

Wstęp: Rak szyjki macicy jest jednym z najczęściej występujących nowotworów u kobiet. Do czynników prognostycznych należą: stopień zaawansowania nowotworu, stan węzłów chłonnych, stopień zróżnicowania nowotworu oraz stężenie hemoglobiny. Angiogeneza to proces tworzenia naczyń na bazie już istniejących, jest niezbędna do wzrostu guza, postępu choroby i powstawania przerzutów. Do tej pory niewiele wiadomo o wartości predykcyjnej i/lub prognostycznej angiogenezy w raku szyjki macicy.

Cel pracy: Celem tego prospektywnego badania była ocena: stężenia naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (*vascular endothelial growth factor C* – VEGF-C) w surowicy kobiet chorych na raka szyjki macicy i ocena korelacji z czynnikami kliniczno-patologicznymi.

Materiał i metody: Materiał do badania stanowiła krew żylna pobrana od 27 kobiet z rakiem szyjki macicy w stopniu zaawansowania choroby I–IV wg FIGO, które były leczone w Katedrze i Klinice Onkologii i Brachyterapii UMK w Toruniu *Collegium Medicum* w Bydgoszcy. Do oznaczania VEGF-C zastosowano metodę immunoenzymatyczną ELISA. Analizę statystyczną wykonano za pomocą programu komputerowego Statistica 6.0 (StatSoft, Inc. 2001).

Wyniki: Mediana stężenia VEGF-C w surowicy wyniosła 72,65 pg/ml. Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniem VEGF-C a stopniem zaawansowania choroby, ani z innymi parametrami kliniczno-patologicznymi.

Wniosek: Stężenie VEGF-C w surowicy może odgrywać ważną rolę we wzroście i progresji raka szyjki macicy, konieczne jest prowadzenie dalszych badań w celu zrozumienia podłoża tych mechanizmów.

Słowa kluczowe: rak szyjki macicy, angiogeneza, VEGF-C.

Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu C jako czynnik predykcyjny w raku szyjki macicy?

Vascular endothelial growth factor C as a predictive factor in cervical cancer?

Marta Biedka^{1,2}, Roman Makarewicz^{1,3}, Andrzej Lebioda^{1,3},
Hanna Kardymowicz⁴, Alina Goralewska⁴

¹Katedra Onkologii i Klinika Brachyterapii, *Collegium Medicum* im. L. Rydygiera w Bydgoszcy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

²Oddział Radioterapii I, Centrum Onkologii im. F. Łukaszczyka w Bydgoszcy

³Oddział Brachyterapii, Centrum Onkologii im. F. Łukaszczyka w Bydgoszcy

⁴Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, Centrum Onkologii im. F. Łukaszczyka w Bydgoszcy

Wstęp

Rak szyjki macicy jest jednym z najczęściej występujących nowotworów u kobiet [1]. Do czynników prognostycznych należą: stopień zaawansowania nowotworu, stan węzłów chłonnych, stopień zróżnicowania nowotworu, wiek pacjentki, inwazja naczyń limfatycznych i/lub naczyń krwionośnych oraz stężenie hemoglobiny przed rozpoczęciem leczenia [2–8]. Dotąd niewiele wiadomo o wartości prognostycznej i/lub predykcyjnej procesów angiogenezy i limfoangiogenezy w raku szyjki macicy.

Angiogeneza to proces tworzenia naczyń na bazie już istniejących, jest ona niezbędna do wzrostu guza, postępu choroby i powstawania przerzutów [9–11]. Odgrywa ważną rolę w wielu zjawiskach zarówno fizjologicznych, jak i patologicznych i przebiega wieloetapowo [12, 13]. Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) bierze udział we wzroście przepuszczalności naczyń, obrzęku, pozanaczyniowym depozycie fibryny, w powstawaniu malformacji naczyniowych, angiogenezie, arteriogenezie, fibroogenezie i limfoangiogenezie [7, 11, 14–16]. Jedną z jego izoform jest VEGF-C, które zostało po raz pierwszy opisane w 1996 r., wzrost ekspresji VEGF-C obserwuje się w chorobach hematologicznych oraz w chorobach nowotworowych. Poprzez różne receptory może pobudzać zarówno procesy angiogenezy, jak i limfoangiogenezy [8, 17, 18].

Celem tego prospektywnego badania była ocena: stężenia VEGF-C w surowicy kobiet chorych na raka szyjki macicy i ocena korelacji z czynnikami kliniczno-patologicznymi.

Materiał i metody

Materiał

Materiał do badania stanowiła krew żylna pobrana od 27 kobiet z rakiem płaskonabłonkowym szyjki macicy w stopniu zaawansowania choroby I–IV wg FIGO (tab. 1.), z medianą wieku: 54,4 roku (35–81 lat). Badanie przeprowadzono pomiędzy grudniem 2005 r. a czerwcem 2007 r. w Katedrze i Klinice Onkologii i Brachyterapii *Collegium Medicum* w Bydgoszcy, UMK w Toruniu.

Pacjentki były leczone wg przyjętych standardów postępowania i w większości przypadków było to leczenie skojarzone. U wszystkich 27 chorych zastosowano brachyterapię neoadiuwantową, z czego 12 osób otrzymało brachy-

Background: It is tempting to suggest that cervical cancer is one of the most common malignancies in a woman's life. Its prognostic factors are: tumour stage, lymph node status, histological type, and level of haemoglobin. Angiogenesis, which is the formation of a new blood vessel from the existing vascular network, is essential for tumour growth, progression and metastasis. Vascular endothelial growth factor (VEGF) has been identified as one of the most important factors of angiogenesis. VEGF-C, a novel member of the family, is a relatively specific lymphangiogenic growth factor. However, little is known about the prognostic and/or predictive significance of angiogenesis in cervical cancer.

Aim of the study: This prospective study will attempt to evaluate serum VEGF-C in cervical cancer and its correlation with clinicopathological features.

Material and methods: Blood samples were collected from 27 patients affected by FIGO I-IV stage cervical cancer, who were admitted to the Department of Oncology and Brachytherapy, *Collegium Medicum* of Bydgoszcz Nicolaus Copernicus University. Serum VEGF-C concentration was determined by means of a quantitative sandwich enzyme immunoassay (ELISA). All data were assessed with the statistical analysis program Statistica.

Results: The median serum VEGF-C was 72.65 pg/ml. Serum VEGF-C levels measured in patients were associated with primary tumour size. Serum VEGF-C was not correlated with tumour stage or other clinicopathological parameters.

Conclusion: In conclusion, our study suggested that serum VEGF-C plays an important role in tumour growth and progression in cervical cancer. Nonetheless, further studies are essential to explore the underlying mechanism.

Key words: cervical cancer, angiogenesis, VEGF-C.

Tabela 1. Charakterystyka pacjentów

Table 1. Patient characteristics

wiek	35–81 lat, mediana 54,4 roku
stopień zaawansowania wg FIGO	IA-2, IB-3 II-3, IIA-7, IIB-5 III-4, IIIA-1, IIIB-1 IV-1
stopień zróżnicowania nowotworu G	G1-1 G2-14 G3-3 Gx-9
rodzaj terapii	brachyterapia – 5 brachyterapia + operacja – 12 brachyterapia + teleterapia – 10
leczenie uzupełniające	chemioterapia – 6 teleterapia – 7
odpowiedź na leczenie	całkowita odpowiedź (CR) – 12 częściowa odpowiedź (PR) – 2 postęp choroby (PD) – 8 brak danych – 5
czas obserwacji	12.2005–06.2007

terapię LDR (*low dose rate*) w dawce 45 Gy w 2 frakcjach, pozostałe pacjentki brachyterapię HDR (*high dose rate*) w dawce 30 Gy w 4 frakcjach. W 5. tyg. od zakończenia brachyterapii u 12 kobiet przeprowadzono leczenie operacyjne. U 10 przeprowadzono brachyterapię w połączeniu z napromienianiem wiązką zewnętrzną w dawce 44–50,4 Gy. U 5 osób ze względu na choroby współistniejące zastosowano brachyterapię HDR jako leczenie samodzielne w dawce 45 Gy w 6 frakcjach. Leczenia uzupełniającego wymagało 13 chorych.

Metody

Przed rozpoczęciem leczenia od każdej chorej pobierano 2 ml krwi i po odwirowaniu uzyskaną surowicę przechowywano w temperaturze -70°C do czasu wykonania oznaczeń. Wizyty kontrolne odbywały się w 6. i 12. tyg. od zakończenia radioterapii, a następnie w odstępach 3-miesięcznych. Obserwacja chorych trwała minimum 12 miesięcy. Na wizyty kontrolne nie zgłosiło się 5 chorych, dalszy przebieg choroby u nich jest nieznan.

Do oznaczania VEGF-C zastosowano metodę immunoenzymatyczną ELISA z wykorzystaniem ludzkiego przeciwciała VEGF-C ELISA firmy Bender Med-System, enzymu znakowanego immunosorbentem badającym aktywność ludzkiego VEGF-C w płynach ustrojowych.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną wykonano za pomocą programu komputerowego Statistica 6.0 (StatSoft, Inc. 2001). Stosując analizę statystyczną, poszukiwano korelacji pomiędzy różnymi zmiennymi a stężeniem VEGF-C w surowicy z wykorzystaniem analizy regresji liniowej. Korelacje pomiędzy zmiennymi ciągłymi badano z wykorzystaniem korelacji liniowej Pearsona. We wszystkich analizach statystycznych za wartość graniczną dla współczynnika prawdopodobieństwa przyjęto $p < 0,05$.

Wyniki

U każdej z pacjentek wykonano 2 oznaczenia VEGF-C w surowicy, uzyskując dla całej grupy średnią: 90,83 pg/ml w pierwszym oznaczeniu

i 88,05 pg/ml w drugim, mediana wyniosła 72,65 pg/ml i 66,87 pg/ml w pierwszym i drugim oznaczeniu. Minimalne stężenie VEGF-C w surowicy wyniosło 37,00 pg/ml, największe stężenie VEGF-C 413,43 pg/ml, dane dla poszczególnych pacjentek przedstawiono w tabeli 2. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, oceniając korelację pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a wiekiem pacjentek, stopniem zaawansowania choroby wg FIGO, stopniem zróżnicowania nowotworu G, stężeniem hemoglobiny we krwi oraz liczbą płytek krwi.

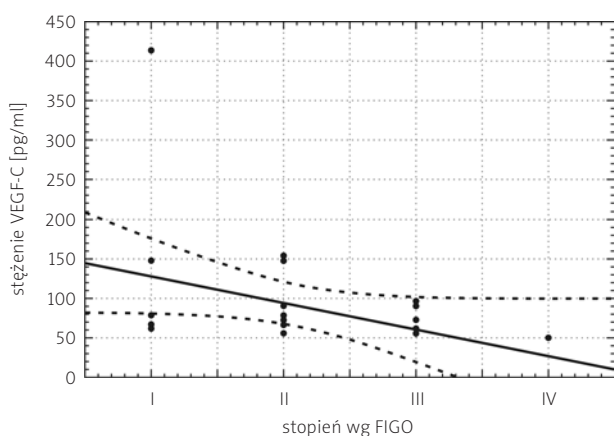
Porównując wyniki stężenia VEGF-C w surowicy ze stopniem zaawansowania choroby wg FIGO (ryc. 1), nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy pacjentkami z ograniczoną chorobą w porównaniu z kobietami z zaawansowaną chorobą ($p = 0,058$).

Nie wykazano, aby wiek pacjentek chorych na raka szyjki macicy wpływał statystycznie znamienne na stężenie VEGF-C w surowicy ($p < 0,524$) (ryc. 2.). Podobne wyniki uzyskano w korelacji pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a stopniem zróżnicowania nowotworu ($p < 0,233$) (ryc. 3.).

Niedotlenienie jest najsilniejszym czynnikiem indukującym procesy angiogenezy, dlatego poszukiwano zależności pomiędzy VEGF-C w surowicy a stężeniem hemoglobiny. Źródłem VEGF-C są komórki nowotworowe oraz płytki krwi. Dlatego w kolejnym etapie badania porównano stężenie VEGF-C w surowicy z parametrami laboratoryjnymi, takimi jak stężenie hemoglobiny i liczba płytek krwi, nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy analizowanymi parametrami ($p < 0,925$), ($p < 0,221$) (ryc. 4., 5.).

Dyskusja

W etiopatogenezie nowotworów istotną rolę przypisuje się procesom angiogenezy oraz limfoangiogenezy, najczęściej do ich oznaczeń wykorzystuje się metodę ELISA, która umożliwia oznaczanie VEGF, w tym VEGF-C w surowicy, osoczu, pełnej krwi i w innych płynach ustrojowych. Sekrecja czynników z rodziny VEGF zmienia się w zależności od typu histopatologicznego nowotworu oraz jego lokalizacji [19, 20].



Ryc. 1. Stężenie VEGF-C w surowicy (pg/ml) w zależności od stopnia zaawansowania choroby wg FIGO u chorych na raka szyjki macicy

Fig. 1. Correlation between serum level of VEGF-C and FIGO stage in patients with cervical cancer

Problemy w interpretacji wyników wiążą się z tym, że stężenie VEGF-C stanowi równowagę w osoczu pomiędzy wolną frakcją VEGF-C a frakcją związaną z płytkami krwi, a proces ich aktywacji jest częsty zarówno w przypadku choroby nowotworowej, jak i w innych chorobach układowych. Prowadzi to do zwiększenia stężenia VEGF, w tym VEGF-C w osoczu, niezależnie od produkcji w komórkach guza [4, 12, 17, 21–23].

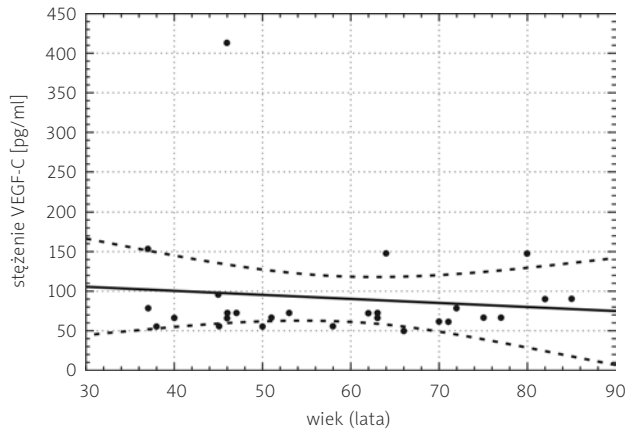
Analiza piśmiennictwa wykazuje duże rozbieżności w uzyskiwanych wynikach. Badanie Lebrechta i innych autorów wskazują, że stężenie VEGF-C oraz innych czynników

Tabela 2. Różnice w stężeniu VEGF-C u poszczególnych pacjentek z rakiem szyjki macicy

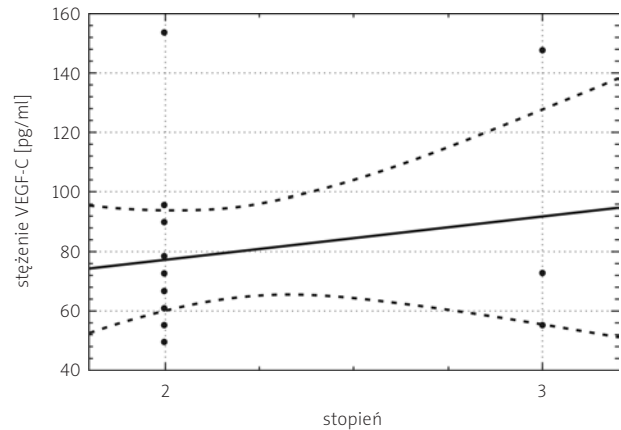
Table 2. Differences in levels of circulating VEGF-C and clinicopathological parameters in patients with cervical cancer

Lp.	Średnia VEGF-C pg/ml	Stopień FIGO	Wiek	Hemoglobina G/l	Płytki krwi G/l	Odpowiedź na leczenie
1	147,75	II	80	9,2	757	CR
2	72,65	IIA	63	11,8	390	0
3	66,87	IIA	51	9,2	552	CR
4	89,98	IIB	85	10,4	336	PR
5	66,87	IIB	75	12,0	125	CR
6	147,75	IA	64	11,2	232	PD
7	61,09	III	70	9,9	208	CR
8	55,32	IIA	38	11,9	283	CR
9	61,09	IB	71	12,4	242	CR
10	55,32	IIIA	50	12,7	276	CR
11	66,87	IIA	40	12,8	221	PD
12	55,32	IIB	58	12,2	411	PD
13	72,65	IIIB	46	15,1	219	PD
14	72,65	IIB	47	13,6	243	PD
15	95,76	III	45	11,4	402	0
16	55,32	II	45	13,4	199	CR
17	78,42	IIA	72	13,1	383	CR
18	49,54	IV	66	7,4	505	PD
19	153,53	IIA	37	13,1	370	CR
20	66,87	II	63	13,6	246	PD
21	72,65	III	62	9,0	516	CR
22	72,65	IIB	53	12,4	262	PR
23	89,98	III	82	9,5	332	0
24	413,48	IB	46	9,0	190	PD
25	66,87	IA	46	8,3	126	CR
26	66,87	IIA	77	12,7	108	0
27	78,42	IB	37	11,7	236	0

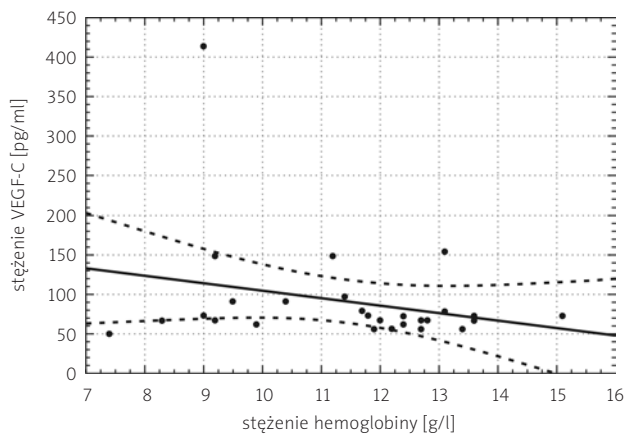
CR – całkowita odpowiedź, PR – częściowa odpowiedź, PD – postęp choroby
0 – brak danych



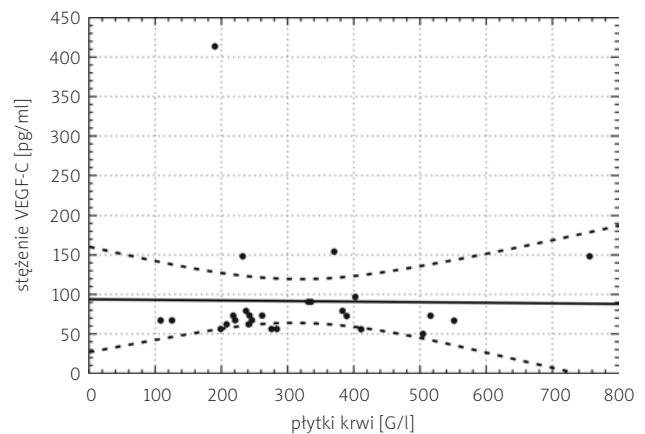
Ryc. 2. Korelacja pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a wiekiem chorych na raka szyjki macicy
Fig. 2. Correlation between serum level of VEGF-C and age in patients with cervical cancer



Ryc. 3. Korelacja pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a stopniem zróżnicowania nowotworu
Fig. 3. Correlation between serum level of VEGF-C and histological grade in patients with cervical cancer



Ryc. 4. Korelacja pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a stężeniem hemoglobiny
Fig. 4. Correlation between serum level of VEGF-C and hemoglobin in patients with cervical cancer



Ryc. 5. Korelacja pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a liczbą płytek krwi
Fig. 5. Correlation between serum level of VEGF-C and platelet count in patients with cervical cancer

proangiogennych jest tym wyższe, im wyższy stopień zaawansowania choroby [19, 21, 23].

Mathur i wsp. [21] badali stężenie VEGF-C u chorych z dysplazją szyjki i rakiem szyjki macicy. Stwierdzono zwiększenie się stężenia VEGF-C w surowicy wraz ze stopniem dysplazji CIN I, II, III, a w raku szyjki macicy był to wynik znamienne wyższy niż u kobiet z dysplazją szyjki macicy. Największe zaś stężenie VEGF-C występowało w chorobie zaawansowanej miejscowo oraz u chorych z przerzutami odległymi.

Istnieją też prace, które nie potwierdzają takiej zależności [7, 20, 24–27].

W pracy Duffa i wsp. [20] analizowano stężenie VEGF-C u wolontariuszy oraz w grupie chorych na raka jelita grubego. Uzyskane wyniki znacznie różniły się od spodziewanych, autorzy wykazali największe stężenie VEGF-C u wolontariuszy, a uzyskane wyniki były istotne statystycznie.

Dane z piśmiennictwa dotyczące stopnia zróżnicowania nowotworu G, tak jak w przypadku innych parametrów kliniczno-patologicznych, są rozbieżne i nadal nie jest znana tego przyczyna. Przypuszcza się, że na uzyskiwane wyniki ma wpływ heterogenność komórek nowotworowych [26–31].

W dalszej części badania własnego porównano stężenie VEGF-C w surowicy, uwzględniając wiek pacjentów. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy analizowanymi parametrami. Rezultaty są zbliżone do uzyskanych w większości prac innych autorów [4, 12, 24, 25, 27–30].

W niewielu badaniach ocenia się zależność pomiędzy stężeniem hemoglobiny a czynnikami proangiogennymi i limfoangiogennymi, co utrudnia wyciągnięcie odpowiednich wniosków. Dziwi fakt, że nie obserwuje się takich korelacji, bo małe stężenie hemoglobiny wpływa na wzrost hipoksji w guzie, która – jak wiadomo – jest najsilniejszym promotorem procesów angiogenezy i to za jej sprawą obserwuje się zwiększenie ilości VEGF wytwarzanego przez komórki guza [32].

Podobnie jak w innych pracach, w badaniu własnym autorów niniejszego opracowania nie wykazano zależności pomiędzy stężeniem VEGF-C a liczbą płytek krwi.

Źródłem VEGF jest nie tylko sam guz, ale też płytki krwi, co sprawia, że nawet u osób zdrowych obserwuje się duże stężenia VEGF, w tym VEGF-C. Tak więc stężenie czynników

proangiogeny jest nie tylko związane z wielkością guza, ale też z nadpłytkowością [33, 34]. Dlatego też oczekuje się korelacji pomiędzy VEGF a liczbą płytek krwi [4, 22, 35, 36]. Do prac, w których udało się wykazać taką zależność, należy badanie Krzystek-Korpacskiej i wsp. [25] dotyczące pacjentów z nowotworami głowy i szyi, w którym stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a liczbą płytek krwi ($p < 0,01$).

W pracy przedstawiono wyniki badania własnego, przeprowadzonego na grupie 27 kobiet chorych na raka szyjki macicy. Być może na brak korelacji pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a analizowanymi parametrami wpływała liczebność grupy, jednak w pracach innych autorów, z udziałem większych grup pacjentów, również nie udało się wykazać zależności pomiędzy czynnikami proangiogeny i limfoangiogeny a parametrami kliniczno-patologicznymi [4, 5, 20, 26, 27]. Wskazuje to, że procesy angiogenezy oraz limfoangiogenezy są złożone i nie do końca poznane.

Podsumowując, w badaniu własnym autorzy niniejszej pracy nie odnaleźli istotnej zależności pomiędzy stężeniem VEGF-C a klinicznymi cechami chorych na raka szyjki macicy. Być może przeprowadzenie dalszych badań z udziałem większych grup chorych pozwoli na pełniejsze zrozumienie mechanizmów angiogenezy i limfoangiogenezy.

Piśmiennictwo

- Didkowska J. Nowotwory szyjki macicy w Polsce – epidemiologiczny bilans otwarcia i perspektywy. *Ginekol Pol* 2006; 8: 660-6.
- Mitsuhashi A, Suzuka K, Yamazawa K, Matsui H, Seki K, Sekiya S. Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C levels as tumor markers in patients with cervical carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 724-30.
- Ochi T, Murase K, Fujii T, Kawamura M, Ikezoe J. Survival prediction using artificial neural networks in patients with uterine cervical cancer treated by radiation therapy alone. *Int J Clin Oncol* 2002; 7: 294-300.
- Choi J, Kim H, Lim H, et al. Vascular endothelial growth factor in the serum of patients with non-small cell lung cancer: correlation with platelet and leukocyte counts. *Lung Cancer* 2001; 33: 171-9.
- Lambin P, Kramar A, Haie-Meder C, Castaigne D, Scalliet P, Bouzy J, Malaise EP, Gerbaulet A. Tumour size in cancer of the cervix. *Acta Oncol* 1998; 37: 729-34.
- Nagy J, Dvorak A, Dvorak H. VEGF^{164/165} – and PlGF roles in angiogenesis and arteriogenesis. *Trends Cardiovasc Med* 2003; 13: 164-75.
- Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J Mol Med* 1999; 77: 527-43.
- Veikkola T, Alitalo K. VEGFs, receptors and angiogenesis. *Semin Cancer Biol* 1999; 9: 211-20.
- Gasparini G. Clinical significance of determination of surrogate markers of angiogenesis in breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2001; 37: 97-114.
- Conway E., Collen D., Carmeliet P. Molecular mechanism of blood vessel growth. *Cardiovasc Res* 2001; 49: 507-21.
- Drake C, La Rue A, Ferrara N. VEGF regulates cell behavior during vasculogenesis. *Dev Biol* 2000; 224: 178-188.
- Vermeulen P, Gasparini G, Fox S, et al. Second international consensus on the methodology and criteria of evaluation of angiogenesis quantification in solid human tumors. *Eur J Cancer* 2002; 38: 1564-79.
- Nor J, Polverini J. Role of endothelial cell survival and death signals in angiogenesis. *Angiogenesis* 1999; 3: 101-16.
- Weich H, Bando H, Brokelmann M, et al. Quantification of vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) by a novel ELISA. *J Immunol Methods* 2004; 285: 145-55.
- Watanabe Y, Dvorak H. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor inhibits anchorage- disruption-induced apoptosis in microvessel endothelial cells by inducing scaffold formation. *Exp Cell Res* 1997; 233: 340-9.
- Tempfer C, Obermair A, Hefler L, Haeusler G, Gitsch G, Kainz C. Vascular endothelial growth factor serum concentration in ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1998; 92: 360-3.
- Vermeulen P, Gasparini G, Fox S, et al. Quantification of angiogenesis solid human tumours an: international consensus on the methodology and criteria of evaluation. *Eur J Cancer* 1996; 14: 2474-84.
- Tille J, Wang X, Lipson K, et al. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) receptor-2 signaling mediates VEGF-C_{ΔnΔC}- and VEGF-A – induced angiogenesis in vitro. *Exp Cell Res* 2003; 285: 286-98.
- Lebrecht A, Ludwig E, Huber A, Klein M, Schneeberger C, Tempfer C. Serum vascular endothelial growth factor and serum leptin in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2002; 85: 32-5.
- Duff S, Saunders M, McCrediey V, Kumar S, O'Dwyer S, Jayson G. Pre-operative Plasma Levels of Vascular Endothelial Growth Factor A, C and D in Patients with Colorectal Cancer. *Clin Oncol* 2005; 17: 367-71.
- Mathur S, Mathur R, Elizabeth A, Gray E, Lane D, Underwood P, Kohler M, Creasman W. Serum vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) as a specific biomarker for advanced cervical cancer: Relationship to insulin-like growth factor II (IGF-II), IGF binding protein 3 (IGF-BP3) and VEGF-B. *Gynecol Oncol* 2005; 98: 467-83.
- Wynendaele W, Derua R, Hoylaerts M, et al. Vascular endothelial growth factor measured in platelet poor plasma allows optimal separation between cancer patients and volunteers: A key to study an angiogenic marker in vivo? *Ann Oncol* 1999; 10: 965-71.
- Bachtiary B, Selzer E, Knocke T, Pooter R, Obermair A. Serum VEGF levels in patients undergoing primary radiotherapy for cervical cancer: impact on progression-free survival. *Cancer Lett* 2002; 179: 197-203.
- Gisterek I, Sedlaczek P, Kornafel J, et al. Serum vascular endothelial growth factor in patients with pharyngeal and laryngeal squamous cell carcinoma treated with radiotherapy. *Am J Otolaryng* 2007; 28: 73-7.
- Krzystek-Korpacka M, Matusiewicz M, Diakowska D, et al. Up-regulation of VEGF-C secreted by cancer cells and not VEGF-A correlates with clinical evaluation of lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). *Cancer Lett* 2007; 249: 171-7.
- Broll R, Erdmann H, Duchrow M, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) a valuable serum tumour marker in patients with colorectal cancer. *Eur J Sur Oncol* 2001; 27: 34-42.
- Kaya A, Ciledaga A, Gubaya B, et al. The prognostic significance of vascular endothelial growth factor levels in sera of non-small cell lung cancer patients. *Respir Med* 2004; 98: 632-6.
- Gao P, Zhao G, Yin G, et al. Lymphatic vessel density as a prognostic indicator for patients with stage I cervical carcinoma. *Hum Pathol* 2006; 37: 719-25.
- Obermair A, Tempfer C, Wasicky R, Kaider A, Hefler L, Kainz C. Prognostic significance of tumour angiogenesis in endometrial cancer. *Obstet Gynecol* 1999; 93: 367-71.
- Gao Y, Zhong W, Mu D, et al. Distributions of Angiogenesis and Lymphangiogenesis in Gastrointestinal Intramucosal Tumors. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1117-23.
- Tjalma W, Weyler J, Weyn B. The association between vascular endothelial growth factor, microvessel density and clinicopathological features in invasive cervical cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 92: 251-7.
- Dunst J, Becker A, Lautenschläger C, et al. Anemia and Elevated Systemic Levels of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). *Strahlenther Onkol* 2002; 178: 436-41.
- Cox G, Walker R, Andi A, Steward W, O' Byrne K. Prognostic significance of platelet and microvessel counts in operable non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2000; 29: 169-77.
- Kato Y, Kaneko M, Kuno A. Inhibition of tumor cell-induced platelet aggregation using a novel anti-podoplanin antibody reacting with its platelet-aggregation-stimulating domain. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 349: 1301-7.

35. Salgado R, Benoy I, Bogers J, et al. Platelets and vascular endothelial growth factor (VEGF): A morphological and functional study. *Angiogenesis* 2001; 4: 37-43.
36. Banks R, Forbes M, Kinsey S. Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology. *Br J Cancer* 1998; 77: 956-64.

Adres do korespondencji

dr n. med. **Marta Biedka**
Oddział Radioterapii I
Centrum Onkologii im. F. Łukaszczyka
ul. I. Romanowskiej 2
85-796 Bydgoszcz
tel. +48 52 374 33 74
e-mail: martabiedka@tlen.pl