

Wiesława Bednarek<sup>1</sup>, Alicja Ćwiklińska<sup>2</sup>,  
Maria Mazurkiewicz<sup>3</sup>

<sup>1</sup> I Katedra i Klinika Ginekologii  
Onkologicznej i Ginekologii UM  
w Lublinie

Kierownik Prof. dr hab. Jan Kotarski  
<sup>2</sup> Oddział Ginekologiczny Okręgowego  
Szpitala Kolejowego SPZOZ w Lublinie

Ordynator: dr n. med. Irostaw Szymański  
<sup>3</sup> Katedra i Zakład Onkologii UM

w Lublinie  
Kierownik: prof. dr hab.  
Maria Mazurkiewicz

---

Address for correspondence/

Adres do korespondencji:

Dr hab. med. Wiesława Bednarek

I Katedra i Klinika Ginekologii

Onkologicznej

Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

ul. Stanisława Staszica 16, Lublin

e-mail: wbed@wp.pl

---

Received: 17.11.2008

Accepted: 18.01.2009

Published: 02.03.2009

## Markers and modulators of angiogenesis in ovarian cancer – can one use it practically?

### Markery i modulatory angiogenezy w raku jaj- nika – czy można je wykorzystać praktycznie?

Review article/Artykuł poglądowy

#### Summary

Select markers and modulators of angiogenesis are acknowledged prognostic factors in ovarian cancer patient. Conjointly with well-known factors such as: the age of the patient at the time of diagnosis, the degree of clinical advancement of the disease, the postoperative size of the tumor, the effusion in the peritoneal cavity, and the concentration of the CIRCA 125 antigen can all be used to formulate prognoses concerning the time of survival in about 75% cases. This work attempts to answer the question whether it is possible to practically utilize the markers and modulators of angiogenesis in their role as prognostic factors in forecasting 3 and 5-year survival times in ovarian cancer patients? A transformation of the results of a statistical analysis and construction of a nomograph is a quick and simple method to use at the patient's bedside.

**Key words:** ovarian cancer, prognostic factors, prognostic models

#### Streszczenie

Wybrane markery i modulatory angiogenezy są uznanymi czynnikami prognostycznymi u chorych na raka jajnika. W połączeniu ze znanymi czynnikami takimi jak: wiek chorej w chwili rozpoznania choroby, stopień zaawansowania klinicznego choroby, wielkość guza po operacji, wysięk w jamie otrzewnej, oraz stężenie antygenu CA 125 mogą być wykorzystane do formułowania prognoz dotyczących czasu przeżycia w około 75% przypadków. Celem pracy jest próba odpowiedzi na pytanie czy możliwe jest praktyczne wykorzystanie markerów i modulatorów angiogenezy w roli czynników prognostycznych w przewidywaniu 3 i 5 letniego przeżycia u chorych na raka jajnika? Przekształcenie wyników analizy statystycznej i skonstruowanie nomogramu jest szybką i prostą metodą możliwą do wykorzystania przy łóżku chorego.

**Słowa kluczowe:** rak jajnika, czynniki prognostyczne, modele prognostyczne

#### STATISTIC STATYSTYKA

Word count Liczba słów 1630/1235

Tables Tabele 0

Figures Ryciny 1

References Piśmiennictwo 21

## INTRODUCTION

Ovarian cancer is among the neoplasms with a poor prognosis. Probability of a 5-year survival from the time of disease diagnosis does not exceed 46% [1]. The probability of a 5-year survival is 90%, when the disease is detected in its first degree of clinical advancement. If the diagnosis is made in the III degree of clinical advancement, this probability amounts to 15-20%, while in IV degree it is less than 5% [2]. The poor prognosis constitutes a strong motivation to quest for effective methods of treatment which would enhance the chances of obtaining complete remission, extend the disease-free time as well as the total survival time.

According to current standards clinical conduct, the greatest efficiency is assured by the usage of combination therapy - combining surgical treatment with the adjuvant chemotherapy.

The surgical treatment of the ovarian cancer can consist of the following:

- original cytoreductive surgery - removal of a maximum amount (mass) of the primary tumor and metastatic foci.
- interval cytoreductive surgery - surgery following a preliminary chemotherapy, permits a removal of the greater mass of the tumor and improves the efficacy of postoperative chemotherapy,
- second-look operation - surgery at the end of chemotherapy, in patients without cancer symptoms,
- secondary cytoreductive surgery - in patients with remaining cancer, following the end of the adjuvant chemotherapy.
- palliative secondary surgery - in patients with symptoms of disease progression and a life-threatening condition, allowing for a temporary reduction of pain.

The disease-free time, as well as the entire time of survival, become extended in all subjects exposed to adjuvant chemotherapy [3]. In the primary combination treatment it is most recommended to use carboplatin or cisplatin with paclitaxel following radical surgery, or as adjuvant treatment after a maximal cytoreductive surgery. In patients, with respect to whom a decision was made to do a interval cytoreductive surgery, 3 cycles of chemotherapy are administered as a premedication before therapy, while subsequent 3 cycles are given after the surgery.

## PROGNOSTIC FACTORS

In ovarian cancer patients the prognostic factor can potentially be every phenotypic feature, reflecting the biological properties of the tumor [4]. The knowledge of the prognostic value of these features facilitates the clinical decisions, especially concerning of the method of treatment as well as the kind of information offered to the patient.

## WSTĘP

Rak jajnika należy do nowotworów o niekorzystnym rokowaniu. Prawdopodobieństwo przeżycia 5 lat od momentu rozpoznania choroby nie przekracza 46% [1]. Prawdopodobieństwo przeżycia 5 lat wynosi 90%, gdy choroba wykryta zostaje w I stopniu zaawansowania klinicznego. Jeśli rozpoznaje się raka w III stopniu, prawdopodobieństwo to wynosi 15-20%, zaś w IV stopniu mniej niż 5% [2]. Niekorzystne rokowanie stanowi silną motywację do poszukiwania skutecznych sposobów leczenia, które zwiększyłyby szanse uzyskania całkowitej remisji, wydłużyły czas wolny od choroby oraz całkowity czas przeżycia.

Według obowiązujących standardów postępowania, największą skuteczność zapewnia stosowanie leczenia skojarzonego – połączenie leczenia chirurgicznego z uzupełniającą chemioterapią.

Chirurgiczne leczenie raka jajnika może polegać na:

- pierwotnej operacji cytoredukcyjnej – usunięcie maksymalnej masy guza pierwotnego i ognisk przerzutowych,
- operacji odroczonej (*interval cytoreductive surgery*) – zabieg po wstępnej chemioterapii, pozwala usunąć większą masę guza i poprawia skuteczność chemioterapii pooperacyjnej,
- operacji drugiego wglądu (*second-look operation*) – zabieg po zakończeniu chemioterapii, u chorych bez objawów raka,
- wtórnej operacji cytoredukcyjnej (*secondary cytoreductive surgery*) – u chorych z przetrwałą chorobą nowotworową, po zakończeniu chemioterapii uzupełniającej,
- operacji paliatywnej (*palliative secondary surgery*) – u chorych z objawami progresji choroby i stanem bezpośredniego zagrożenia życia, pozwalającej na czasowe zmniejszenie dolegliwości.

Czas wolny od choroby oraz całkowity czas przeżycia ulegają wydłużeniu u wszystkich chorych poddawanych uzupełniającej chemioterapii [3]. W pierwotnym leczeniu skojarzonym najczęściej zaleca się stosowanie karboplatyny lub cisplatin z paklitakselem po doszczętnym leczeniu chirurgicznym, lub jako leczenie uzupełniające po maksymalnej cytoredukcji. U chorych u których podjęto decyzję o operacji odroczonej, stosuje się 3 cykle chemioterapii jako leczenie wstępne przed zabiegiem zaś kolejne 3 kursy podawane są po zabiegu operacyjnym.

## CZYNNIKI PROGNOZTYCZNE

Czynnikiem prognostycznym u chorych na raka jajnika może być potencjalnie każda fenotypowa cecha, odzwierciedlająca biologiczne właściwości nowotworu [4]. Znajomość wartości prognostycznej tych cech ułatwia podejmowanie decyzji klinicznych, szczególnie dotyczących sposobu leczenia oraz rodzaju informacji przekazywanych osobie chorej.

A most important prognostic factor in ovarian cancer patients is defined the degree of clinical advancement according to FIGO [5]. Controversies arise with regard to the practical utilization of the detailed FIGO classification due to the different skills of doctors making the first laparotomy and also, their assessment can be characterized by certain variability.

The histological classification, accepted by WHO and recommended by FIGO, includes 7 types of ovarian cancer [6]. The probability 5 the years survival from the moment of diagnosis of the disease differs depending on the histological type of the tumor [7]. Observed differences in the survival time stem from the different biological features of individual types cancer, their different ability to metastasize, as well as different sensitivity to administered cytostatics.

An independent prognostic factor is an effusion in the peritoneal cavity ascertained during the first laparotomy [8].

The range of the reduction of the mass of the tumor during the surgery is an important prognostic factor and is significant in forecasting the course of a disease. A size of the remaining lesion following the primary surgery greater than 2 cm is a poor prognostic factor [9].

The increased level of the CA125 antigen is noted in about 85% of ovarian cancer patients. The diagnostic sensitivity CIRCA 125 depends on the degree of clinical advancement of the tumor. Early development stages of the disease as well as an increased level of CIRCA 125 antigen are associated with a significant increase of the risk death [10]. This has not been observed in patients with advanced disease. The fall of the concentration CIRCA 125 in blood serum by at least 50% relative to the values from before the treatment, occurring in less than 20 days, is associated with a longer disease-free period and total survival time [11]. Patients, who do not experience a normalization of the CIRCA 125 concentration within the three months following surgery, demonstrate a three-fold greater risk of death [12].

## MARKERS AND MODULATORS OF ANGIOGENESIS AS PROGNOSTIC FACTORS

Understanding the role of angiogenesis in the development of ovarian tumors and an attempt to tie this process with the clinical course of the disease calls for reliable quantitative and qualitative indicators - markers of the angiogenesis. These are the phenotypic features of the neoplasm, evaluated by means of histopathological techniques, reflecting an intensification of the process of angiogenesis and its specific neoplastic nature.

Markers of angiogenesis assessed on the basis of the expression of different antigens specific to endothelial cells make possible the investigation into the degree of vascularization of the ovarian tumor. In cases of non-radical surgery the further progress of neo-angiogenesis in the left neoplastic tissue depends on the activity of metabolic stimuli as well as paracrine factors, which

Najważniejszym czynnikiem prognostycznym u chorych na raka jajnika jest stopień zaawansowania klinicznego określany według FIGO [5]. Kontrowersje budzi praktyczne wykorzystanie szczegółowej klasyfikacji FIGO ze względu na różne umiejętności lekarzy dokonujących pierwszej laparotomii jak również ich oceny mogą cechować się pewną zmiennością.

Klasyfikacja histologiczna, przyjęta przez WHO zalecana przez FIGO obejmuje 7 typów raka jajnika [6]. Prawdopodobieństwo 5 letniego przeżycia od momentu rozpoznania choroby różni się w zależności od typu histologicznego nowotworu [7]. Obserwowane różnice w czasie przeżycia wynikają z odmiennych cech biologicznych poszczególnych typów raka, różnej zdolności do tworzenia przerzutów oraz różnej wrażliwości na stosowane cytostatyki.

Niezależnym czynnikiem prognostycznym jest wysięk w jamie otrzewnej stwierdzany podczas pierwszej laparotomii [8].

Zakres redukcji masy guza w trakcie zabiegu chirurgicznego jest ważnym czynnikiem prognostycznym i ma istotne znaczenie w przewidywaniu przebiegu choroby. Rozmiar pozostawionej zmiany nowotworowej podczas pierwotnego zabiegu powyżej 2 cm jest czynnikiem pogarszającym rokowanie [9].

Podwyższone stężenie antygenu CA125 stwierdzane jest u około 85% chorych na raka jajnika. Czułość diagnostyczna CA 125 uzależniona jest od stopnia klinicznego zaawansowania nowotworu. Wczesne stadia rozwoju choroby oraz podwyższone stężenie antygenu CA 125 wiążą się z istotnym wzrostem ryzyka zgonu [10]. U chorych z zaawansowaną chorobą nie zauważano tak istotnego związku. Spadek stężenia CA 125 w surowicy krwi o co najmniej 50% w stosunku do wartości sprzed leczenia, zachodzący w krótszym czasie niż 20 dni, wiąże się z dłuższym czasem wolnym od choroby oraz z dłuższym całkowitym przeżyciem [11]. Pacjentki u których nie dochodzi do normalizacji stężenia CA 125 w czasie trzech miesięcy od zabiegu operacyjnego, wykazują trzykrotnie większe ryzyko zgonu [12].

## MARKERY I MODULATORY ANGIOGENEZY W ROLI CZYNNIKÓW PROGNOSTYCZNYCH

Poznanie roli angiogenezy w rozwoju raka jajnika i próba powiązania tego procesu z przebiegiem klinicznym choroby wymaga wiarygodnych ilościowych i jakościowych wykładników – markerów angiogenezy. Są to cechy fenotypowe nowotworu, oceniane za pomocą technik histopatologicznych, odzwierciedlające nasilenie procesu angiogenezy oraz jej specyficzną nowotworową naturę.

Markery angiogenezy oceniane na podstawie ekspresji różnych antygenów swoistych dla komórek śródbłonkowych umożliwiają badanie stopnia unaczynienia raka jajnika. W przypadkach nieradykalnego zabiegu chirurgicznego dalszy postęp neoangiogenezy w pozostawionej tkance nowotworowej uzależniony jest od działania

impact on the process of formation of new vessels - pro- and anti-angiogenic modulators of angiogenesis.

The p53 suppressor gene accounts for the inhibition of growth and the activation of the intracellular pathway of apoptosis. The correct expression of this gene assures an internal control over the genome of the cell. During oncogenesis there occurs a mutation of the p53 gene in over half of the neoplasms. The P53 protein being the product of a mutated gene, accumulates in the cell nucleus causing an intensification of neoangiogenesis [13].

The enhanced expression and the over-activation of the *epidermal growth factor receptor* (EGFR) has a statistically significant relationship to excessive proliferation and differentiation of cells, inhibition of apoptosis and an intensification of angiogenesis [14], in addition it increases the invasiveness of the tumor and accelerates the formation of distant metastases [15]. The EGF receptor is present on almost all cells of the body. Deregulation of EGFR has been ascertained in solid neoplasms such as: bladder cancer, colon cancer, cancer of the breast and ovarian cancer.

The *vascular endothelial growth factor*, VEGF, is one of the best investigated prognostic factors in cancers. An association with its specific receptor results in migration and proliferation of endothelial cells, affects the formation of adequate space for new blood vessels through destruction of the extracellular matrix, enhances the permeability of new blood vessels, in turn results in increased angiogenesis through a deposition of fibrin around the blood vessels and prompts the production of nitric oxide - expanding the blood vessel and improving blood flow [16,17]. Described mechanisms can be liberated after the binding of VEGF with its specific receptor. VEGFR-2 is the receptor responsible for the stimulation of angiogenesis. There exists a concept which assumes that this is the factor responsible for autoregulation of neoangiogenesis [18]. The binding of the „mass-produced” VEGF with the VEGFR-1 diminishes the stimulation of the chain that activates the production of new blood vessels. Changes in the quantity ratio of both types of receptors cause an acceleration or slowing down of the process of neoangiogenesis. It has been proven, that from VEGFR-1 there originates its small, circular form -sVEGFR-1, possessing an antiangiogenic activity [19]. The presence sVEGFR-1 can be detected in the blood serum of ovarian cancer patients.

The association of several of the above mentioned prognostic factors, based on the results of a statistical analysis applied to the creation of prognostic models (eg: Cox analyses) allows for a more precise estimation of the course of the disease. The utilization of the mentioned prognostic factors enables a formulation of accurate prognoses concerning the time of survival in about 75% cases of ovarian cancer. [20].

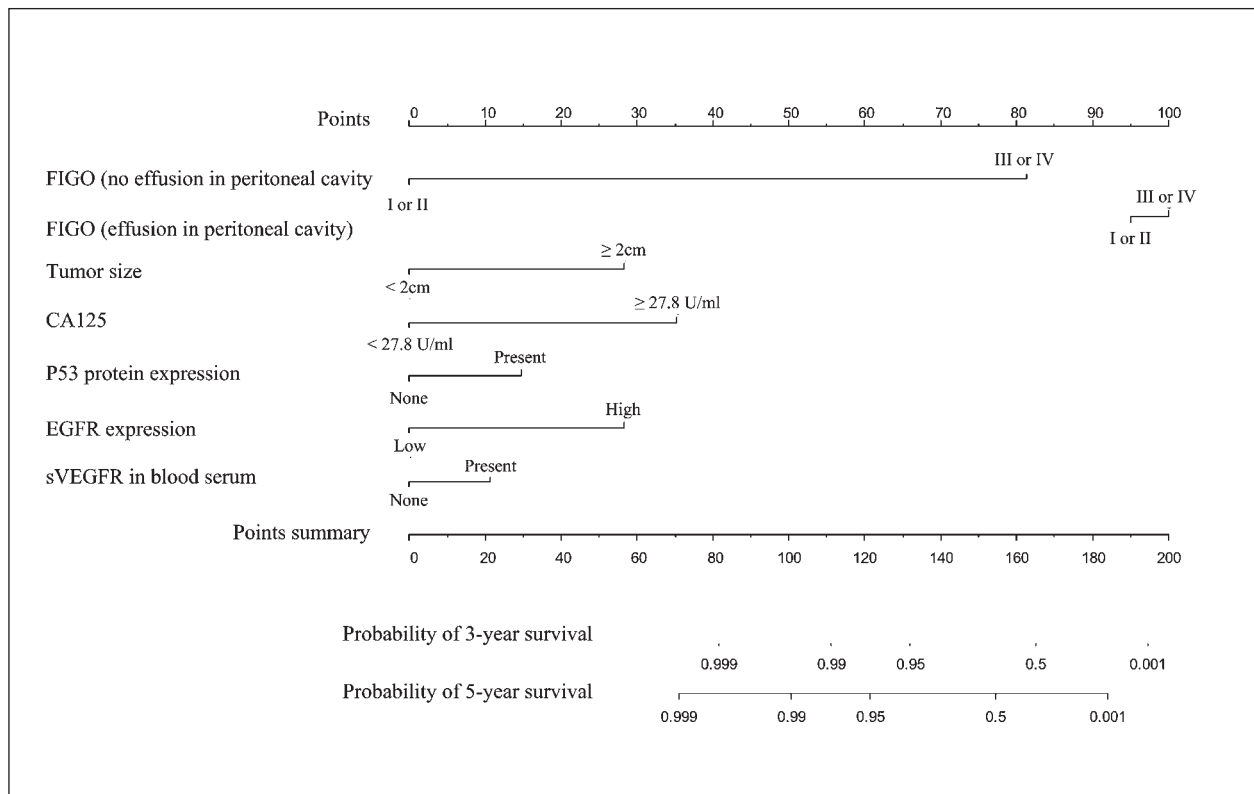
bodźców metabolicznych oraz czynników parakrynych, które wpływają na proces powstawania nowych naczyń - pro i antyangiogennych modulatorów angiogenezy.

Supresorowy gen p53 odpowiada za hamowanie wzrostu i aktywację wewnątrzkomórkowego szlaku apoptozy. Prawidłowa ekspresja tego genu zapewnia wewnętrzną kontrolę nad genomem komórki. W trakcie onkogenezy obserwuje się mutację genu p53 w ponad połowie nowotworów. Białko P53 będące produktem zmutowanego genu, gromadzi się w jądrze komórkowym i doprowadza do nasilenia neoangiogenezy [13].

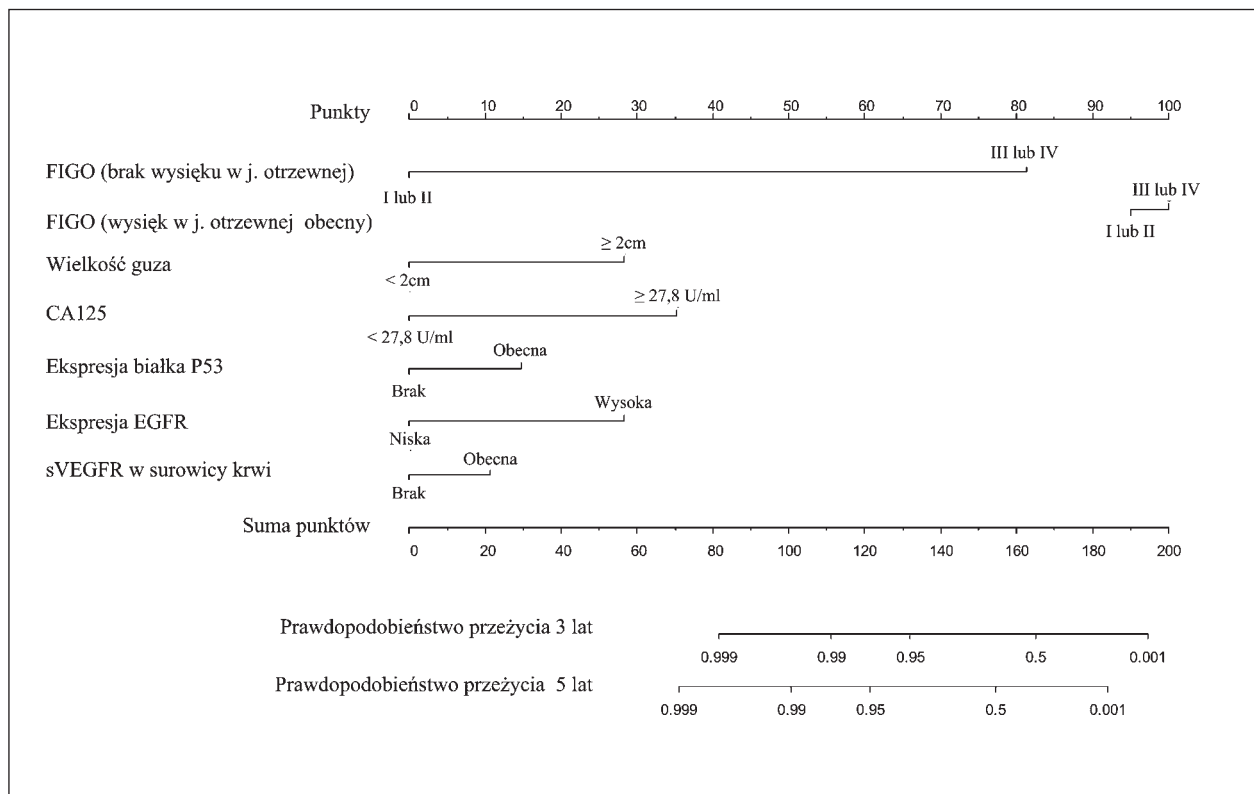
Wzmoczona ekspresja i nadmierna aktywacja receptora naskórkowego czynnika wzrostu (*epidermal growth factor receptor*, EGFR) ma statystycznie istotny związek z nadmierną proliferacją i różnicowaniem komórek, zahamowaniem apoptozy i nasileniem angiogenezy [14], ponadto zwiększa inwazyjność nowotworu i przyspiesza powstawanie przerzutów odległych [15]. Receptor EGFR jest obecny na niemalże wszystkich komórkach organizmu. Zaburzenia regulacji EGFR stwierdzono w nowotworach litych takich jak: rak pęcherza, rak jelita grubego, rak gruczołu piersiowego i rak jajnika.

Śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń (*vascular endothelial growth factor*, VEGF) jest jednym z najdokładniej zbadanych czynników prognostycznych w chorobach nowotworowych. Połączenie ze swoistym receptorem skutkuje migracją i proliferacją komórek śródbłonkowych, wpływa na tworzenie miejsca na nowe naczynia poprzez niszczenie macierzy zewnątrzkomórkowej, zwiększa przepuszczalność nowych naczyń, co skutkuje nasileniem angiogenezy poprzez odkładanie fibryny wokół naczyń, oraz pobudza produkcję tlenu azotu-rozszerzającego naczynia i poprawiającego w nich przepływ [16,17]. Opisane mechanizmy mogą być wyzwolone po połączeniu VEGF ze swoistym receptorem. VEGFR-2 jest właściwym receptorem odpowiadającym za pobudzenie angiogenezy. Istnieje koncepcja zakładająca, iż jest to czynnik odpowiedzialny za autoregulację neoangiogenezy [18]. Łączenie się wytwarzanego w dużych ilościach VEGF z VEGFR-1 zmniejsza pobudzenie właściwego łańcucha aktywującego wytwarzanie nowych naczyń. Zmiany stosunku ilości obu rodzajów receptorów powodują przyspieszanie lub zwalnianie procesu neoangiogenezy. Udowodniono, że z VEGFR-1 powstaje jego mała, kolista forma- sVEGFR-1, mająca działanie antyangiogenne [19]. Obecność sVEGFR-1 można wykryć w surowicy krwi chorych na raka jajnika.

Połączenie kilku wymienionych czynników prognostycznych, oparte na wynikach analizy statystycznej stosowanej do tworzenia modeli prognostycznych (np: analizy proporcjonalnego hazardu Coxa) pozwala na dokładniejsze przewidywanie przebiegu choroby. Wykorzystanie wymienionych czynników prognostycznych umożliwia formułowanie trafnych prognoz dotyczących czasu przeżycia w około 75% przypadków raka jajnika [20].



**Fig. 1.** Nomograph for calculation of probability of 3 and 5-year survival since surgery and end of first line chemotherapy. The presence of each factor is represented by a defined number of points, which should be read on the top scale. The sum of the points graphed onto the scale on the bottom part of the nomograph, allows to establish a probability of 3- and 5-year survival



**Ryc. 1.** Nomogram do obliczania prawdopodobieństwa przeżycia 3 i 5 lat od operacji i zakończenia chemioterapii pierwszego rzutu. Obecności każdego z czynników odpowiada określona liczba punktów, którą należy odczytać na górnej skali. Suma punktów, naniesiona na skalę w dolnej części nomogramu, pozwala określić prawdopodobieństwo przeżycia 3 i 5 lat.

## NOMOGRAPH

Identification of patients with poor prognosis, requiring more intense treatment, demands the use of all possible prognostic methods, which will offer a chance to improve prognosis. Such methods should give the possibility to quickly ascertain prognoses, take into account the prognostic factors improving the reliability of results and facilitate the practical application of scientific findings. All these conditions are met by the nomograph, a graphical representation of statistical analyses that takes into account the acknowledged prognostic factors as well as select markers and modulators of the angiogenesis, prognostic factors only recently considered in prognostic models.

Nomograph is a type of graph which permits, without complicated calculations, to read the desired value, usually dependent upon several variables. This is a simple graphical presentation of the results of statistical analysis. It represents the participation of the individual prognostic factors in the shaping of the total probability of occurrence of the foreseen phenomenon.

Based on the guidelines presented by Lubsena et al., a nomograph was constructed to calculate the probabilities of the 3 and 5-year survivals since surgery and the end of first line chemotherapy in ovarian cancer patients [21]. The nomograph is a practical tool allowing for a quick establishment of prognoses in the configuration of different prognostic factors. The graph makes it possible to read an individualized result for every patient. The scale containing the prognostic factors of ovarian cancer permits to define the point value for a given value of a concrete factor. The sum of the points obtained after taking into account all prognostic factors is graphed on the scale on the bottom of the nomograph, where one can read the probability of the survival of the particular patient (Fig. 1).

## SUMMARY

For the purpose of obtaining an effective and reliable manner of prognosing ovarian cancer patient this work represented a possibility of utilization of a specially constructed nomograph. It takes into account clinical and histopathological data as well as select markers and modulators of angiogenesis, the uncontested prognostic factors in ovarian cancer. Combining many factors and results of statistical analysis to create prognostic models enables a significant increase of accuracy of prognoses concerning the clinical course of the disease.

## NOMOGRAM

Identyfikacja chorych o gorszym rokowaniu, wymagających bardziej intensywnego leczenia wymaga użycia wszelkich możliwych metod prognostycznych, dzięki którym zaistnieje szansa na poprawę rokowania. Metody takie powinny dawać możliwość szybkiego ustalenia prognoz, uwzględniać czynniki prognostyczne poprawiające wiarygodność wyników oraz ułatwiać praktyczne zastosowanie wyników badań naukowych. Wszystkie takie warunki spełnia nomogram, graficzne przedstawienie analiz statystycznych uwzględniające uznane czynniki prognostyczne oraz wybrane markery i modulatory angiogenezy, czynniki prognostyczne dopiero od niedawna brane pod uwagę w modelach prognostycznych.

Nomogram to rodzaj wykresu, który pozwala bez skomplikowanych obliczeń, odczytać pożądaną wartość, zwykle zależną od kilku zmiennych. Jest to prosta graficzna prezentacja wyników analizy statystycznej. Przedstawia udział poszczególnych czynników prognostycznych w ukształtowaniu się całkowitego prawdopodobieństwa wystąpienia przewidywanego zjawiska.

Na podstawie wytycznych podanych przez Lubsena i wsp. skonstruowano nomogram do obliczania prawdopodobieństwa przeżycia 3 i 5 lat od operacji i zakończenia chemioterapii pierwszego rzutu u chorych na raka jajnika [21]. Nomogram jest praktycznym narzędziem pozwalającym na szybkie ustalenie prognoz w konfiguracji różnych czynników prognostycznych. Wykres pozwala na odczytanie zindywidualizowanego wyniku dla każdego pacjenta. Skala zawierająca czynniki prognostyczne w raku jajnika pozwala określić wartość punktową dla danej wartości konkretnego czynnika. Suma punktów uzyskanych po uwzględnieniu wszystkich czynników prognostycznych zostaje naniesiona na skalę w dolnej części nomogramu, gdzie można odczytać prawdopodobieństwo przeżycia pacjentki (Ryc. 1).

## PODSUMOWANIE

W celu uzyskania skutecznego i wiarygodnego sposobu prognozowania u chorych na raka jajnika w pracy przedstawiono możliwość wykorzystania specjalnie skonstruowanego nomogramu. Uwzględnia on dane kliniczne i histopatologiczne oraz wybrane markery i modulatory angiogenezy, niekwestionowane czynniki prognostyczne w raku jajnika. Połączenie wielu czynników i wyniki analizy statystycznej do tworzenia modeli prognostycznych umożliwiają istotne zwiększenie trafności prognoz dotyczących przebiegu klinicznego choroby.

## References/Piśmiennictwo:

1. Guppy AE, Nathan PD, Rustin PJ: Epithelial ovarium cancer: a review of current management. *Clin Oncol* 2005; 17:399-411.
2. Yanick R: Ovarian cancer. Age contrasts in incidence, histology, disease stage at diagnosis, and mortality. *Cancer* 1993;71: 517-523.
3. Agarwal R, Kaye SB: Ovarian cancer: strategies for overcoming resistance to chemotherapy. *Nat Rev Cancer* 2003;3:502-516.
4. Agarwal R, Kaye SB: Prognostic factors in ovarian cancer: how close are we to a complete picture? *Ann Oncol* 2005; 16:4-6.
5. Brun JL, Feyler A, Chene G, et al.: Long-term results and prognostic factors in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2000; 78:21-27.
6. Benedet JL, Bender H, Jones H 3<sup>rd</sup>, et al.: FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. *Int J Gynaecol Obstet* 2000; 70:209-262.
7. Hógborg T, Carnstensen j, Simosen E; Treatment results and prognostic factors in a population-based study of epithelial ovarian cancer. *Gynecol oncol* 1993;48:38-49.
8. Puls LE, Duniko T, Hunter JE, et al.: The prognostic implication of ascites in advanced-stage ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1996; 61:109-112.
9. Mutch DG: Surgical management of ovarian cancer. *Semin Oncol* 2002; 29:3-8.
10. Nagele F, Petru E, Medl M, et al.: Preoperative CA125: an independent prognostic factor in patients with stage I epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1995; 86:259-264.
11. Hunter VJ, Weinberg JB, Haney AF, et al.: Ca 125 in peritoneal fluid and serum from patients with benign gynecologic conditions and ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1990;36:161-165.
12. Sevelde P, Vavva N, Schemper M, Salzer h: prognostic factors for survival in stage I epithelial ovarian carcinoma. *Cancer* 1990;65:2349-2352.
13. Dameron KM, Volpert OV, Tainsky MA, Bouch N: Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin-1. *Science* 1994; 265:1582-1584.
14. Yarden Y: The EGFR family and its ligands in human cancer. Signaling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer* 2001; 37(Suppl 4):S3-8.
15. Ellis LM: Epidermal growth factor receptor in tumor angiogenesis. *Hematol Oncol Clin Am* 2004; 18:1007-1021.
16. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, et al.: Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989; 246:1306-1309.
17. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM: Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular permeability and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995; 35:139-155.
18. Hiratsuka S, Maru Y, Okada A, et al.: Involvement of Flt-1 tyrosine kinase (vascular endothelial growth factor receptor-1) in pathological angiogenesis. *Cancer Res* 2001; 61:1207-1213.
19. Nyberg P, Xie L, Kalluri R: Endogenous Inhibitors of Angiogenesis. *Cancer Res* 2005; 65:3967-3979.
20. Clark TG, Bradburn MJ, Love SB, Altman DG: Survival analysis. Part I: Basic concepts and first analyses. *Br j Cancer* 2003;89:232-238.
21. Lubsen J, Pool J, van der Does: A practical device for the application of diagnostic or prognostic function. *Meth Inform Med* 1978; 17:127-129.