

Angiopoetyny, obok czynników wzrostu, enzymów proteolitycznych oraz cząstek adhezyjnych, uczestniczą w procesie angiogenezy, także nowotworowej. Angiopoetyny 1 i 2 są ligandami receptora o aktywności kinazy tyrozynowej Tie-2, specyficznego dla komórek śródbłonka naczyń. Za wiązanie angiopoetyn z receptorem odpowiedzialna jest domena karboksykońcowa, natomiast domena aminokońcowa umożliwia ich polimeryzację, konieczną do aktywacji receptora. Angiopoetyny 1 i 2 wykazują podobną zdolność wiązania z receptorem Tie-2, z tym że angiopoetyna 1 (Ang-1) jest agonistą, a angiopoetyna 2 (Ang-2) antagonistą. Angiopoetyna 1 aktywuje receptor przez indukcję fosforylacji tyrozyny, transdukcja sygnału komórkowego odbywa się z udziałem kinaz białkowych, natomiast Ang-2 hamuje ten szlak. Funkcje Ang-1 i Ang-2 w procesie angiogenezy są w zasadzie przeciwstawne. Angiopoetyna 1 odpowiada za integralność naczyń przez stymulację migracji i adhezji komórek śródbłonka oraz hamowanie apoptozy. Działanie Ang-2 zależne jest od warunków. Przy braku naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (ang. *vascular endothelial growth factor* – VEGF) powoduje regresję naczyń, natomiast w obecności dużych stężeń VEGF stymuluje proces angiogenezy. Szybka proliferacja komórek nowotworowych powoduje miejscowe niedotlenienie. Z kolei czynnik indukowany hipoksją 1α (ang. *hypoxia inducible factor 1\alpha* – HIF- 1α) stymuluje syntezę angiopoetyn, zwłaszcza Ang-2. Niewątpliwie angiopoetyny uczestniczą w regulacji angiogenezy nowotworowej, jednak wyniki dotychczasowych badań zarówno doświadczalnych, jak i klinicznych są niejednoznaczne lub wręcz sprzeczne.

Słowa kluczowe: angiopoetyny, angiogeneza nowotworowa.

Rola angiopoetyn 1 i 2 w regulacji angiogenezy nowotworowej

The role of angiopoietins 1 and 2 in the regulation of tumor angiogenesis

Ewa Kopczyńska¹, Roman Makarewicz², Tomasz Tyrakowski¹

¹Katedra i Zakład Patobiochemii i Chemii Klinicznej, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

²Katedra i Klinika Onkologii i Brachyterapii, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Wprowadzenie

Angiogeneza, również nowotworowa, jest wieloetapowym procesem tworzenia nowych naczyń krwionośnych na bazie już istniejących. Rozpoczyna się od pobudzenia komórek śródbłonka przez czynniki proangiogenne, głównie VEGF i zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (ang. *basic fibroblast growth factor* – bFGF). Degradacja błony podstawnej naczyń i macierzy zewnątrzkomórkowej z udziałem enzymów proteolitycznych, w tym metaloproteinaz, umożliwia migrację komórek śródbłonka. W sprzyjających warunkach komórki te proliferują, a następnie wraz z perycytami (komórki przydanki) i komórkami mięśni gładkich z udziałem cząsteczek adhezyjnych tworzą strukturę naczyniową. Ostatnim etapem tworzenia naczyń jest ich dojrzewanie i stabilizacja z udziałem m.in. angiopoetyn.

Dotychczas zidentyfikowano 3 angiopoetyny – Ang-1, Ang-2 i Ang-4. Spośród nich najlepiej poznane są Ang-1 i Ang-2.

Ogólna charakterystyka angiopoetyn 1 i 2

Angiopoetyna 1 została zidentyfikowana przez Daviesa i wsp. [1] w 1996 r., jako wydzielniczy ligand receptora Tie-2, zbudowany z 498 aminokwasów. Jest kodowana przez gen *ANGPT1*, zlokalizowany na chromosomie 8q22.3-q23 [2]. Gen zbudowany jest z 9 eksonów; eksony 1–5 kodują N-końcową domenę spiralną i region *hinge*, natomiast eksony 6–9 – domenę C-końcową, podobną do fibrynogenu [3].

Angiopoetyna 1 wykazuje ekspresję głównie w perycytach, fibroblastach i komórkach mięśni gładkich [1], natomiast na komórki śródbłonka działa w sposób parakryny [1]. Ekspresja jest regulowana przez czynnik indukowany hipoksją (HIF- 1α) [4]. Ponieważ Ang-1 jest nie tylko wydzielana, ale i włączana za pośrednictwem peptydu łączącego do macierzy zewnątrzkomórkowej, jej działanie jest głównie miejscowe [5]. Wiążąc się z receptorem Tie-2, powoduje jego autofosforylację, a w konsekwencji indukuje migrację, adhezję i przeżycie komórek śródbłonka [6].

Angiopoetynę 2 (Ang-2) zidentyfikowali Maisonpierre i wsp. [7] w 1997 r. Okazało się, że jest to naturalnie występujący antagonistą receptora Tie-2, zbudowany z 496 aminokwasów. Sekwencja aminokwasowa Ang-2 w 60% jest identyczna z sekwencją Ang-1 [7]. Angiopoetyna 2 jest kodowana przez gen *ANGPT2* zlokalizowany na chromosomie 8p23 [2]. Podobnie jak *ANGPT1*, gen *ANGPT2* zbudowany jest z 9 eksonów kodujących identyczne domeny [3].

Angiopoetyna 2 wykazuje ekspresję w komórkach śródbłonka w miejscach przebudowy naczyń (działanie autokryny) [7] i osłabia oddziaływanie pomiędzy komórkami śródbłonka i otaczającymi je komórkami, zwłaszcza perycytami [6]. Regulacja ekspresji odbywa się z udziałem HIF- α i VEGF [4].

Angiopoietins, besides growth factors, proteolytic enzymes and adhesive molecules, participate in angiogenesis, and also tumours.

Angiopoietins 1 and 2 are ligands of the receptor tyrosine kinase Tie-2, specific for endothelial cells. The carboxy-terminal domain is responsible for receptor binding, while the amino-terminal domain enables multimerization of them, necessary for receptor activation. Angiopoietins 1 and 2 have similar ability to bind to receptor Tie-2, whereas Ang-1 is an agonist, and Ang-2 is an antagonist. Ang-1 activates the receptor by induction of tyrosine phosphorylation; protein kinases take part in signal cell transduction. However, Ang-2 inhibits this pathway.

The functions of Ang-1 and Ang-2 in angiogenesis in principle are opposite. Ang-1 is responsible for vascular integrity, through stimulation of endothelial cell migration and adhesion, and inhibition of apoptosis. The activity of Ang-2 depends on circumstances; in the absence of VEGF it leads to vascular regression, but in the presence of high VEGF concentration it stimulates angiogenesis.

The rapid tumour cell proliferation causes local hypoxia. Hypoxia-inducible factor (HIF-1 α) stimulates synthesis of angiopoietins, especially Ang-2.

Undoubtedly angiopoietins participate in regulation of tumour angiogenesis, but results of studies carried out so far, both experimental and clinical, are unclear or contradictory.

Key words: angiopoietins, tumour angiogenesis.

W odróżnieniu od Ang-1, nie jest wbudowywana do macierzy zewnątrzkomórkowej, może więc działać w miejscach odległych od miejsca syntezy [5].

Masa cząsteczkowa obydwu angiopoetyn wynosi ok. 70 kDa [5, 8].

Bioaktywność angiopoetyn

Angiopoetyny 1 i 2 są ligandami receptora o aktywności kinazy tyrozynowej 2 (ang. *tunica intima endothelial kinase 2* – Tie-2) występującego głównie w komórkach śródbłonna naczyń (ang. *endothelial cells* – ECs) [1, 7].

Za wiązanie z receptorem odpowiedzialna jest domena karboksykońcowa angiopoetyn, natomiast spiralna domena aminokońcowa umożliwia ich oligomeryzację, konieczną do aktywacji receptora [9–11].

Angiopoetyny 1 i 2 występują w kompleksach homooligomerycznych [9]. Angiopoetyna 1 występuje w postaci oligomerów trimerycznych, tetramerycznych lub pentamerycznych, które mogą tworzyć polimery. Z kolei angiopoetyna 2 występuje głównie w postaci homodimerów, chociaż może tworzyć większe kompleksy [6, 9, 10]. Oligomer Ang-1, zawierający co najmniej 4 podjednostki połączone wiązaniami disiarczkowymi, jest w stanie związać i aktywować receptor Tie-2 [10].

Angiopoetyny 1 i 2 wykazują podobną zdolność wiązania z receptorem Tie-2 [7]. Angiopoetyna 1 aktywuje receptor Tie-2 przez indukcję fosforylacji tyrozyny receptora. Transdukcja sygnału komórkowego odbywa się z udziałem kinaz białkowych PI3'K/Akt, ERK1/2, MAPK, FAK. Ponieważ Ang-1 i Ang-2 wiążą się z tą samą domeną receptora Tie-2 [6], Ang-2 może współzawodniczyć z Ang-1 w wiązaniu z receptorem i hamować fosforylację tyrozyny indukowaną Ang-1 [7].

Mechanizm przeciwnego działania Ang-1 i Ang-2 nie jest znany. Możliwe są co najmniej 3 mechanizmy:

- Ang-2 może działać jako kompetycyjny inhibitor Ang-1, wiążąc się z Tie-2 (blokuje wiązanie),
- Ang-2 może wiązać się z Tie-2 w inny sposób niż Ang-1 i indukować inną ścieżkę transdukcji sygnału,
- Ang-2 może wiązać się z innym receptorem na powierzchni komórek śródbłonna i pośrednio blokować sygnał Ang-1/Tie-2-zależny [6].

Z większości dotychczasowych badań wynika, że oba ligandy przyłączają się do tej samej domeny receptora Tie-2 [6]. Niemniej trudno jest wyjaśnić, dlaczego Ang-1 jest agonistą, a Ang-2 – antagonistą, skoro współzawodniczą o to samo miejsce wiązania receptora Tie-2. Jedną z możliwych przyczyn jest różnica stanu oligomerycznego obu ligandów prezentowanych receptorowi Tie-2; Ang-1 występuje głównie jako białko oligomeryczne, natomiast Ang-2 jako cząsteczka dimeryczna [6]. Zdają się to potwierdzać badania eksperymentalne [12]. Długotrwała stymulacja ligandem Ang-2 prowadzi do fosforylacji receptora Tie-2 w komórkach śródbłonna [12]. Poza tym efekt działania Ang-2 jest zależny od rodzaju komórek. W komórkach śródbłonna działa jako antagonist receptoru, natomiast w innych typach komórek, np. fibroblastach jako jego induktor [7]. Zatem Ang-2 w zależności od warunków jest antagonistą lub agonistą receptora Tie-2.

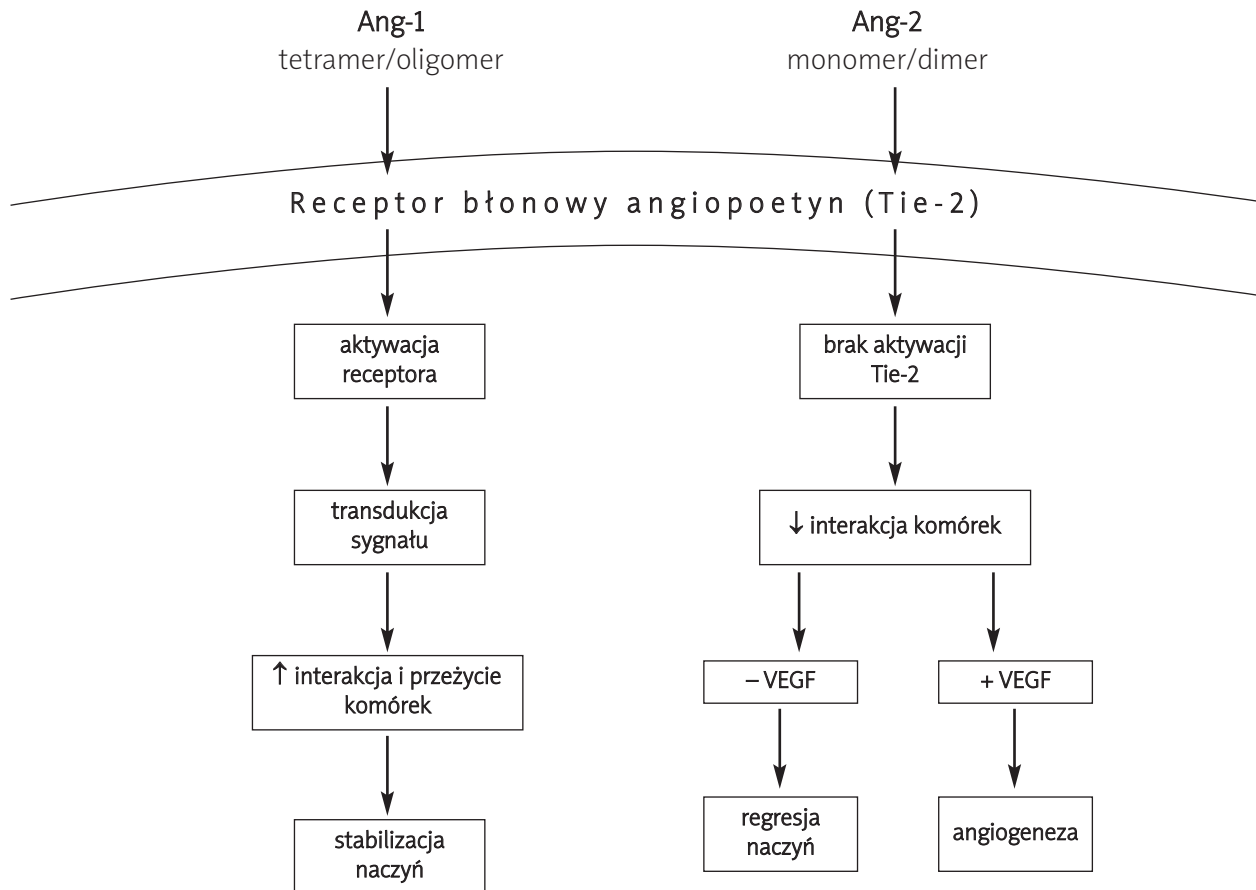
Potencjalne mechanizmy proangiogennej aktywności Ang-1 i Ang-2

Funkcja Ang-1 i Ang-2 w procesie angiogenezy jest w zasadzie przeciwna. Ang-1 odpowiedzialna jest za stabilizację naczyń i ich integralność. Z kolei Ang-2 w zależności od warunków powoduje regresję lub tworzenie nowych naczyń (ryc. 1).

W odróżnieniu od innych czynników proangiogennych, takich jak VEGF i bFGF, Ang-1 nie jest mitogenem komórek śródbłonna [13].

Proangiogeny charakter Ang-1 wynika najprawdopodobniej ze zdolności do:

- stymulacji migracji komórek śródbłonna, perycytów i komórek mięśni gładkich [14],



Ryc. 1. Mechanizm proangiogenicznej aktywności angiopoetyn
Fig. 1. Mechanism of proangiogenic activity of angiotensins

- aktywowania interakcji pomiędzy komórkami ECs i innymi, a także między komórkami i błoną podstawną [13, 15], poprzez oddziaływanie z integrzynami (głównie $\beta 1$ i $\alpha v\beta 5$) [16],
- hamowania apoptozy komórek ECs poprzez aktywację szlaku transdukcji sygnału kinaza fosfatydyloinozytolu 3' (PI3'K)/kinaza białkowa B (Akt) [17].

Aktywacja szlaku kinaz PI3'K/Akt przez Ang-1 powoduje inhibicję aktywności kaspaz 9, 7, i 3, zwiększenie ekspresji surwiwiny 1 (jedno z białek IAPs; ang. *inhibitor of apoptosis proteins*) oraz zahamowanie uwalniania białka Smac z mitochondriów (aktywator kaspaz) [17–19]. Poza tym Ang-1 stymuluje kinazy z rodziny MAPK, tj. ERK1/2 (ang. *extracellular signal-regulated kinase*) oraz p38 MAPK [18]. Aktywacja szlaku ERK1/2 skutkuje inhibicją apoptozy, natomiast pobudzenie szlaku p38 MAPK działa proapoptotycznie, jednak te właściwości są maskowane przez funkcję szlaków PI3'K i ERK1/2 [18]. Ponadto Ang-1 indukuje kinazę (ang. *focal adhesion kinase* – FAK), która uczestniczy w adhezji i migracji komórek [13, 20].

Rola Ang-2 we wzroście naczyń jest złożona i zależna od warunków. Zwykle jest inhibitorem szlaku kinaz białkowych. Badania Kima i wsp. [21] oraz Harfouche'a i wsp. [22] wykazały, że Ang-2 w wysokich stężeniach, podobnie jak Ang-1, może działać jako czynnik stabilizujący przeżycie komórek

śródbłonka, aktywując szlak PI3'K/Akt i/lub szlak ERK1/2. Działanie Ang-2 zależy jednak głównie od stanu VEGF [23, 24].

Współdziałanie angiopoetyn i naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu w tworzeniu naczyń

Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu oraz angiopoetyny to jedyne znane czynniki wzrostu, które są specyficzne dla śródbłonka naczyń, ponieważ ekspresja ich receptorów jest ograniczona tylko do komórek śródbłonkowych. W rozwoju naczyń VEGF i angiopoetyny uzupełniają się. Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu, działając za pośrednictwem receptorów VEGFR-1 (Flt1) i VEGFR-2 (Flk1), aktywuje migrację, różnicowanie i proliferację komórek śródbłonka oraz tworzenie prymitywnych naczyń. Z kolei Ang-1, działając za pośrednictwem receptora Tie-2, przebudowuje te prymitywne naczynia oraz stabilizuje dojrzałe, poprzez aktywację interakcji pomiędzy komórkami śródbłonka i otaczającymi je komórkami podporowymi. Ang-2 wykazuje ekspresję głównie w miejscach przebudowy naczyń, gdzie jest w stanie blokować działanie stabilizujące Ang-1. Angiopoetyna 2 przy braku VEGF powoduje regresję naczyń przez indukcję apoptozy komórek śródbłonka, natomiast w obecności dużych stężeń VEGF aktywuje proces angiogenezy [8, 23–25]. Zatem poziom

ekspresji Ang-2 i VEGF może decydować o tym, czy nastąpi regresja naczyń, czy też ich rozwój.

Rola angiopoetyn w rozwoju nowotworów i ich diagnozowaniu

Szybka proliferacja komórek nowotworowych w kombinacji ze zmniejszeniem liczby czynnych naczyń krwionośnych, powoduje miejscową hipoksję w miększu guza. Konsekwencją tego jest zwiększenie ekspresji VEGF, który stymuluje kompensacyjny rozwój naczyń krwionośnych [24, 25]. Z kolei hipoksja, HIF- α , ale także VEGF to czynniki stymulujące syntezę angiopoetyn, zwłaszcza Ang-2 [4]. Jak wykazały badania Vajkoczy'ego i wsp. [25] system sygnalizacyjny Ang-2/Tie-2 może być aktywowany w guzie nawet wcześniej niż szlak VEGF/Flk1.

Niewątpliwie angiopoetyny uczestniczą w regulacji angiogenezy nowotworowej. Jednak wyniki dotychczasowych badań zarówno na modelu doświadczalnym, jak i klinicznych są niejednoznaczne lub wręcz sprzeczne.

Badania eksperymentalne pokazują, że Ang-1 może być zarówno czynnikiem proangiogennym, jak i antyangiogennym. W badaniach Shim i wsp. [26] wykazano, że wszczepienie myszom komórek (HeLa) ludzkiego raka szyjki macicy transfekowanych Ang-1 promuje wzrost guza, poprzez indukcję angiogenezy nowotworowej i zahamowanie apoptozy komórek nowotworowych. Z kolei w innych badaniach [27, 28] Ang-1 wykazywała działanie przeciwstawne. Badania Hawighorsta i wsp. [27] pokazały, że nadekspresja Ang-1 w komórkach raka płaskonabłonkowego A431 powodowała inhibicję wzrostu guza. W badaniach Stoeltzinga i wsp. [28] do wątroby myszy wszczepiano komórki raka jelita grubego (HT29) transfekowane Ang-1. Okazało się, że wielkość guza, liczba naczyń krwionośnych i proliferujących komórek nowotworowych u myszy, którym podawano Ang-1, były mniejsze niż w grupie kontrolnej. W innym badaniu [29] guz, który rozwinął się po wszczepieniu komórek HT29 z Ang-2 był większy niż guz z Ang-1, większa była również liczba naczyń krwionośnych. Autorzy tej pracy sugerują, że zaburzenie równowagi pomiędzy Ang-1 i Ang-2, na korzyść Ang-2, skutkuje nasileniem angiogenezy nowotworowej i wzrostem guza.

Sprzeczne są również wyniki badań dotyczących Ang-2. Badania Yu i Stamenkovica [8] wykazały, że egzogennie wywołana nadekspresja Ang-2 hamuje wzrost i przerzutowanie komórek nowotworowych LLC (ang. *Lewis lung carcinoma*) i TA3 (ang. *murine mammary carcinoma*). Podobną zależność stwierdzili Cao i wsp. [30]. Ich zdaniem nadekspresja Ang-2 prowadzi do masywnej regresji naczyń (nawet bez zahamowania VEGF), aktywacji apoptozy i zahamowania wzrostu guza. Z kolei Oliner i wsp. dowiedli [31], że zastosowanie inhibitora Ang-2 (przeciwciała), powoduje zahamowanie proliferacji komórek śródbłonna i wzrost guza u myszy.

Być może przyczyną tak rozbieżnych wyników badań jest różny poziom ekspresji angiopoetyn i stan oligomeryzacji, a także stosunek Ang-1 do Ang-2 w układach eksperymentalnych.

Bardziej jednoznaczne są wyniki badań klinicznych. Ekspresję/stężenie angiopoetyn oznaczano w różnych aspektach, w nowotworach o różnej lokalizacji narządowej.

Zwykle wykazywano ekspresję angiopoetyn w komórkach nowotworowych, np. w raku jelita grubego [32–34], wątroby [35], w glejaku [36–38], zwojaku zarodkowym

współczulnym [39] lub też zwiększone ich stężenie w osoczu krwi, np. w raku piersi [40], prostaty [40], płuca [41]. Ponadto z badań wynika, że istnieje związek pomiędzy ekspresją/stężeniem Ang-2 a:

- progresją choroby nowotworowej, np. w raku piersi [42, 43], prostaty [44], jelita grubego [33, 34], w glejaku [45], w zwojaku współczulnym [39] oraz
- czasem przeżycia bezobjawowego i całkowitego, np. w raku piersi [42], prostaty [44], płuca [41, 46].

Wartości prognostycznej angiopoetyn w raku przewodowym piersi nie potwierdzają badania Rmali i wsp. [47]. Wykazano także, że po leczeniu chirurgicznym i/lub innym stężenie angiopoetyn w osoczu zmniejszało się, np. w raku piersi [48] i prostaty [49].

Okazuje się, że ekspresja/stężenie angiopoetyn wykazuje korelację z różnymi wskaźnikami angiogenezy. Nadekspresja Ang-1 koreluje z gęstością naczyń krwionośnych, np. w raku jelita grubego [34], z Ang-2 i Tie-2 w raku piersi [40] i raku prostaty [40], z Ang-2, VEGF, bFGF, TGF, PDGF w zwojaku współczulnym [39]. Z kolei Ang-2 koreluje np. z VEGF w raku wątroby [35]. Istnienie korelacji między angiopoetynami i innymi czynnikiemami proangiogennymi sugeruje ich synergistyczną rolę w regulacji procesu angiogenezy nowotworowej.

Chociaż rola angiopoetyn w rozwoju nowotworów jest niezaprzeczalna, to konieczne są dalsze badania do wyjaśnienia istniejących wątpliwości oraz poznania ich wartości diagnostycznej.

Piśmiennictwo

1. Davis S, Aldrich TH, Jones PF, et al. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, by secretion-trap expression cloning. *Cell* 1996; 87: 1161-9.
2. Cheung AH, Stewart RJ, Marsden PA. Endothelial Tie2/Tek ligands angiopoietin-1 (ANGPT1) and angiopoietin-2 (ANGPT2): regional localization of the human genes to 8q22.3-q23 and 8p23. *Genomics* 1998; 48: 389-91.
3. Ward EG, Grosios K, Markham AF, Jones PF. Genomic structures of the human angiopoietins show polymorphism in angiopoietin-2. *Cytogenet Cell Genet* 2001; 94: 147-54.
4. Yamakawa M, Liu LX, Date T, et al. Hypoxia-inducible factor-1 mediates activation of cultured vascular endothelial cells by inducing multiple angiogenic factors. *Circ Res* 2003; 93: 664-74.
5. Xu Y, Yu Q. Angiopoietin-1, unlike angiopoietin-2, is incorporated into the extracellular matrix via its linker peptide region. *J Biol Chem* 2001; 276: 34990-8.
6. Fiedler U, Krissl T, Koidl S, et al. Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 share the same binding domains in the Tie-2 receptor involving the first Ig-like loop and the epidermal growth factor-like repeats. *J Biol Chem* 2003; 278: 1721-7.
7. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science* 1997; 277: 55-60.
8. Yu Q, Stamenkovic I. Angiopoietin-2 is implicated in the regulation of tumor angiogenesis. *Am J Pathol* 2001; 158: 563-70.
9. Procopio WN, Pelavin PI, Lee WMF, Yeilding NM. Angiopoietin-1 and -2 coiled coil domains mediate distinct homo-oligomerization patterns, but fibrinogen-like domains mediate ligand activity. *J Biol Chem* 1999; 274: 30196-201.
10. Kim KT, Choi HH, Steinmetz MO, et al. Oligomerization and multimerization are critical for angiopoietin-1 to bind and phosphorylate Tie2. *J Biol Chem* 2005; 280: 20126-31.
11. Davis S, Papadopoulos N, Aldrich TH, et al. Angiopoietins have distinct modular domains essential for receptor binding, dimerization and superclustering. *Nat Struct Biol* 2003; 10: 38-44.

12. Teichert-Kuliszewska K, Maisonpierre PC, Jones N, et al. Biological action of angiopoietin-2 in a fibrin matrix model of angiopoietin is associated with activation of Tie2. *Cardiovasc Res* 2001; 49: 659-70.
13. Hayes AJ, Huang WQ, Mallah J, Yang D, Lippman ME, Li LY. Angiopoietin-1 and its receptor Tie-2 participate in the regulation of capillary-like tubule formation and survival of endothelial cells. *Microvasc Res* 1999; 58: 224-37.
14. Loughna S, Sato TN. Angiopoietin and Tie signaling pathways in vascular development. *Matrix Biol* 2001; 20: 319-25.
15. Suri C, Jones PF, Patan S, Bartunkova S, Maisonpierre PC, Davis S, Sato TN, Yancopoulos GD. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell* 1996; 87: 1171-80.
16. Carlson TR, Feng Y, Maisonpierre PC, Mrksich M, Morla AO. Direct cell adhesion to the angiopoietins mediated by integrins. *J Biol Chem* 2001; 276: 26516-25.
17. Kim I, Kim HG, So JN, Kim JH, Kwak HJ, Koh GY. Angiopoietin-1 regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. *Circ Res* 2000; 86: 24-9.
18. Harfouche R, Gratton JP, Yancopoulos GD, Nosedá M, Karsan A, Hussain SN. Angiopoietin-1 activates both anti- and proapoptotic mitogen-activated protein kinases. *FASEB J* 2003; 17: 1523-5.
19. Papapetropoulos A, Fulton D, Mahboubi K, Kalb RG, O'Connor DS, Li F, Altieri DC, Sessa WC. Angiopoietin-1 inhibits endothelial cell apoptosis via the Akt/survivin pathway. *J Biol Chem* 2000; 275: 9102-5.
20. Kim I, Kim HG, Moon SO, Chae SW, So JN, Koh KN, Ahn BC, Koh GY. Angiopoietin-1 induces endothelial cell sprouting through the activation of focal adhesion kinase and plasmin secretion. *Circ Res* 2000; 86: 952-9.
21. Kim I, Kim JH, Moon SO, Kwak HJ, Kim NG, Koh GY. Angiopoietin-2 at high concentration can enhance endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. *Oncogene* 2000; 19: 4549-52.
22. Harfouche R, Hussain SN. Signaling and regulation of endothelial cell survival by angiopoietin-2. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H1635-45.
23. Ashara T, Chen D, Takahashi T, Fujikawa K, Kearney M, Magner M, Yancopoulos GD, Isner JM. Tie2 receptor ligands, angiopoietin-1 and angiopoietin-2, modulate VEGF-induced postnatal neovascularization. *Circ Res* 1998; 83: 233-40.
24. Holash J, Maisonpierre PC, Compton D, Boland P, Alexander CR, Zagzag D, Yancopoulos GD, Wiegand SJ. Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF. *Science* 1999; 284: 1994-7.
25. Vajkoczy P, Farhadi M, Gaumann A, et al. Microtumor growth initiates angiogenic sprouting with simultaneous expression of VEGF, VEGF receptor-2, and angiopoietin-2. *J Clin Invest* 2002; 109: 777-85.
26. Shim WS, Teh M, Bapna A, Kim I, Koh GY, Mack PO, Ge R. Angiopoietin 1 promotes tumor angiogenesis and tumor vessel plasticity of human cervical cancer in mice. *Exp Cell Res* 2002; 279: 299-309.
27. Hawighorst T, Skobe M, Streit M, et al. Activation of the tie2 receptor by angiopoietin-1 enhances tumor vessel maturation and impairs squamous cell carcinoma growth. *Am J Pathol* 2002; 160: 1381-92.
28. Stoeltzing O, Ahmad SA, Liu W, et al. Angiopoietin-1 inhibits vascular permeability, angiogenesis, and growth of hepatic colon cancer tumors. *Cancer Res* 2003; 63: 3370-7.
29. Ahmad SA, Liu W, Jung YD, et al. The effects of angiopoietin-1 and -2 on tumor growth and angiogenesis in human colon cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 1255-9.
30. Cao Y, Sonveaux P, Liu S, et al. Systemic overexpression of angiopoietin-2 promotes tumor microvessel regression and inhibits angiogenesis and tumor growth. *Cancer Res* 2007; 67: 3835-44.
31. Oliner J, Min H, Leal J, et al. Suppression of angiogenesis and tumor growth by selective inhibition of angiopoietin-2. *Cancer Cell* 2004; 6: 507-16.
32. Ahmad SA, Liu W, Jung YD, Fan F, Reinmuth N, Bucana CD, Ellis LM. Differential expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in colon carcinoma. A possible mechanism for the initiation of angiogenesis. *Cancer* 2001; 92: 1138-43.
33. Nakayama T, Hatachi G, Wen ChY, Yoshizaki A, Yamazumi K, Niino D, Sekine I. Expression and significance of Tie-1 and Tie-2 receptors, and angiopoietins-1, 2 and 4 in colorectal adenocarcinoma: Immunohistochemical analysis and correlation with clinicopathological factors. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 964-9.
34. Chung YC, Hou YC, Chang CN, Hseu TH. Expression and prognostic significance of angiopoietin in colorectal carcinoma. *J Surg Oncol* 2006; 94: 631-8.
35. Moon WS, Rhyu KH, Kang MJ, Lee DG, Yu HC, Yeum JH, Koh GY, Tarnawski AS. Overexpression of VEGF and angiopoietin 2: a key to high vascularity of hepatocellular carcinoma? *Mod Pathol* 2003; 16: 552-7.
36. Koga K, Todaka T, Morioka M, et al. Expression of angiopoietin-2 in human glioma cells and its role for angiogenesis. *Cancer Res* 2001; 61: 6248-54.
37. Stratmann A, Risau W, Plate KH. Cell type-specific expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 suggests a role in glioblastoma angiogenesis. *Am J Pathol* 1998; 153: 1459-66.
38. Reiss Y, Machein MR, Plate KH. The role of angiogenesis during angiogenesis in gliomas. *Brain Pathol* 2005; 15: 311-7.
39. Eggert A, Ikegaki N, Kwiatkowski J, Zhao H, Brodeur GM, Himelstein BP. High-level expression of angiogenic factors is associated with advanced tumor stage in human neuroblastomas. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1900-8.
40. Caine GJ, Blann AD, Stonelake PS, Ryan P, Lip GYH. Plasma angiopoietin-1, angiopoietin-2 and Tie-2 breast and prostate cancer: a comparison with VEGF and Flt-1. *Eur J Clin Invest* 2003; 33: 883-90.
41. Park JH, Park KJ, Kim YS, Sheen SS, Lee KS, Lee HN, Oh YJ, Hwang S.C. Serum angiopoietin-2 as a clinical marker for lung cancer. *Chest* 2007.
42. Sfiligoi C, de Luca A, Cascone I, et al. Angiopoietin-2 expression in breast cancer correlates with lymph node invasion and short survival. *Int J Cancer* 2003; 103: 466-74.
43. Imanishi Y, Hu B, Jarzynka MJ, Guo P, Elishaev E, Bar-Joseph I, Cheng SY. Angiopoietin-2 stimulates breast cancer metastasis through the alpha (5) beta (1) integrin-mediated pathway. *Cancer Res* 2007; 67: 4254-63.
44. Lind AJ, Wikstrom P, Granfors T, Egevad L, Stattin P, Bergh A. Angiopoietin-2 expression is related to histological grade, vascular density, metastases, and outcome in prostate cancer. *Prostate* 2005; 62: 394-9.
45. Guo P, Imanishi Y, Cackowski FC, et al. Up-regulation of angiopoietin-2, matrix metalloproteinase-2, membrane type 1 metalloproteinase, and laminin 5 γ 2 correlates with the invasiveness of human glioma. *Am J Pathol* 2005; 166: 877-90.
46. Tanaka F, Ishikawa S, Yanagihara K, Miyahara R, Kawano Y, Li M, Otake Y, Wada H. Expression of angiopoietins and its clinical significance in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 7124-9.
47. Rmali KA, Watkins G, Douglas-Jones A, Mansel RE, Jiang WG. Angiopoietins lack of prognostic significance in ductal mammary carcinoma. *Int Semin Surg Oncol* 2007; 4: 6.
48. Caine GJ, Stonelake PS, Lip GY, Blann AD. Changes in plasma vascular endothelial growth factor, angiopoietins, and their receptors following surgery for breast cancer. *Cancer Lett* 2007; 248: 131-6.
49. Caine GJ, Ryan P, Lip GY, Blann AD. Significant decrease in angiopoietin-1 and angiopoietin-2 after radical prostatectomy in prostate cancer patients. *Cancer Lett* 2007; 251: 296-301.

Adres do korespondencji

dr med. **Ewa Kopczyńska**

Katedra i Zakład Patobiochemii i Chemii Klinicznej

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Collegium Medicum w Bydgoszczy

ul. M. Skłodowskiej-Curie 9

85-094 Bydgoszcz

tel. +48 52 585 36 00

e-mail: kopczynska@cm.umk.pl