medicine*, red.: W.D. Figg, J. Folkman. Springer, New York 2008, 505–516
- [16] Dewhirst M.W., Cao Y., Moeller B.: Cycling hypoxia and free radicals regulate angiogenesis and radiotherapy response. *Nat. Rev. Cancer*, 2008; 8: 425–437
- [17] Dong J., Zhao Y., Huang Q., Fei X., Diao Y., Shen Y., Xiao H., Zhang T., Lan Q., Gu X.: Glioma stem/progenitor cells contribute to neovascularization via transdifferentiation. *Stem Cell Rev. Rep.*, 2011; 7: 141–152
- [18] Dóme B., Hendrix M.J., Paku S., Tóvári J., Tímár J.: Alternative vascularization mechanisms in cancer: Pathology and therapeutic implications. *Am. J. Pathol.*, 2007; 170: 1–15
- [19] Dudley A.C., Khan Z.A., Shih S.C., Kang S.Y., Zwaans B.M., Bischoff J., Klagsbrun M.: Calcification of multipotent prostate tumor endothelium. *Cancer Cell*, 2008; 14: 201–211
- [20] Dvorak H.F.: Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N. Engl. J. Med.*, 1986; 315: 1650–1659
- [21] Ebos J.M., Kerbel R.S.: Antiangiogenic therapy: impact on invasion, disease progression, and metastasis. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2011; 8: 210–221
- [22] Ebos J.M., Lee C.R., Cruz-Munoz W., Bjarnason G.A., Christensen J.G., Kerbel R.S.: Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis. *Cancer Cell*, 2009; 15: 232–239
- [23] Ellis L.M., Hicklin D.J.: Pathways mediating resistance to vascular endothelial growth factor-targeted therapy. *Clin. Cancer Res.*, 2008; 14: 6371–6375
- [24] Fang S., Salven P.: Stem cells in tumor angiogenesis. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2011; 50: 290–295
- [25] Folberg R., Maniatis A.J.: Vasculogenic mimicry. *APMIS*, 2004; 112: 508–525
- [26] Folkman J.: Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N. Engl. J. Med.*, 1971; 285: 1182–1186
- [27] Garnier D., Milsom C., Magnus N., Meehan B., Weitz J., Yu J., Rak J.: Role of the tissue factor pathway in the biology of tumor initiating cells. *Thromb. Res.*, 2010; 125: S44–S50
- [28] Gordan J.D., Simon M.C.: Hypoxia-inducible factors: central regulators of the tumor phenotype. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2007; 17: 71–77
- [29] Gottfried E., Kreutz M., Haffner S., Holler E., Iacobelli M., Andreesen R., Eissner G.: Differentiation of human tumour-associated dendritic cells into endothelial-like cells: an alternative pathway of tumour angiogenesis. *Scand. J. Immunol.*, 2007; 65: 329–335
- [30] Gupta P.B., Chaffer C.L., Weinberg R.A.: Cancer stem cells: mirage or reality? *Nat. Med.*, 2009; 15: 1010–1012
- [31] Hanahan D., Weinberg R.A.: The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000; 100: 57–70
- [32] Hanahan D., Weinberg R.A.: Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011; 144: 646–674
- [33] Heddleston J.M., Li Z., Hjelmeland A.B., Rich J.N.: The hypoxic microenvironment maintains glioblastoma stem cells and promotes reprogramming towards a cancer stem cell phenotype. *Cell Cycle*, 2009; 8: 3274–3284
- [34] Heddleston J.M., Li Z., Lathia J.D., Bao S., Hjelmeland A.B., Rich J.N.: Hypoxia inducible factors in cancer stem cells. *Br. J. Cancer*, 2010; 102: 789–795
- [35] Hendrix M.J., Sefter E.A., Hess A.R., Sefter R.E.: Vasculogenic mimicry and tumour-cell plasticity: lessons from melanoma. *Nat. Rev. Cancer*, 2003; 3: 411–421
- [36] Hida K., Hida Y., Shindoh M.: Understanding tumor endothelial cell abnormalities to develop ideal anti-angiogenic therapies. *Cancer Sci.*, 2008; 99: 459–466
- [37] Hida K., Klagsbrun M.: A new perspective on tumor endothelial cells: unexpected chromosome and centrosome abnormalities. *Cancer Res.*, 2005; 65: 2507–2510
- [38] Holash J., Maisonpierre P.C., Compton D., Boland P., Alexander C.R., Zagzag D., Yancopoulos G.D., Wiegand S.J.: Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF. *Science*, 1999; 284: 1994–1998
- [39] Hu M., Polyak K.: Microenvironmental regulation of cancer development. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2008; 18: 27–34
- [40] Huse J.T., Holland E.C.: Targeting brain cancer: advances in the molecular pathology of malignant glioma and medulloblastoma. *Nat. Rev. Cancer*, 2010; 10: 319–331
- [41] Iruela-Arispe M.L.: Endothelial cell activation. W: *Angiogenesis. An Integrative Approach From Science to Medicine*, red.: W.D. Figg, J. Folkman. Springer, New York 2008, 35–43
- [42] Iruela-Arispe M.L., Davis G.E.: Cellular and molecular mechanisms of vascular lumen formation. *Dev. Cell*, 2009; 16: 222–231

- [43] Jacob F.: Historia i dziedziczność. Przel. K. Pomian, PIW, Warszawa, 1973; s. 439
- [44] Kabbinar F., Hurwitz H.I., Fehrenbacher L., Meropol N.J., Novotny W.F., Lieberman G., Griffing S., Bergsland E.: Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2003; 21: 60–65
- [45] Kaur B., Khwaja F.W., Severson E.A., Matheny S.L., Brat D.J., Van Meir E.G.: Hypoxia and the hypoxia-inducible-factor pathway in glioma growth and angiogenesis. *Neuro. Oncol.*, 2005; 7: 134–153
- [46] Keith B., Simon M.C.: Hypoxia-inducible factors, stem cells, and cancer. *Cell*, 2007; 129: 465–472
- [47] Kenneth N.S., Rocha S.: Regulation of gene expression by hypoxia. *Biochem. J.*, 2008; 414: 19–29
- [48] Kerbel R.S.: Tumor angiogenesis. *N. Engl. J. Med.*, 2008; 358: 2039–2049
- [49] Kroemer G., Pouyssegur J.: Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. *Cancer Cell*, 2008; 13: 472–482
- [50] Le Bitoux M.A., Stamenkovic I.: Tumor-host interactions: the role of inflammation. *Histochem. Cell Biol.*, 2008; 130: 1079–1090
- [51] Li Z., Bao S., Wu Q., Wang H., Eyer C., Sathornsumetee S., Shi Q., Cao Y., Lathia J., McLendon R.E., Hjelmeland A.B., Rich J.N.: Hypoxia-inducible factors regulate tumorigenic capacity of glioma stem cells. *Cancer Cell*, 2009; 15: 501–513
- [52] Maity A., Bernhard E.J.: Modulating tumor vasculature through signaling inhibition to improve cytotoxic therapy. *Cancer Res.*, 2010; 70: 2141–2145
- [53] McCord A.M., Jamal M., Shankavarum U.T., Lang F.F., Camphausen K., Tofilon P.J.: Physiologic oxygen concentration enhances the stem-like properties of CD133⁺ human glioblastoma cells *in vitro*. *Mol. Cancer Res.*, 2009; 7: 489–497
- [54] McDonald D.M., Baluk P.: Significance of blood vessel leakiness in cancer. *Cancer Res.*, 2002; 62: 5381–5385
- [55] Murdoch C., Muthana M., Coffelt S.B., Lewis C.E.: The role of myeloid cells in the promotion of tumor angiogenesis. *Nat. Rev. Cancer*, 2008; 8: 618–631
- [56] Nagy J.A., Chang S.H., Shih S.C., Dvorak A.M., Dvorak H.F.: Heterogeneity of the tumor vasculature. *Semin. Thromb. Hemost.*, 2010; 36: 321–331
- [57] Nico B., Mangieri D., Crivellato E., Vacca A., Ribatti D.: Mast cells contribute to vasculogenic mimicry in multiple myeloma. *Stem Cells Dev.*, 2008; 17: 19–22
- [58] Östman A., Augsten M.: Cancer-associated fibroblasts and tumor growth – bystanders turning into key players. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2009; 19: 67–73
- [59] Patenaude A., Parker J., Karsan A.: Involvement of endothelial progenitor cells in tumor vascularization. *Microvasc. Res.*, 2010; 79: 217–223
- [60] Páez-Ribes M., Allen E., Hudock J., Takeda T., Okuyama H., Viñals F., Inoue M., Bergers G., Hanahan D., Casanovas O.: Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis. *Cancer Cell*, 2009; 15: 220–231
- [61] Polyak K., Weinberg R.A.: Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat. Rev. Cancer*, 2009; 9: 265–273
- [62] Purhonen S., Palm J., Rossi D., Kaskenpää N., Rajantie I., Ylä-Herttuala S., Alitalo K., Weissman I.L., Salven P.: Bone marrow-derived circulating endothelial precursors do not contribute to vascular endothelium and are not needed for tumor growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 6620–6625
- [63] Rak J.: Onkogeny jako modyfikatory procesów naczyniowych w nowotworach. *Nowotwory*, 2006; 56: 57–79
- [64] Raza A., Franklin M.J., Dudek A.Z.: Pericytes and vessel maturation during tumor angiogenesis and metastasis. *Am. J. Hematol.*, 2010; 85: 593–598
- [65] Ribatti D., Vacca A.: Overview of angiogenesis during tumor growth. *W: Angiogenesis. An Integrative Approach From Science to Medicine*, red.: W.D. Figg, J. Folkman. Springer, New York 2008, 161–168
- [66] Ricci-Vitiani L., Pallini R., Biffoni M., Todaro M., Invernici G., Cenci T., Maira G., Parati E.A., Stassi G., Larocca L.M., De Maria R.: Tumour vascularization via endothelial differentiation of glioblastoma stem-like cells. *Nature*, 2010; 468: 824–828
- [67] Richardson M.R., Yoder M.C.: Endothelial progenitor cells: Quo Vadis? *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2011; 50: 266–272
- [68] Sacewicz I., Wiktorska M., Wysocki T., Niewiarowska J.: Mechanizmy angiogenezy nowotworowej. *Postepy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 159–168
- [69] Sakariassen P.Ø., Prestegarden L., Wang J., Skafnesmo K.O., Mahesparan R., Molthoff C., Sminia P., Sundliseter E., Misra A., Tysnes B.B., Chekenya M., Peters H., Lende G., Kalland K.H., Øyan A.M., Petersen K., Jonassen I., van der Kogel A., Feuerstein B.G., Terzis A.J.A., Bjerkvig R., Enger P.Ø.: Angiogenesis-independent tumor growth mediated by stem-like cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 16466–16471
- [70] Scavelli C., Nico B., Cirulli T., Ria R., Di Pietro G., Mangieri D., Bacigalupo A., Mangialardi G., Coluccia A.M., Caravita T., Molica S., Ribatti D., Dammacco F., Vacca A.: Vasculogenic mimicry by bone marrow macrophages in patients with multiple myeloma. *Oncogene*, 2008; 27: 663–674
- [71] Seidel S., Garvalov B.K., Wirta V., von Stechow L., Schänzer A., Meletis K., Wolter M., Sommerlad D., Henze A.T., Nistér M., Reifenberger G., Lundeberg J., Frisén J., Acker T.: A hypoxic niche regulates glioblastoma stem cells through hypoxia inducible factor 2 α . *Brain*, 2010; 133: 983–995
- [72] Shchors K., Evan G.: Tumor angiogenesis: cause or consequence of cancer? *Cancer Res.*, 2007; 67: 7059–7061
- [73] Shibuya M.: Vascular permeability/vascular endothelial growth factor. *W: Angiogenesis. An Integrative Approach From Science to Medicine*, red.: W.D. Figg, J. Folkman. Springer, New York 2008, 89–98
- [74] Shojaei F., Ferrara N.: Refractoriness to antivascular endothelial growth factor treatment: role of myeloid cells. *Cancer Res.*, 2008; 68: 5501–5504
- [75] Sivridis E., Giatromanolaki A., Koukourakis M.I.: The vascular network of tumours - what is it not for? *J. Pathol.*, 2003; 201: 173–180
- [76] Skóra J., Biegus J., Pupka A., Barć P., Sikora J., Szyber P.: Molekularne podstawy angiogenezy. *Postepy Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 410–415
- [77] Soda Y., Marumoto T., Friedmann-Morvinski D., Soda M., Liu F., Michiue H., Pastorino S., Yang M., Hoffman R.M., Kesari S., Verma I.M.: Transdifferentiation of glioblastoma cells into vascular endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 4274–4280
- [78] Sozzani S., Rusnati M., Riboldi E., Mitola S., Presta M.: Dendritic cell-endothelial cell cross-talk in angiogenesis. *Trends Immunol.*, 2007; 28: 385–392
- [79] Szala S.: Two-domain vascular disruptive agents in cancer therapy. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2004; 4: 501–509
- [80] Szala S.: Angiogeneza i immunosupresja: jin i jang progresji nowotworów? *Postepy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 598–612
- [81] Szala S., Mitrus I., Sochanik A.: Can inhibition of angiogenesis and stimulation of immune response be combined into a more effective antitumor therapy? *Cancer Immunol. Immunother.*, 2010; 59: 1449–1455
- [82] Tang D., Kang R., Zeh H.J.3rd, Lotze M.T.: High-mobility group box 1 and cancer. *Biochim. Biophys. Acta*, 2010; 1799: 131–140
- [83] Taylor S.M., Nevis K.R., Park H.L., Rogers G.C., Rogers S.L., Cook J.G., Bautch V.L.: Angiogenic factor signaling regulates centrosome duplication in endothelial cells of developing blood vessels. *Blood*, 2010; 116: 3108–3117
- [84] Wang R., Chadalavada K., Wilshire J., Kowalik U., Hovinga K.E., Geber A., Fligelman B., Leversha M., Brennan C., Tabar V.: Glioblastoma stem-like cells give rise to tumour endothelium. *Nature*, 2010; 468: 829–833
- [85] Wong M.L., Prawira A., Kaye A.H., Hovens C.M.: Tumour angiogenesis: its mechanism and therapeutic implications in malignant gliomas. *J. Clin. Neurosci.*, 2009; 16: 1119–1130
- [86] Yang L., DeBusk L.M., Fukuda K., Fingleton B., Green-Jarvis B., Shyr Y., Matrisian L.M., Carbone D.P., Lin P.C.: Expansion of myeloid immune suppressor Gr⁺CD11b⁺ cells in tumor-bearing host directly promotes tumor angiogenesis. *Cancer Cell*, 2004; 6: 409–421
- [87] Zeisberg E.M., Potenta S., Xie L., Zeisberg M., Kalluri R.: Discovery of endothelial to mesenchymal transition as a source for carcinoma-associated fibroblasts. *Cancer Res.*, 2007; 67: 10123–10128
- [88] Zhang S., Guo H., Zhang D., Zhang W., Zhao X., Ren Z., Sun B.: Microcirculation patterns in different stages of melanoma growth. *Oncol. Rep.*, 2006; 15: 15–20
- [89] Zumsteg A., Christofori G.: Corrupt policemen: inflammatory cells promote tumor angiogenesis. *Curr. Opin. Oncol.*, 2008; 21: 60–70

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.