

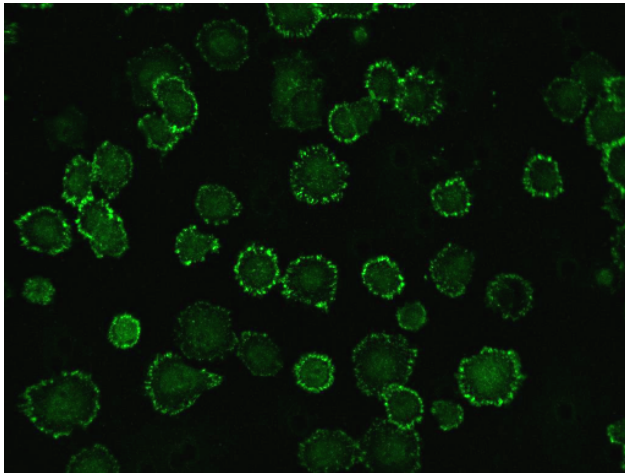
A daganatos halálozás szinte kizárólag az áttétképzés következménye. A metasztatikus kaszkád folyamatának sikeres végrehajtásához a tumorok beereződésén felül elengedhetetlen a tumorsejtek letapadási-, mátrixbontó- és migrációs képessége. Korábbi megfigyeléseinkből kiindulva jelen pályázatunk célkitűzései között szerepelt a különböző eredetű tumorsejtek mozgási sajátosságaink morfológiai összehasonlítása, a motilitási szignál egyes elemeinek feltérképezése és befolyásolása, valamint a daganatok indukálta angiogenezis vizsgálata, különösen klinikai vonatkozásokban.

A különböző eredetű humán daganatsejtek mozgásának morfológiai sajátosságainak vizsgálatai keretében Boyden-kamrában migrációs és adhéziós kísérletekben meghatároztuk azokat az extracelluláris-mátrix (ECM) fehérjéket (fibronektin, kollagén I, laminin, Matrigel), amelyeket a tumorsejtek preferálnak kitapadási, illetve migrációs felületként. Megállapítottuk, hogy a korábban megismert humán fibrosarcoma sejthez képest (HT1080) a humán laphámrák sejtek (A431), valamint humán colon carcinoma sejtek (HT25, HT29) *in vitro* jelentősen lassabban mozognak. Ezek a sejtek még 24 órás tesztekben sem képesek olyan migrációs választ adni Boyden-kamrában, mint a HT1080 sejtek 1 óra alatt. Humán melanoma sejtek (HT168-M1) mozgásának sebessége a fenti sejtekhez képest közepesnek mondható, 6 órás migrációs tesztben mutatnak olyan migrációs választ, mint a fibrosarcoma sejtek. Ezek alapján a laphámrák-colorectális rák<melanóma<fibrosarcoma sorrend valószínűsíthető.

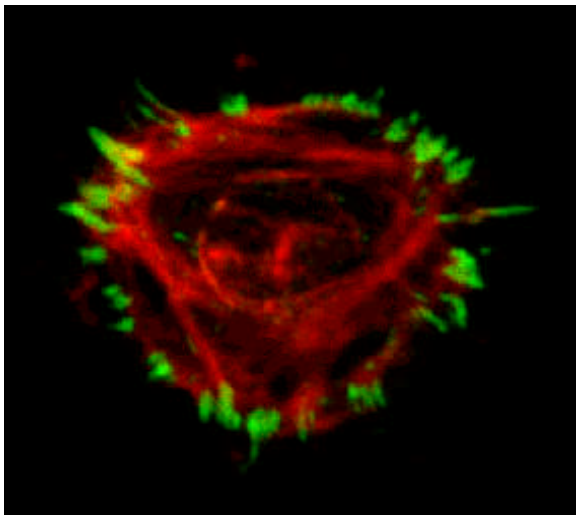
Kimutattuk, hogy a tumorsejtek nem egyformán preferálják az egyes ECM fehérjéket a letapadásuk és migrációjuk során. A humán melanóma, valamint a laphámrák sejtek (ugyan jelentősen kisebb mértékben) a fibrosarcomához hasonlóan tapadnak fibronektinre és kollagénnre, amelyek nagyfokú migrációs választ is kiváltanak. A colon carcinoma sejtek ezzel szemben nem adtak migrációs választ fibronektinre, csak kollagénnre, míg egyes típusaik még bazális membránra (Matrigel) is jól migráltak. A fibrosarcoma vonallal kapott korábbi eredmények és a mostani kísérleteink alapján kezdtük meg a különböző tumorsejtek *in vitro* 2 dimenziós mozgásának feltérképezését ECM proteineken kontroll és GFP-vinkulinnal transzfektált sejtekkel. Ezekben a vizsgálatokban megállapítottuk, hogy a fibrosarcoma sejtek esetében korábban leírt alak a kétdimenziós síkon történő migráció során több más sejtvonal esetében is megfigyelhető. A humán melanóma esetében sikerült videó mikroszkópia segítségével megörökítenünk, amikor a sejtek kollagén felszínen a fent leírt alakot fenntartva vándoroltak. Igaz, ez a mozgás sokkal lassabb, mint a fibrosarcoma esetében, de az alakból arra következtethetünk, hogy az általunk leírt mozgásforma (és mechanizmus) általánosabb érvényű lehet (1).

A korábbi kétdimenziós migrációs modellvizsgálatainkat kiterjesztettük háromdimenziós rendszerre. Az aktin-filamentum rendszer és a letapadási pontok elrendeződését, valamint az intermedier filamentum (vimentin) és a mikrotubulus rendszer (tubulin) migráció alatti elhelyezkedését háromdimenziós rendszerben konfokális és elektronmikroszkópos technikákkal vizsgáltuk HT1080 humán fibrosarcoma, HT168-M1 humán melanóma és A431 humán laphámrák sejtekben. A kétdimenziós rendszerekhez hasonlóan, a Boyden-kamra pórusán áthaladó sejtek esetén is, kizárólag a vezető élen, a pórus átmérőjének mentén figyeltünk meg letapadási pontokat (1. ábra). A vinkulint tartalmazó adhéziók egy sorban jelentek meg, gyűrűként rajzolódottak ki. A póruson történő átjutást követően egy letapadási folyamat indult meg, amelyet az adhéziós pontok gyűrűjének kiterjedése jelzett. Az aktinszálak a letapadási pontokhoz kapcsolatosak maradtak, a pórus belsejében csak a plazmamembrán alatt voltak megtalálhatóak a migráció ideje, és a kiterülés folyamata alatt is (2. ábra). A membrán túloldalán jelentkező letapadási folyamat kiterjedésével az aktin ívek hossza, és a letapadási pontokból álló gyűrű mérete is fokozatosan nőtt.

1. ábra. Adhéziók megjelenése 3D migrációs modellben. Zöld: vinkulin az adhéziókban.

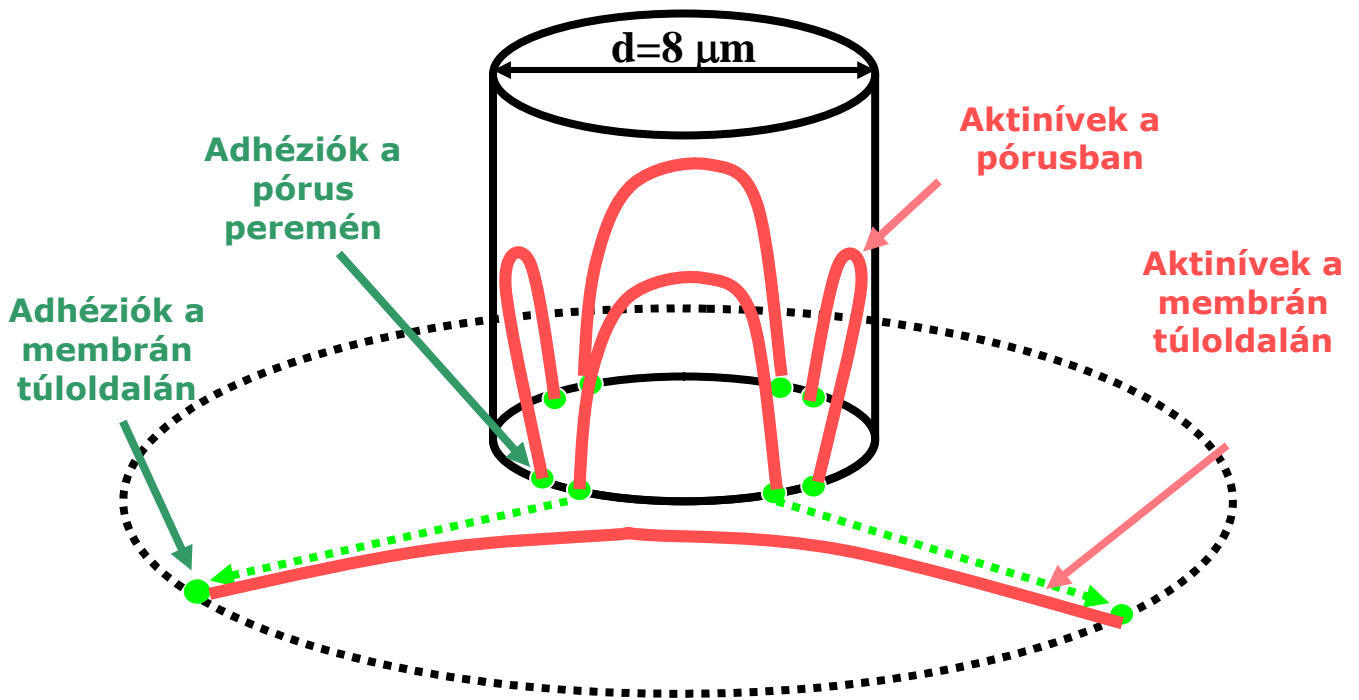


2. ábra Boyden kamra membránján átjutó HT1080 fibrosarcoma sejt immunfluoreszcens képe. Piros: aktin-filamentumok, zöld: vinkulin molekulák az adhéziókban.



Az egyéb morfológiai vizsgálatok eredményeinek összegzésével megállapítottuk, hogy a kétdimenziós modellnek megfelelően mozognak az adhéziós pontok és a mikrofilamentum rendszer elemei. Három dimenzióban az aktinszálak a letapadási pontokhoz kapcsolódva maradtak, a pórus belsejében csak a plazmamembrán alatt voltak megtalálhatók, a migráció ideje, és a kiterülés folyamata alatt is (3. ábra). A póruson keresztüli migráció után a sejtek újból kiterültek, a folyamat a már korábban jól jellemzett 2D rendszernek megfelelően zajlik.

3. ábra: HT1080 tumorsejtek mozgásának 3D modellje.

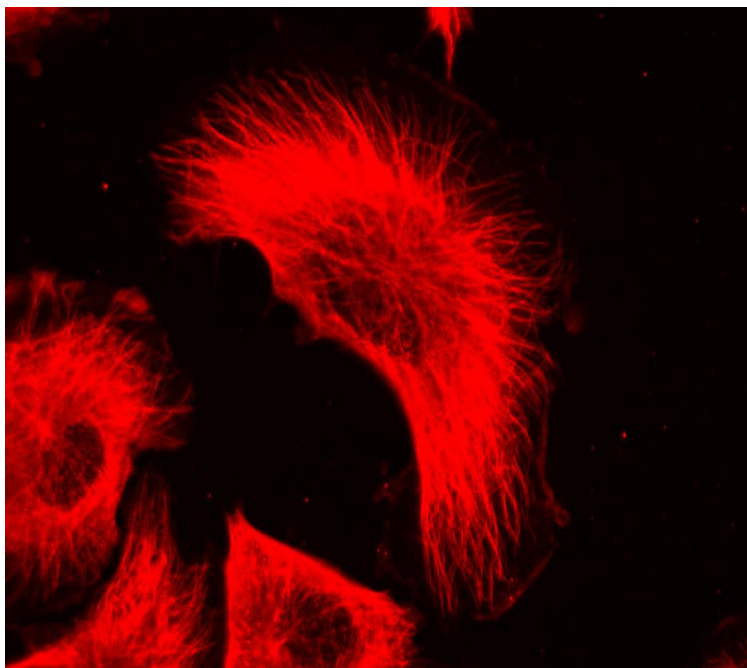


A sejtek alakjának kialakításában és a mozgási folyamataiban a mikrofilamentum-rendszeren kívül a mikrotubulus- és az intermedier filamentum-rendszer is aktívan részt vesznek. Ezért további morfológiai munkáinkban kettős immuofluoreszcens jelölési technikákkal megvizsgáltuk az aktin-kötegek és egyéb citoszkeleton elemek együttes elhelyezkedését is a tumorsejtek 3D migrációja alatt.

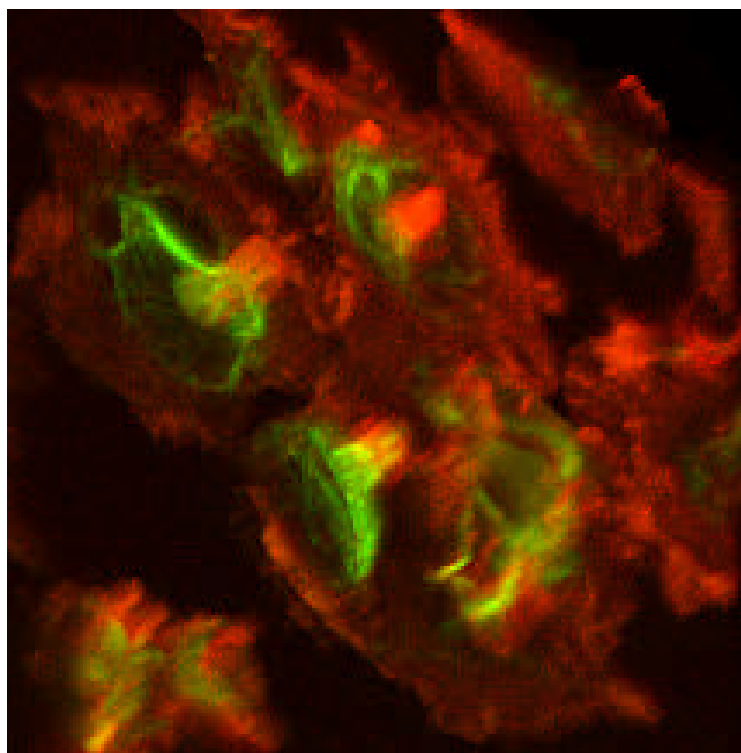
Megállapítottuk, hogy az aktinfilamentumok és a mikrotubulusok szorosan együtt haladtak a sejtmigráció alatt. A mikrofilamentum- és a mikrotubulus-rendszer szoros kapcsoltságára számos magyarázat látott napvilágot. Mindkét citoszkeletonális elem intenzív dinamikával rendelkezik. A sejt polaritásának kialakításában, a sejt alakjának módosításában feltehetően kooperatívan vesznek részt. A mikrotubulusok növekvő (+) végükkel a centroszómából a plazmamembrán felé nyúlnak. Általánosan elfogadott nézet szerint, a mikrotubulusok a sejt peremén található fokális adhéziókba futnak. 2D migráció során tubulin jelöléssel azt találtuk, hogy a mikrotubulusok a mozgó tumorsejtekben valóban a félkör alakú vezető él felé irányultak. A sejt széléig kizárólag a sejt hátsó részének két oldalán futottak ki (4. ábra). Szerepük valószínűleg a már szükségtelen adhéziók végső felszedésében, megszüntetésében áll.

Az intermedier filamentumok képviselőjeként a vimentin szerepét vizsgáltuk a rendszer háromdimenziós elrendeződésében. A mikrotubulussal ellentétben vimentin valószínűleg az aktinhoz kötött, viszont a vezető él és a mikrofilamentumok frontja mögött, jól elkülöníthetően haladt a migráció során a sejtmaggal. A felvétel konfokális mikroszkóppal HT1080 sejtekről készült, a felszeletelt síkokat egymásra vetítettük, és 45° dőlésszögben vizsgáltuk. A póruson áthaladó sejtek vezető élén aktint találtunk, melyet tőle kissé elkülönülten a pórusba nyúló vimentinszálak követtek, körbefonva a sejtmagot, feltehetően annak áthúzásában segédkezve (5. ábra).

4. ábra. Mikrotubulus-rendszer migráló fibrosarcoma tumorsejtekben.



5. ábra Vimentin (zöld) és aktinszálak (piros) helyzete 3D migráció során.



A morfológiai vizsgálataink eredményeiről készített publikációnk bírálókat alatt van.

A pályázat további terveinek megfelelően megvizsgáltuk bizonyos jelátviteli útvonalak lehetséges szerepét a daganatsejtek migrációjának befolyásolásában. A tirozinkináz-aktivitással rendelkező növekedési faktor-receptorok alapvető szerepet játszanak a sejtfunkciók szabályozásában, köztük a motilitás befolyásolásában. Ezen pályák genetikai

és/vagy funkcionális abnormalitása kóros működést eredményez. Az elsőként felfedezett tirozinkináz-receptor az epidermális növekedési faktor receptora (EGFR, erb-B1, HER-1), mely több ismert tumor esetében mutat kóros aktivációt (glioblastoma, nem-kis-sejtes tüdőrák, fej-nyak régió laphámrákjai). Emiatt az EGF-receptor a daganatellenes terápia új célpontja lett.

A receptorokon történő daganatellenes terápiák két fő csoportra oszthatók: a receptor vagy liganduma ellenes antitestek, illetve a jelátviteli folyamat gátlószerei. Az utóbbiak legelterjedtebb képviselői a tirozin-kináz gátlók, amelyek a jelátviteli szubsztrátszintű gátlása során kompetitív módon akadályozza az ATP-t a receptor ATP-kötő zsebéhez való kapcsolódásban, melynek eredményeképp elmarad a keresztfoszforiláció, ezen túlmenően pedig az aktivációs szignál.

Korábbi sporadikus eredmények alapján többször felmerült a lehetősége annak, hogy a melanómák EGFR-t expresszálnának, azonban a kellően mély molekuláris vizsgálatok ezt nem tudták meggyőzően igazolni. Munkánk során humán melanóma sejtvonalakon vizsgáltuk az EGF-receptor expresszióját, valamint felderítettük a szignál transzdukció gátlásának lehetséges biológiai hatásait a tumorprogresszió szempontjából.

PCR vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a vad típusú pozitív kontrollhoz (A431, EGFR amplifikált sejtvonal) hasonló mRNS expressziós mintázatot a 9 vizsgált melanóma vonal közül csak az M24met és a WM983A mutat, míg 2 sejtvonal negatívnak bizonyult. Ugyanakkor 5 humán melanóma vonalban az EGFR domének ún. alternatív benedeket tartalmaznak. Ha a HT199 EGF-receptor expresszióját vesszük egységnyinek, akkor a vad típusú EGFR-t kifejező M24 négy nagyságrenddel többet expresszál, mint a HT199, de erős expresszió jellemzi a WM983 vonalakat és az M35-öt, ennél gyengébb az A2058 család (2).

Flow cytométeres vizsgálatainkban az EGF receptor intra- ill. extracelluláris doménjét felismerő antitesteket használtunk. Az M24met sejtvonal 95%-ban expresszálta EGF extracelluláris domént, míg a többi sejtvonal gyakorlatilag negatívnak bizonyult. Az EGF receptor intracelluláris doménjét azonban minden sejttípus expresszálta, bár az expresszió mértéke az egyes melanóma típusokban széles határok között mozgott (10-80%; 2).

Immunfluoreszcencia vizsgálattal megerősítettük az áramlási cytométeres eredményeinket, mely szerint minden sejtvonalunk pozitívnak bizonyult az EGF-receptor intracelluláris doménjére adherens állapotban is. Foszfoszpecifikus antitestekkel (EGFR-pY1068 és EGFR-pY1086) végzett vizsgálataink szerint az emberi melanóma tenyészetekben a receptorok konstitutívan aktíváltak. (2).

Proliferációs kísérleteink eredményei alapján megállapítható, hogy a ZD1839 (gefitinib, EGFR TK inhibitor) valamennyi emberi melanóma sejtvonalunkon minden dózisban hatásosabbnak bizonyult ($IC_{50} \approx 5-10 \mu M$), mint egy kísérleti gátlószer, a PD153035 ($IC_{50} \approx 8-15 \mu M$). Ezzel szemben egy másik EGFR TK gátlószer, az OSI-774 (erlotinib) kezeléssel szemben sejteink nagyfokú rezisztenciát mutattak ($IC_{50} > 100 \mu M$).

Az áramlásos cytométerrel végzett apoptózis vizsgálat szerint 5%-ot meghaladó apoptózis a legalacsonyabb ZD1839 kezelésnél $5 \mu M$ -os dózisban 2 sejtvonalban volt tapasztalható (HT168 és WM983A), míg magasabb koncentrációnál 10% feletti apoptózis ráta a HT168 családban (A2058, HT168 és M1) valamint a WM családban volt észlelhető, mely utóbbi bizonyult a legérzékenyebbnek ebből a szempontból. A PD153035 kezelés jóval kisebb mértékben indukált apoptózist: $5 \mu M$ -os dózisban 5% alatt, míg magasabb dózisokban 10% körüli volt ez az érték. Megjegyzendő, hogy a vad típusú EGFR-t expresszáló M24met melanóma vonal bizonyult a legrezisztensebbnek a TK gátló hatásra.

Módosított Boyden-kamrás technikával kimutattuk, hogy a humán melanóma sejteken (HT168M1, WM983B) a ZD1839-előkezelés gátolja a sejtmigrációt. A szimultán kezelésnél inkább a sejtpusztító hatás kerül előtérbe, így valódi migrációgátlásról nem beszélhetünk.

SCID egér xenograft lép-máj modellben az intraperitoneálisan 3 héten keresztül naponta adott ZD1839 már 0,2 mg/tskg gátolta a humán melanóma áttétképzését, a primer tumorra nem hatott, erősítve azon elképzelésünket, hogy a melanóma EGFR a progreszióban játszik fontos szerepet (2-3).

Munkacsoportunk korábbi eredményei alapján felmerült a lehetősége annak, hogy melanómás megbetegedések során egy másik tirozin-kináz aktivitású receptor, a hepatocytá növekedési faktor (HGF) receptora, a c-Met is biológiai jelentőséggel bír. RT-PCR segítségével meghatároztuk a c-Met molekula intra- és extracelluláris doménjének jelenlétét humán melanóma sejtvonalainkon. Funkcionális in vitro vizsgálataink során több c-Met gátlószer (EKB-569, SU11272) hatását vizsgáltuk a sejtek túlélésére és migrációs képességére. Áramlásos cytométeres módszerrel és western-blot analízissel megvizsgáltuk a kezelések hatását a c-Met foszforilációra és megállapítottuk, hogy a szerek (különösen a specifikusabb SU11272) csökkenti a c-Met-molekulán a tirozin-foszforiláció mértékét. Ezután a tirozin-foszforiláció gátlásának biológiai hatását (proliferáció, apoptózis, migráció) 4 féle humán melanóma (HT168-M1, M24met, HT199, WM983B) és az A431 laphámcarcinóma sejtvonalon vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy az EKB-569, összehasonlítva más TK-gátlókkal (amelyek legnagyobb mértékben az EGFR-t gátolják, mint pl. Tarceva, Iressa, SU5416) igen hatásosan gátolta a sejtek proliferációját, és fokozta azok apoptózisát. Ezen felül a c-Met TK aktivitásának gátlása jelentősen csökkentette a sejtek migrációs képességet is. Azonban az SU11272, amely specifikus c-met gátló, még az előzőeknél is hatásosabbak bizonyult mind az apoptózis fokozásában, mind a migráció gátlásban. Az in vitro vizsgálatokat in vivo lép-máj modellel egészítettük ki. Ebben a rendszerben a tumorsejteket az állatok épbe juttatjuk, és megfelelő idő után a kialakult májkolóniák számát határozzuk meg. Megállapítottuk, hogy c-Met gátlása csökkenti a humán melanóma sejtek májba való kolonizációs készségét. Mindezen eredményeink alapján felmerül, hogy az emberi melanómában a c-Met terápiás célpontként szolgálhat (4), akár önállóan, akár az EGFR-el kombinálva. Az ilyen duális vagy akár még több tirozin-kinázra ható gátlószer fejlesztése a mai kutatások egyik kifejezett célpontja. A melanómasejtek migrációjának befolyásolhatósága a tirozin-kináz gátlókkal témakörben kapott eredményeinkről egy publikáció bírálat alatt, egy pedig előkészítés alatt áll.

Miután a sejtmozgás mindig matrix-felületen történik, a kooperáló adhéziós molekuláknak döntő szerepe van a folyamat szabályozásában. Újabb kutatási eredmények azt mutatják, hogy az adhézióért felelős legjelentősebb molekulacsalád, az integrinek gátlása nem elégséges a tumorsejtek migrációjának blokkolásához. Ugyanakkor tudjuk, hogy a daganatsejtek számos más, heparánszulfát-láncot tartalmazó adhéziós molekulát is expresszálnak. Vizsgálatainkban kimutattuk, hogy HT168-M1 melanómákban a CD44 v3 exont tartalmazó splice variánsai (egy sejtfelszíni heparánszulfát-prpteoglikán) elleni aktiváló antitest fokozza a melanóma motilitását, ugyanakkor a heparinnak, illetve alacsony molekulásúlyú változatának (LMWH) migráció- és inváziógátló hatásuk van a melanóma sejteken, s ennek megfelelően csökkentik a tumorsejtek in vivo metasztatizáló képességét is (5-7). Kooperációs partnerünk segítségével jelenleg még kisebb oligoszacharidok hatását teszteljük. Kimutattuk, hogy a 4 cukormolekulát tartalmazó oligoszacharid is képes in vitro gátolni a melanoma sejtek motilitását, és ezzel párhuzamosan a in vivo májkolónia képzését (8). Munkánk ezen részéről a kéziratot most készítjük.

Munkatervünk harmadik részében a daganatos angiogenezis néhány sajátosságát vizsgáltuk. A daganatos progresszióban a daganatsejtek sikeres metasztatizálásában az adhéziós-, mátrix degradációs-, valamint migrációs képességeken felül a daganatok

beereződésének is kitüntetett szerepe van. Azonban fontos megjegyezni, hogy a számos közlemény eredményei alapján gyakran ellentmondásos következtetésekre lehet jutni.

Daganatos betegekben gyakran alakul ki anémia, amely az életminőség romlásán felül a kezelések kimenetelét is negatívan befolyásolja. Többféle erythropoietikus szert használnak az anémia korrigálására a terápiás gyakorlatban, azonban számos ellentmondó kísérleti és klinikai eredmény látott napvilágot a rekombináns humán erythropoietinek (rHuEPO-k) alkalmazásával kapcsolatosan. Ezek eredete valószínűleg az EPO-receptor expresszója, amelyet kimutattak többek között az erek endotheliális sejtjein, és számos tumorsejt esetében is. Mivel az erythroid előalakokon az EPO gátolja az apoptosist, ezzel fokozva az erythrocyták számának emelkedését a keringésben, jogosan felmerül, hogy a többi EPOR-pozitív sejt is hasonló hatású lehet. Vizsgálatainkban megállapítottuk, hogy a rHuEPO befolyásolja a humán daganatok indukálta neoangiogenezist preklinikai laphámrák (A431) és colon-carcinoma (HT25) modellekben. A korábban leírt *in vitro* hatásán felül, miszerint az erek EPO-receptor pozitív endotheliális sejtjeinek proliferációját serkenti, sikerült *in vivo* kimutatnunk, hogy ez a proliferáció-fokozás nem jár az erek számának növekedésével, viszont nagyobb átmérőjű erek képződnek a tumorokban. Ezek az erek aztán jobb perfúziót biztosítanak a tumorszövetbe, aminek következtében a kemoterápiás szerek nagyobb terület érnek el a daganatba, fokozva azok hatását. Érdekes, hogy a kísérleteinkben használt tumorvonalak is expresszálják az EPO-receptort, azonban azok proliferációját a rHuEPO sem *in vitro*, sem *in vivo* nem befolyásolja (9). A tumorszövet perfúziójának fokozása nem csak a kemoterápia hatékonyságát fokozta, hanem a sugárkezelést is pozitívan befolyásolta. A kialakult pozitív hatás magyarázatául szolgál, hogy az rHuEPO-receptor pozitív tumorsejtek *in vitro* proliferációjának és klónképző képességének gátlása, valamint apoptozisa fokozódik az rHuEPO kezelés hatására. Ezen felül azonban jelentős szerepe van annak a megfigyelésünknek is, hogy az rHuEPO-kezelt daganatokban az erek endotheliális sejtjeinek proliferációja fokozódik, amelyre azáltal jobban hatott a sugárkezelés, és statisztikai összefüggés mutatkozik a daganatellenes hatékonysággal. A rHuEPO-kezelés csökkentete a daganatokban a hipoxia-indukálta faktor (HIF-1 α) expresszióját is, amelynek magas kifejeződése az irodalmi adatok szerint gátolja a sugárterápia hatékonyságát (10, 11).

A tumoros angiogenezist korábban kizárólag a daganatok hatására a daganatszövetbe benövő új erek (sprouting, bimbózás) azonosították. Azonban később kiderült, hogy számos egyéb folyamat révén is szert tehetnek erekre a daganatok (12, 13). Ezek közül egyik a csontvelői eredetű keringő endotheliális őssejtek (EPC-k) beépülése a daganatos erekbe (14). A keringő endotheliális őssejtek (EPC) lehetséges szerepének vizsgálatakor nem kissejtes tüdődaganatokban (NSCLC) flow citométeres és molekuláris biológiai módszerekkel (VEGFR2, AC133, CD34 és VE-Cadherin markereket használva) megállapítottuk, hogy az EPC-k száma a daganatos betegek perifériáján többszöröse az egészséges kontrollokhoz képest. Ezen felül immunfluoreszcens mikroszkópiával kimutattuk, hogy ezek a sejtek beépülnek a daganatokba, és a periférián a számuk azon betegek esetében, akiknél hatásosnak bizonyult a terápia csökkent, míg a progrediáló betegek esetében drámaian megnövekedett (15).

A lezárult posztdoktori támogatás keretében született eredményeink bizonyítják, hogy a daganatok által indukált neoangiogenezis, valamint a daganatsejtek mozgásának mind jobb megismerése fontos adatokat szolgáltatnak a metasztázisképzés pontosabb feltérképezéséhez. A daganatsejtek mozgása mechanikájának, vagy a szabályozásában résztvevő molekulák és azok kapcsolatainak megismerése, illetve az alternatív angiogenezis mechanizmusok feltérképezése mind-mind potenciális új terápiás célpontok azonosítását feltételezik.

1. **J. Tóvári**, S. Paku, E. Rásó, F. Tímár, L. Puskás, J. Timár: Mechanism of cell movement in metastatic human tumor cells. *Anticancer Res* 24 (5D): 3656, 2004. IF.: 1,347
2. István Kenessey, **József Tóvári**, József Timár: Blocking of EGF receptor tyrosine kinase by ZD1839 (gefitinib) causes inhibition of cell proliferation and migration in human melanoma cell lines. 18th Meeting of the European Association For Cancer Research (EACR18), Innsbruck, Austria 2004.
3. István Kenessey, **József Tóvári**, Erzsébet Rásó, Zsófia Kramer and József Tímár: Blocking of EGF receptor tyrosine kinase causes inhibition of cell proliferation and migration in human melanoma cell lines. *Molecular Mechanisms in Signal Transduction and Cancer*, Island of Spetses, Greece, August 15 - 26, 2005
4. Kenessey I, **Tóvári J**, Rásó E, Ádám A, Kramer Zs, Timár J: Targeting EGFR and Met in human melanoma. 19th Meeting of the European Association For Cancer Research (EACR19), Budapest, July 1-4, 2006.
5. **Tóvári József**, Bereczky Báborka, Gilly Réka, Skopál Judit, Vágó Ágnes, Tímár József: Heparinkezelés hatása a melanóma áttétképzésére preklinikai modellben. *Magyar Onkológia* 48: 235-241. 2004.
6. Báborka Bereczky, Réka Gilly, Erzsébet Rásó, Ágnes Vágó, József Tímár and **József Tóvári**: Selective antimetastatic effect of heparins in preclinical human melanoma models is based on inhibition of migration and microvascular arrest. *Clin Exp Metast* 22: 69-76, 2005. IF.: 3,048
7. Tímár J, **Tóvári J**, Rásó E, Mészáros L, Bereczky B, Lapis K. Platelet-mimicry of cancer cells: epiphenomenon with clinical significance. *Oncology* 69: 185-201. 2005. IF.: 2,114.
8. Simon Erika, Kenessey István, Rásó Erzsébet, **Tóvári József**: Oligoszacharidok hatása humán melanoma progressziójára preklinikai modellben, 36. Membrán-Transzport konferencia, május 23-26. Sümeg, 2006.
9. **Tóvári J**, Gilly R, Rásó E, Paku S, Bereczky B, Varga N, Vágó Á, Tímár J. Recombinant human erythropoietin alpha targets intratumoral blood vessels, improving chemotherapy in human xenograft models. *Cancer Res.* 65: 7186-7193. 2005. IF.: 7,690.
10. Lövey J, Kenessey I, Rásó E, Dobos J, Vágó A, Kásler M, Futosi K, Döme B, Tímár J, Tóvári J. [Human recombinant erythropoietin-alpha increases the efficacy of irradiation in preclinical model] *Magy Onkol.* 51(1): 53-61. 2007.
11. Lövey J, Bereczky B, Gilly R, Kenessey I, Rásó E, Simon E, Dobos J, Vágó A, Kásler M, Döme B, Tímár J, **Tóvári J**. Recombinant Human Erythropoietin alpha Improves the Efficacy of Radiotherapy of a Human Tumor Xenograft, Affecting Tumor Cells and Microvessels. *Strahlenther Onkol.* 184(1):1-7. 2008. IF.: 3,682.
12. Dome B, Hendrix MJ, Paku S, **Tovari J**, Timar J.: Alternative vascularization mechanisms in cancer: Pathology and therapeutic implications. *Am J Pathol.* 170:1-15. 2007. IF.: 5,917.

13. Timár József, Paku Sándor, Tóvári József, Döme Balázs:[Rationale of antiangiogenic therapy] Magyar Onkológia 50:141-51. 2006.
14. Dome B, Dobos J, **Tovari J**, Paku S, Kovacs G, Ostoros G, Timar J. Circulating bone marrow-derived endothelial progenitor cells: characterization, mobilization and therapeutic considerations in malignant disease. Cytometry A (in press) IF: 2,115
15. Dome B, Timar J, Dobos J, Meszaros L, Raso E, Paku S, Kenessey I, Ostoros G, Magyar M, Ladanyi A, Bogos K, **Tovari J**: Identification and clinical significance of circulating endothelial progenitor cells in human non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 66: 7341-7347. 2006. IF.: 7,565.