

## Hipoksja w raku gruczołu krokowego

Justyna Danielska<sup>1</sup>, Jolanta Łuniewska-Bury<sup>2</sup>, Łukasz Kuncman<sup>1</sup>, Jacek Fijuth<sup>1</sup>

Ekspresja HIF-1 $\alpha$  została udokumentowana w większości guzów litych, w tym w raku gruczołu krokowego. Hipoksja jest negatywnym czynnikiem prognostycznym efektów leczenia nie tylko za pomocą radioterapii, ale również chirurgii i chemioterapii. Niedotlenienie zmienia funkcje komórek nowotworowych, stymulując je do odróżnicowywania i uwalniania czynników angiogennych w celu zwiększenia dopływu krwi i tlenu. Hipoksja komórek nowotworowych przyczynia się do dynamicznego rozwoju choroby. Białko HIF-1 (*hypoxia induced factor*) jest heterodimerskim czynnikiem transkrypcyjnym zbudowanym z dwóch podjednostek  $\alpha$  i  $\beta$ .

Obecność nadekspresji czynnika transkrypcyjnego HIF-1 $\alpha$  została potwierdzona w wielu nowotworach, również w raku stercza, natomiast jego rola w progresji choroby pozostaje niewyjaśniona. Liczne badania wyraźnie podkreślają istotność oceny statusu czynnika transkrypcyjnego HIF-1 $\alpha$  w przewidywaniu wystąpienia wznowy klinicznej i biochemicznej raka gruczołu krokowego oraz oporności na kastrację.

Biuletyn PTO NOWOTWORY 2017; 2, 2: 165–170

**Słowa kluczowe:** hipoksja, rak stercza, czynnik indukowany hipoksją 1

### Wstęp

Rak stercza stanowi jeden z najczęściej rozpoznawalnych nowotworów litych w populacji męskiej na świecie. Nowotwory gruczołu krokowego są drugą co do częstości przyczyną choroby nowotworowej u mężczyzn, stanowiąc ponad 13% zachorowań na nowotwory złośliwe w Polsce. Większość zachorowań dotyczy osób powyżej 65 roku życia. W ciągu trzech dekad liczba zachorowań wzrosła około 5-krotnie [1]. W momencie rozpoznania większość pacjentów ma guzy, które są klinicznie ograniczone do narządu lub miejscowo zaawansowane [2].

W większości (90%) przypadków nowotwory gruczołu krokowego należą do gruczolakoraków. Rzadsze postacie histopatologiczne obejmują: mięsaki, raki płaskonabłonkowe, raki podstawnokomórkowe, raki z nabłonka urotelialnego, raki drobnokomórkowe i inne. Zróżnicowanie histopatologiczne raka stercza ocenia się na podstawie klasyfikacji Gleasona, która niesie ze sobą ważne informacje prognostyczne. Wyższa suma Gleasona wiąże się ze zwiększonym

ryzykiem progresji choroby, wznowy po leczeniu radykalnym, wystąpienia przerzutów i zgonu.

Pomimo leczenia radykalnego u 15–50% pacjentów dochodzi do wznowy biochemicznej, a u części chorych — do wystąpienia przerzutów i zgonu [2, 3]. Odsetek nawrotów zależy od ustalonych czynników rokowniczych takich jak: wyjściowy stopień zaawansowania (TNM), stopień złośliwości w skali Gleasona i wyjściowe stężenie PSA (*prostate-specific antigen*). Jednak czynniki te jedynie w umiarkowanym stopniu wyjaśniają zmienność efektów leczenia.

Postępy w dziedzinie genomiki medycznej i medycyny molekularnej zrewolucjonizowały badania nad rakiem w ostatnich latach. Prowadzone są badania nad terapiami celowanymi, które mają za zadanie zapewnić trwałą kontrolę guza, jednocześnie wywołując mniej skutków ubocznych niż aktualnie stosowane standardowe metody leczenia.

Strategiczne zagadnienia w leczeniu i diagnostyce raka stercza obejmują nie tylko wyodrębnienie grupy pacjen-

<sup>1</sup>Zakład Radioterapii, Katedra Onkologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

<sup>2</sup>Zakład Teleradioterapii, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika w Łodzi

**Artykuł w wersji pierwotnej:**

Danielska J, Łuniewska-Bury J, Kuncman Ł, Fijuth J. Hypoxia in prostate cancer. *NOWOTWORY J Oncol* 2017; 67: 132–136.

Należy cytować wersję pierwotną.

tów z agresywnym przebiegiem choroby, ale także rozwój zindywidualizowanych metod leczenia dostosowanych do danego pacjenta. Istnieje niezaspokojone zapotrzebowanie na poszukiwanie lepszych markerów dla raka stercza od tych stosowanych dotychczas. Przede wszystkim potrzebne jest znalezienie markerów służących do identyfikacji pacjentów wysokiego ryzyka, u których standardowe metody leczenia radykalnego dają niezadowalające efekty, a którzy kwalifikowaliby się do udziału w badaniach klinicznych stosujących bardziej agresywne metody. Identyfikacja markerów w przebiegu raka gruczołu krokowego pozwoliłaby na poznanie podłoża choroby i mechanizmów molekularnych będących podstawą progresji choroby, nadając kierunek poszukiwaniom nowych celów terapeutycznych. Postępujące zaburzenia genetyczne dotyczące genów regulujących proliferację, różnicowanie i migrację komórek, a także sygnalizację wewnątrzkomórkową wpływają najpierw na rozwój neoplazji śródbłonkowej, a następnie na wystąpienie inwazyjnego raka stercza. Hipoksja jest cechą wielu nowotworów ludzkich i uważana jest za istotny modulator cech klinicznych raka oraz odpowiedzi na leczenie, na które wpływa poprzez zmiany genomowe i molekularne, indukując występowanie miejscowego zaawansowania oraz przerzutów [4, 5]. Coraz częściej mikrośrodowisko guza i hipoksja są badane jako potencjalne czynniki prognostyczne w raku prostaty [6]. Ekspresja swoistych markerów niedotlenienia guza jest istotnym predyktorem wyników leczenia wielu nowotworów nie tylko za pomocą promieniowania jonizującego, ale również chirurgii [7].

### Hipoksja w guzie

Hipoksja jako patofizjologiczne następstwo niedopasowania pomiędzy podażą a popytem tlenu jest cechą choroby nowotworowej, która wynika bezpośrednio z wysokich wymagań metabolicznych szybko dzielących się komórek nowotworowych zależnych od dynamicznej, nieprzewidywalnej i nieefektywnej neowaskularyzacji. Większość guzów litych do wzrostu potrzebuje własnego dopływu krwi, który zostaje zapewniony dzięki procesowi angiogenezy. Zwiększone zapotrzebowanie na tlen prowadzi do chaotycznego tworzenia sieci naczyń. Mimo intensywnej neowaskularyzacji w guzach nowotworowych występuje niska gęstość unaczynienia oraz uboga sieć tętniczek, co skutkuje upośledzonym i mniej wydajnym transportem krwi w guzie.

Pierwsze doniesienia, iż hipoksja może być obecna w guzie nowotworowym, zostały przedstawione przez Thomlinsona i Graya w 1955 roku [8]. Prowadzili oni obserwację na skrawkach histologicznych świeżych próbek z ludzkiego raka płuca. Obserwowali unaczynione obszary guza, z których komórki nowotworowe zaspokajały swoje zapotrzebowanie na tlen i składniki odżywcze na odległość 150–180 mikrometrów. W związku z tym zauważyli występowanie strefy żywych komórek nowotworowych zdolnych do proliferacji,

otoczonych zrębem naczyń krwionośnych oraz, w miarę wzrostu obwodowej części guza, strefę martwicy, w której występowała anoksja. Zdefiniowali oni hipoksję chroniczną poprzez wykazanie obecności komórek hipoksycznych, zdolnych do życia, ale niedotlenianych, występujących na granicy między komórkami utlenowanymi a strefą martwicy.

Dziś wiemy, iż nowotwory stanowią heterogenną populację komórek o różnym stopniu utlenowania. Klinicznie istotne stężenia hipoksji są wykrywane w 50–60 % wszystkich nowotworów [9]. Są one mniej utlenowane niż tkanki prawidłowe, w których parcjalne ciśnienie tlenu wynosi od 20 mm Hg w wątrobie i mózgu do 70 mm Hg w nerkach [10, 11]. Przy spadku poziomu tlenu w tkankach poniżej fizjologicznych norm ich zdolność do utrzymania normalnych funkcji komórkowych zostaje upośledzona. Prężność tlenu poniżej poziomu 10 mm Hg prowadzi do zwiększonej ekspresji czynnika HIF-1 oraz uruchomienia wielu innych szlaków molekularnych mających na celu zachowanie podstawowych funkcji komórkowych. Ta złożona i dynamiczna reakcja ma szeroko idące konsekwencje w postaci zwiększonej angiogenezy, przejścia z metabolizmu tlenowego na beztlenowy, hamowania apoptozy i aktywacji czynników wzrostowych oraz nieodwracalnych zmian w genomie komórkowym [12–14].

Względny poziom tlenu w guzie nowotworowym w czasie napromieniania ma wpływ na skuteczność radioterapii. Przy ciśnieniu parcjalnym tlenu poniżej 10 mmHg komórki nowotworowe wchodzą w stan hipoksji, w wyniku czego stają się 2–3-krotnie bardziej radiooporne niż komórki dobrze utlenowane. Promieniooporność tych komórek jest związana z brakiem tlenu, odpowiedzialnego za utrwalanie uszkodzeń DNA spowodowanych napromienianiem [15]. Radiooporność komórek hipoksycznych w guzach nowotworowych jest największa przy  $pO_2$  poniżej 5 mm Hg [16, 17].

Uznaje się, że mimo iż frakcje komórek hipoksycznych obecne są w większości nowotworów, to ich wpływ na progresję, tworzenie przerzutów oraz odpowiedź na leczenie jest zmienny i jest mało prawdopodobne, żeby był jednako istotny u wszystkich pacjentów.

Jednym z najważniejszych białek, pozwalającym komórkom na adaptację do niskiego stężenia tlenu w środowisku, jest białko HIF-1.

### Białko HIF-1

Białko HIF-1 (*hypoxia induced factor*) jest heterodimerycznym czynnikiem transkrypcyjnym zbudowanym z dwóch podjednostek alfa i beta [18, 19]. U człowieka zidentyfikowano 3 geny: *HIF-1A*, *EPAS1* i *HIF3A*, które kodują odpowiednio HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$  i HIF-3 $\alpha$  [20–21]. HIF-1 $\alpha$  oraz HIF-2 $\alpha$  posiadają podobną strukturę, funkcje oraz szlaki regulacyjne, natomiast HIF-3 $\alpha$  pełni funkcję inhibitora transkrypcyjnej odpowiedzi na hipoksję. W warunkach tlenowych podjednostka  $\alpha$  białka HIF-1 jest degradowana

w komórce na drodze ubiquitynacji, a podjednostka  $\beta$  jest niezależnym od prężności tlenu białkiem konstytutywnym znajdującym się w jądrze komórkowym [22]. Proces degradacji podjednostki  $\alpha$  jest zapoczątkowany przez posttranslacyjną hydroksylację aminokwasów proliny 402 i proliny 564 [23–25]. Dzięki hydroksylacji podjednostka  $\alpha$  białka HIF jest rozpoznawana przez białko von Hippel-Lindau (pVHL), które jest fragmentem kompleksu ligazy ubiquitynowej. Do tak zmodyfikowanej podjednostki  $\alpha$  przyłącza się białko von Hippel-Lindau (pVHL) — produkt genu supresorowego VHL, a następnie cząsteczki ubiquityny. Rozkład podjednostki  $\alpha$  odbywa się w proteasomie.

W warunkach hipoksji do podjednostki  $\alpha$  nie są przyłączane grupy hydroksylowe i nie następuje proces hydroksylacji oraz oddziaływanie z pVHL. Wówczas białko HIF-1 $\alpha$  preferencyjnie łączy się z transkrypcyjnymi koaktywatorami p300 i CBP. Konsekwencją tego jest zahamowanie rozkładu białka HIF-1 na drodze ubiquitynacji. Wówczas podjednostka  $\alpha$  przedostaje się do jądra komórkowego i łączy się z podjednostką  $\beta$ , co prowadzi do pobudzenia ekspresji genów w odpowiedzi na stan hipoksji. Do genów regulowanych przez niedotlenienie zaliczamy geny zaangażowane w angiogenezę (kodujące VEGF — *vascular endothelial growth factor*), glikolizę (kodujące GLUT — *glucose transporters*) oraz kontrolę pH (kodujące anhidrazę węglanową IX) [22, 26].

W warunkach hipoksji białko HIF-1 może indukować ekspresję kilkudziesięciu genów, które kodują białka odpowiadające za metabolizm energetyczny, neowaskularyzację, wewnątrzkomórkowe pH oraz migrację komórek nowotworowych.

Mimo że obecność nadekspresji czynnika transkrypcyjnego HIF-1 $\alpha$  została potwierdzona w wielu nowotworach, m.in.: piersi, odbytnicy, stercza i szyjki macicy [27–32], jego rola w progresji choroby pozostaje niewyjaśniona. Wysokie stężenia HIF-1 $\alpha$  w liniach komórkowych raka nerki i sutka wpływały na zwiększenie przeżywalności komórek rakowych, natomiast w raku jajnika miały związek ze zwiększoną apoptozą. Korelacja pomiędzy zwiększoną ekspresją HIF-1 $\alpha$  a opornością na apoptozę i gorszym rokowaniem nie jest tożsama dla każdego nowotworu. Volm i wsp. w badaniu nad niedrobnokomórkowym rakiem płuca wykazali związek między ekspresją HIF-1 $\alpha$  a apoptozą komórek nowotworowych i zwiększoną medianą czasu przeżycia [32]. Inne badanie w podobnej grupie chorych nie potwierdziło tych doniesień [33].

W wielu nowotworach nadekspresja HIF-1 $\alpha$  jest obserwowana na wczesnym etapie rozwoju nowotworu i koreluje ze zwiększoną gęstością unaczynienia w zmianie. Bos i wsp. wykazali, iż rak przewodowy *in situ*, który jest wczesnym przedinwazyjnym stadium raka piersi, charakteryzuje się zwiększoną ekspresją białka HIF-1 $\alpha$ , co wiąże się z większą gęstością naczyń guza [34]. To samo zjawisko zaob-

serwowano w raku jajnika i guzach mózgu, sugerując, że aktywność HIF-1 przyczynia się do zwiększonej produkcji proangiogennych czynników takich jak VEGF [35, 36]. Związek między ekspresją HIF-1 $\alpha$  a stopniem zaawansowania guza i jego unaczynieniem udowodniono również w guzach mózgu [36].

Aebersold i wsp., badając ekspresję HIF-1 $\alpha$  w raku nosogardła, wykazali, iż chorzy z ekspresją HIF-1 $\alpha$  w > 10% komórek guza mieli 3-krotnie mniejszą szansę na uzyskanie całkowitej remisji po radioterapii w porównaniu z grupą chorych ze zwiększoną ekspresją białka HIF-1 $\alpha$  w < 10% komórek nowotworowych [37].

## Hipoksja w raku stercza

W praktyce klinicznej w celu wyróżnienia komórek hipoksycznych w nowotworach stosowane są cztery główne metody: ocena immunohistochemicznej ekspresji białek — markery wewnątrzkomórkowe i zewnątrzkomórkowe hipoksji, mikroelektrody, obrazowanie obszaru hipoksji oraz obrazowanie utlenowania hemoglobiny.

Wielu badaczy dotychczas udowodniło, że w raku stercza znajdują się rejony hipoksyczne [38, 40–42]. Na podstawie badań immunohistochemicznych z wykorzystaniem markerów niedotlenienia komórek i bezpośrednich pomiarów tlenu elektrodami klinicznie istotne poziomy niedotlenienia są wykrywane w 30–90% przypadków raka stercza. Niestety, nadal niewiele wiadomo na temat wpływu hipoksji w raku gruczołu krokowego na czas wolny od progresji i długofalowe efekty leczenia radioterapeutycznego i chirurgicznego. Vergis i wsp. zbadali mikromacierze tkankowe pobrane od grupy 201 chorych z miejscowo zaawansowanym rakiem stercza, którzy zostali poddani neoadiuwantowej hormonoterapii oraz radioterapii. Ich badanie pokazało, iż zwiększona ekspresja białka HIF-1 oraz genu VEGF były niezależnymi czynnikami związanymi z wystąpieniem wznowy biochemicznej. Vergis i wsp. udowodnili, iż zwiększona ekspresja czynnika transkrypcyjnego HIF-1 $\alpha$  jest niezależnym czynnikiem prognostycznym progresji biochemicznej u pacjentów chorych na raka stercza poddanych radioterapii lub prostatektomii [43]. Ich ustalenia są zgodne z wynikami badań Movsasa i wsp. [42], którzy zbadali grupę 57 pacjentów chorych na raka stercza z grupy niskiego i pośredniego ryzyka poddanych brachyterapii. Movsas i wsp. wykazali istotny związek pomiędzy utlenowaniem guza a czasem do wystąpienia wznowy biochemicznej. Ten fakt może wskazywać na to, iż hipoksja jest klinicznie istotnym wyznacznikiem przebiegu choroby. Jednak należy pamiętać, że zwiększona ekspresja HIF-1 może być również wywołana poprzez czynniki niezależne od hipoksji, takie jak zmieniona ekspresja onkogenów i supresorów nowotworowych, wolne rodniki tlenowe, androgeny i inne czynniki wzrostowe [44–46].

Badacze z Princess Margaret Cancer Centre w Toronto przeprowadzili prospektywne badanie na grupie 247 pa-

cientów z rakiem stercza, u których zmierzono za pomocą mikroelektrod Eppendorfa prężność tlenu w gruczole krokowym przed radioterapią. Mediana pO<sub>2</sub> wynosiła 6,8 mm Hg, a mediana procentowa niedotlenienia — mniej niż 10 mm Hg [47]. Wyniki ich badań wykazały, że niedotlenienie jest związane z wystąpieniem wczesnej wznowy biochemicznej oraz wznowy miejscowej w gruczole krokowym po radioterapii lub radioterapii skojarzonej z hormonoterapią.

Badacze z Centrum Onkologii im. F. Łukaszczyka w Bydgoszczy poddali analizie 43 bloczki parafinowe gruczolakoraków stercza pochodzące od pacjentów po pierwotnej prostatektomii. Przeprowadzili oni ocenę nasilenia hipoksji w tkankach stercza na podstawie analizy ekspresji białka HIF-1 $\alpha$ . Badanie ich wykazało obecność hipoksji w guzie pierwotnym w 90,7% raków stercza. Odnotowali również istotną statystycznie korelację indeksu wiązania HIF-1 $\alpha$  ze stopniem złośliwości histologicznej guzów w skali Gleasona [48]. W wielu innych badaniach nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy poziomem ekspresji HIF-1 $\alpha$  a standardowymi czynnikami prognostycznymi w raku stercza [27, 28, 49–51].

Zapatero i wsp. przeprowadzili retrospektywne badanie oceniające ekspresję HIF-1 $\alpha$  na grupie 86 mężczyzn chorych na raka stercza z grupy pośredniego i wysokiego ryzyka poddanych hipofrakcjonowanej radioterapii skojarzonej z hormonoterapią. Mediana czasu obserwacji wynosiła 10 lat. Zaskakująco, nadekspresja cytoplazmatycznego HIF-1 $\alpha$  wiązała się z poprawą przeżycia całkowitego [52].

Rak gruczołu krokowego jest nowotworem hormonozależnym, którego leczenie systemowe polega przede wszystkim na eliminacji androgenów z organizmu. Skojarzenie radioterapii z hormonoterapią w leczeniu miejscowo zaawansowanego raka gruczołu krokowego prowadzi do zmniejszenia komórek klonogennych guza, a zatem stwarza większe szanse wyeliminowania pozostałych komórek w trakcie radioterapii. Co więcej, zastosowanie hormonoterapii, zmniejszając liczbę komórek w obrębie guza nowotworowego, przyczynia się do poprawy utlenowania pozostałych komórek nowotworowych. Ostatnio przeprowadzone badania wskazują, że hormonoterapia poprawia utlenowanie w komórkach nowotworowych stercza [53]. Jednak pomimo wysokiej skuteczności hormonoterapii u części chorych po pewnym czasie dochodzi do progresji choroby wynikającej z uniezależnienia komórek raka stercza od endogennych androgenów. W latach 90. XX w. Visakorpi i wsp. udowodnili, że wówczas w komórkach raka stercza nadal działają szlaki transdukcji sygnału związane z receptorami androgenowymi, a same receptory ulegają aktywacji niezależnie od obecności endogennych androgenów [54]. Wtedy, przy kastracyjnych poziomach testosteronu, powstaje rak gruczołu krokowego odporny na kastrację (CRPC

— *castration resistant prostate cancer*). CRPC jest śmiertelną formą raka, z dużym potencjałem przerzutowania. W momencie zdiagnozowania oporności na kastrację u 84% chorych występują przerzuty. CRPC wiąże się ze znacznym pogorszeniem jakości życia [55]. Ważnym kierunkiem w badaniach nad rakiem stercza jest poszukiwanie czynników, które pomogłyby w identyfikacji pacjentów, u których rozwinię się oporność na kastrację. Obecnie dostępnych jest tylko kilka biomarkerów przydatnych w identyfikacji CRPC. Niewiele jest również możliwości terapeutycznych u pacjentów z powyższym rozpoznaniem [56, 57].

Ranasinghe i wsp. oceniali rolę HIF-1 $\alpha$  w powstawaniu CRPC w warunkach *in vitro* [58]. Badali oni trzy linie komórkowe ludzkiego raka gruczołu krokowego: PC3, DU 145 i LNCaP. Wykazali, że HIF-1 $\alpha$  jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju CRPC. Ekspresja HIF-1 $\alpha$  była niezależna od skali Gleasona, stadium nowotworu i zastosowanego leczenia. Analiza wieloczynnikowa wykazała, że ryzyko rozwoju raka gruczołu krokowego opornego na kastrację u pacjentów poddawanych hormonoterapii, u których występowała nadekspresja HIF-1 $\alpha$ , było 10-krotnie większe. Obserwacja ta wyraźnie podkreśla istotność oceny statusu czynnika transkrypcyjnego HIF-1 $\alpha$  w prognozowaniu rozwoju oporności na kastrację w raku stercza oraz w selekcji chorych kwalifikujących się do nowatorskich hormonoterapii drugiego rzutu.

## Podsumowanie

Hipoksja jest negatywnym czynnikiem prognostycznym efektów leczenia nie tylko za pomocą radioterapii, ale również chirurgii i chemioterapii [59, 60]. Stanowi to silne uzasadnienie dla prowadzenia badań nad skojarzeniem standardowego leczenia onkologicznego z czynnikami ukierunkowanymi na niedotlenienie. Dużym wyzwaniem pozostaje znalezienie klinicznie istotnego testu do pomiaru hipoksji, który byłby tani, nieinwazyjny i odtwarzalny.

## Lista stosowanych skrótów:

VHL — von Hippel-Lindau  
pVHL — białko von Hippel-Lindau  
VEGF — *vascular endothelial growth factor*  
HIF-1 — *hypoxia-inducible factor 1*  
HIF-1 $\alpha$  — *hypoxia-inducible factor 1 alpha*

## Konflikt interesów: nie zgłoszono

### Lek. Justyna Danielska

Zakład Radioterapii  
Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. Mikołaja Kopernika  
ul. Pabianicka 62, 93–513 Łódź  
e-mail: justyna\_danielska@gazeta.pl

Otrzymało: 21 lipca 2016 r.

Przyjęto do druku: 28 listopada 2016 r.

## Písmiennictwo

1. Krajowy Rejestr Nowotworów. www.onkologia.org.pl.
2. Nichol AM, Warde P, Bristow RG. Optimal treatment of intermediate-risk prostate carcinoma with radiotherapy: clinical and translational issues. *Cancer* 2005; 104: 891–905.
3. Kupelian PA, Potters L, Khuntia D i wsp. Radical prostatectomy, external beam radiotherapy < 72 Gy, external beam radiotherapy > or = 72 Gy, permanent seed implantation, or combined seeds/external beam radiotherapy for stage T1–T2 prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 58: 25–33.
4. Bristow RG, Hill RP. Hypoxia and metabolism. Hypoxia, DNA repair and genetic instability. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 180–192.
5. Hill RP, Marie-Egyptienne DT, Hedley DW. Cancer stem cells, hypoxia and metastasis. *Semin Radiat Oncol* 2009; 19: 106–111.
6. Weber D, Tille J, Combescure C i wsp. The prognostic value of expression of HIF1 $\alpha$ , EGFR and VEGF-A, in localized prostate cancer for intermediate- and high-risk patients treated with radiation therapy with or without androgen deprivation therapy. *Radiat Oncol* 2012; 7: 66.
7. Vergis R, Corbishley CM, Norman AR i wsp. Intrinsic markers of tumour hypoxia and angiogenesis in localised prostate cancer and outcome of radical treatment: a retrospective analysis of two randomised radiotherapy trials and one surgical cohort study. *Lancet Oncol* 2008; 9: 342–351.
8. Thomlinson RH, Gray LH. The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy. *Br J Cancer* 1955; 9: 539–549.
9. Ljungkvist AS, Bussink J, Kaanders JH i wsp. Dynamics of hypoxia, proliferation and apoptosis after irradiation in a murine tumor model. *Radiat Res* 2006; 165: 326–336.
10. Vaupel P, Kalinowski F, Okunieff P. Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review. *Cancer Res* 1989; 49: 6449–6465.
11. Carreau A, El Hafny-Rahni B, Matejuk A i wsp. Why is the partial oxygen pressure of human tissues a crucial parameter? Small molecules and hypoxia. *J Cell Mol Med* 2011; 15: 1239–1253.
12. Graeber TG, Osmanian C, Jacks T i wsp. Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumors. *Nature* 1996; 379: 88–91.
13. Kim CY, Tsai MH, Osmanian C i wsp. Selection of human cervical epithelial cells that possess reduced apoptotic potential to low-oxygen conditions. *Cancer Res* 1997; 57: 4200–4204.
14. Bristow RG, Berlin A, Dal Pra A. An arranged marriage for precision medicine: hypoxia and genomic assays in localized prostate cancer radiotherapy. *Br J Radiol* 2014; 87: 20130753. doi: 10.1259/brj.
15. Bristow R, Hill R. Molecular and cellular radiobiology. W: *The basic science of oncology*. Tannock I i wsp. (eds.). New York: McGraw-Hill Ltd, 2005: 261–288.
16. Brown JM, Wilson WR. Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 437–447.
17. Wilson WR, Hay MP. Targeting hypoxia in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 393–410.
18. Wang GL, Jiang BH, Rue EA i wsp. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 5510–5514.
19. Tian YM, Yeoh KK, Lee MK i wsp. Differential sensitivity of hypoxia inducible factor hydroxylation sites to hypoxia and hydroxylase inhibitors. *J Biol Chem* 2011; 286: 13041–13051.
20. Zhou J1, Li K, Gu Y i wsp. Transcriptional up-regulation of RhoE by hypoxia-inducible factor (HIF)-1 promotes epithelial to mesenchymal transition of gastric cancer cells during hypoxia. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 415: 348–354.
21. Duechler M, Wilczynski J. Hypoxia inducible factor-1 in cancer immune suppression. *Curr Immunol Rev* 2010; 6: 260–271.
22. Bruick RK, McKnight SL. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science* 2001; 294: 1337–1340.
23. Cuninghame S, Jackson R, Zehbe I. Hypoxia-inducible factor 1 and its role in viral carcinogenesis. *Virology* 2014; 456–457: 370–383.
24. Janke K, Brockmeier U, Kuhlmann K i wsp. Factor inhibiting HIF-1 (FIH-1) modulates protein interactions of apoptosis-stimulating p53 binding protein 2 (ASBP2). *J Cell Sci* 2013; 126: 2629–2640.
25. Semenza GL. Regulation of mammalian O<sub>2</sub> homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1999; 15: 551–578.
26. Zhong H, De Marzo AM, Laughner E i wsp. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 alpha in common human cancers and their metastases. *Cancer Res* 1999; 59: 5830–5835.
27. Talks KL, Turley H, Gatter KC i wsp. The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$  in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages. *Am J Pathol* 2000; 157: 411–421.
28. Quintero M1, Mackenzie N, Brennan PA. Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) in cancer. *Eur J Surg Oncol* 2004; 30: 465–468.
29. Brahimi-Horn MC, Bellot G, Pouyssegur J. Hypoxia and energetic tumour metabolism. *Curr Opin Genet Dev* 2011; 21: 67–72.
30. Kimbro KS, Simons JW. Hypoxia-inducible factor-1 in human breast and prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* 2006; 13: 739–749.
31. Vaupel P. The role of hypoxia-induced factors in tumor progression. *Oncologist* 2004; 9 Suppl 5: 10–17.
32. Volm M, Koomagi R. Hypoxia-inducible factor (HIF-1) and its relationship to apoptosis and proliferation in lung cancer. *Anticancer Res* 2000; 20: 1527–1533.
33. Giatromanolaki A, Koukourakis M, Siviridis E i wsp. Relation of hypoxia inducible factor 1 alpha and 2 alpha in operable non-small cell lung cancer to angiogenic/molecular profile of tumors and survival. *Br J Cancer* 2001; 85: 881–890.
34. Bos R, Zhong H, Hanrahan C i wsp. Levels of hypoxia-inducible factor-1 alpha during breast carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 309–314.
35. Birner P, Schindl M, Obermaier A i wsp. Expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha in epithelial ovarian tumors: its impact on prognosis and on response to chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1661–1668.
36. Zagzag D, Zhong H, Scalzitti JM i wsp. Expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha in brain tumors; association with angiogenesis, invasion and progression. *Cancer* 2000; 88: 2606–2618.
37. Aebersold DM, Burri P, Beer KT i wsp. Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha: a novel predictive and diagnostic parameter in the radiotherapy of oropharyngeal cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 2911–2916.
38. Carnell DM, Smith RE, Daley FM i wsp. An immunohistochemical assessment of hypoxia in prostate carcinoma using pimonidazole: implications for radioresistance. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 65: 91–99.
39. Song X, Liu X, Chi W i wsp. Hypoxia-induced resistance to cisplatin and doxorubicin in non-small cell lung cancer is inhibited by silencing of HIF-1 $\alpha$  gene. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 58: 776–784.
40. Hoskin PJ, Carnell DM, Taylor NJ i wsp. Hypoxia in prostate cancer: correlation of BOLD-MRI with pimonidazole immunohistochemistry-initial observations. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 68: 1065–1071.
41. Parker C, Milosevic M, Toi A i wsp. Polarographic electrode study of tumour oxygenation in clinically localized prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 58: 750–757.
42. Movsas B, Chapman JD, Horwitz EM i wsp. Hypoxic regions exist in human prostate carcinoma. *Urology* 1999; 53: 11–18.
43. Vergis R, Corbishley CM, Norman AR i wsp. Intrinsic markers of tumour hypoxia and angiogenesis in localised prostate cancer and outcome of radical treatment: a retrospective analysis of two randomised radiotherapy trials and one surgical cohort study. *Lancet Oncol* 2008; 9: 342–351.
44. Semenza GL. HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism. *Curr Opin Genet Dev* 2010; 20: 51–56.
45. Dewhirst MW, Cao Y, Moeller B. Cycling hypoxia and free radicals regulate angiogenesis and radiotherapy response. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 425–437.
46. Sarker D, Reid AH, Yap TA i wsp. Targeting the PI3K/AKT pathway for the treatment of prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4799–4805.
47. Milosevic M, Warde P, Menard C i wsp. Tumor hypoxia predicts biochemical failure following radiotherapy for clinically localized prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 2108–2114.
48. Andrusewicz H, Żyromska A, Makarewicz R. Wpływ nasilenia hipoksji i unaczynienia w guzie pierwotnym na występowanie klasycznych czynników rokowniczych u chorych na raka gruczołu krokowego — czy markery biologiczne są pomocne w przewidywaniu przebiegu choroby nowotworowej? *Współ Onkol* 2009; 13: 90–94.
49. Du Z, Fujiyama C, Chen Y i wsp. Expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha in human normal, benign, and malignant prostate tissue. *Chin Med J (Engl)* 2003; 116: 1936–1939.
50. Boddy JL, Fox SB, Han C i wsp. The androgen receptor is significantly associated with vascular endothelial growth factor and hypoxia sensing via hypoxia-inducible factors HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$ , and the prolyl hydroxylases in human prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 7658–7663.
51. Wu F, Ding S, Li X i wsp. Elevated expression of HIF-1 $\alpha$  in actively growing prostate tissues is associated with clinical features of benign prostatic hyperplasia. *Oncotarget* 2016; 7: 12053–12062.
52. Zapatero A, Morente M, de Vidales CM i wsp. HIF1A expression in localized prostate cancer treated with dose escalation radiation therapy. *Cancer Biomark* 2015; 15: 41–46.

53. Al-Ubaidi FL, Schultz N, Egevad L i wsp. Castration therapy of prostate cancer results in downregulation of HIF-1 $\alpha$  levels. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012; 82: 1243–1248.
54. Visakorpi T, Hyytinen E, Koivisto P i wsp. In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer. *Nat Genet* 1995; 9: 401–406.
55. Kirby M1, Hirst C, Crawford ED i wsp. Characterising the castration-resistant prostate cancer population: a systematic review. *Int J Clin Pract* 2011; 65: 1180–1192.
56. Boegemann M, Schrader AJ, Krabbe LM i wsp. Present, emerging and possible future biomarkers in castration resistant prostate cancer (CRPC). *Curr Cancer Drug Targets* 2015; 15: 243–255.
57. Chrisofos M, Stasinou T i wsp. The role of PCA 3 as a prognostic factor in patients with castration-resistant prostate cancer (CRPC) treated with docetaxel. *Anticancer Res* 2015; 35: 3075–3079.
58. Ranasinghe WK, Xiao L, Kovac S i wsp. The role of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  in determining the properties of castrate-resistant prostate cancers. *PLoS One* 2013; 8: e54251.
59. Lara PN, Frankel P, Mack PC i wsp. Tirapazamine plus carboplatin and paclitaxel in advanced malignant solid tumors: a California Cancer Consortium phase I and molecular correlative study. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4356–4362.
60. Harrison L, Blackwell K. Hypoxia and anemia: factors in decreased sensitivity to radiation therapy and chemotherapy? *Oncologist* 2004; 9 (Suppl 5): 31–40.