

Bazický fibroblastový růstový faktor (bFGF) a cévní endotelový růstový faktor (VEGF) jsou zvýšeny v plazmě periferní krve nemocných s chronickou lymfocytární leukemií a klesají po intenzivní léčbě obsahující fludarabin

L. Smolej¹, C. Andrýs², J. Krejsek², D. Belada¹, P. Žák¹, O. Široký¹, J. Malý¹

¹ Oddělení klinické hematologie II. interní kliniky Lékařské fakulty UK a FN Hradec Králové, přednosta prof. MUDr. Jaroslav Malý, CSc.

² Ústav klinické imunologie a alergologie Lékařské fakulty UK a FN Hradec Králové, přednosta prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

Souhrn: Chronická lymfocytární leukemie (CLL) je charakteristická výraznou různorodostí prognózy s celkovým přežitím v řádu několika měsíců až desítek let. V současné době není možné přesně určit budoucí klinický průběh u jednotlivého pacienta. Angiogeneze se ukazuje v posledních letech jako potenciální prognostický faktor u řady hematologických malignit včetně CLL. Cílem naší studie bylo změřit klíčové angiogenní faktory bFGF a VEGF (basic fibroblast growth factor; vascular endothelial growth factor) metodou ELISA v plazmě periferní krve u 73 nemocných s neléčenou chronickou lymfocytární leukemií (43 mužů, 30 žen, medián věku 65 let, rozmezí 31–88 let) a 80 zdravých dobrovolníků. Zjistili jsme signifikantně zvýšenou koncentraci u nemocných s CLL v porovnání s kontrolní skupinou ($p < 0,0001$ pro oba cytokiny). Nebyly nalezeny významné rozdíly v angiogenních faktorech mezi podskupinami s nízkým vs. středním vs. vysokým rizikem dle Raije či závislost angiogenních faktorů na pohlaví. U skupiny 12 pacientů došlo po intenzivní léčbě založené na fludarabinu k významnému poklesu u obou těchto faktorů (bFGF: $p = 0,0005$; VEGF: $p = 0,0068$), které již nebyly signifikantně odlišné od kontrolní skupiny (bFGF: $p = 0,524$; VEGF: $p = 0,728$). Naše data prokázala zvýšení zásadních angiogenních aktivátorů bFGF a VEGF u chronické lymfocytární leukemie. Intenzivní léčba kombinující fludarabin a cyklofosfamid + rituximab by mohla mít také antiangiogenní účinky. Další studie s delší dobou sledování jsou nutné k vyhodnocení vlivu angiogenních ukazatelů na dobu do progresu či celkové přežití.

Klíčová slova: chronická lymfocytární leukemie – angiogeneze – bFGF – VEGF – prognóza – léčba – fludarabin

Basic fibroblast growth factor (bFGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) are elevated in peripheral blood plasma of patients with chronic lymphocytic leukemia and decrease after intensive fludarabine-based treatment

Summary: Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is characterized by extraordinary heterogeneity in terms of clinical course with overall survival ranging from several months to dozens of years. It is currently not possible to accurately predict the future clinical course in an individual patient. Angiogenesis has been recently reported as a potential prognostic factor in various hematological malignancies including CLL. The objective of the present study was to quantify plasma levels of key angiogenic activators vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (bFGF) in patients with CLL and determine their potential change after intensive fludarabine-based treatment. Peripheral blood EDTA plasma concentrations of bFGF and VEGF were measured using commercially available enzyme-linked immunosorbent assay in 73 patients with untreated CLL (43 males, 30 females, median age, 65 years, range 31–88) and 80 healthy donors serving as control group. We found statistically significant increase in concentrations in patients with chronic lymphocytic leukemia compared to the control group ($p < 0.0001$ for both cytokines). No differences in angiogenic factors were noted between subgroups with low vs. intermediate vs. high-risk stage according to modified Rai staging or males vs. females. In twelve patients who achieved at least partial response after intensive fludarabine-based treatment, levels of bFGF as well as VEGF decreased significantly (bFGF, $p = 0.0005$; VEGF, $p = 0.0068$); in addition, they were no more significantly different from controls (bFGF, $p = 0.524$; VEGF, $p = 0.728$). Our data showed that key angiogenic activators bFGF and VEGF were elevated in plasma of CLL patients. Furthermore, treatment with intensive fludarabine-containing regimens resulted in significant decrease of both cytokines. These data suggest that angiogenic cytokines may indeed play a significant role in CLL biology and that treatment with combination of fludarabine, cyclophosphamide $\pm$ rituximab may exhibit antiangiogenic properties. Further studies with longer follow-up are necessary for evaluation of a possible association between angiogenic markers and progression-free survival or overall survival.

Keywords: angiogenesis – chronic lymphocytic leukemia – bFGF – VEGF – prognosis – treatment – fludarabine

Úvod

Angiogeneze, tedy novotvorba cév z již existující vaskulatury, je zásadním procesem při rozvoji malignit [1–4]. Zatímco význam angiogeneze u solidních nádorů je znám již od počátku 70. let 20. století [1], teprve v 90. letech 20. století dochází k výzkumu neovaskularizace u maligních onemocnění krve. Zvýšená angiogeneze byla zjištěna u akutních a chronických leukemií, maligních lymfomů, mnohočetného myelomu, myeloproliferací i myelodysplazií [3–9]. Některé studie u maligních onemocnění krve tvorbou prokázaly souvislost mezi zvýšenou angiogenezí a nepříznivým klinickým průběhem [7–9]. Chronická lymfocytární leukemie (CLL) je nejčastějším leukemickým onemocněním dospělých v západní populaci. Toto lymfoproliferativní onemocnění je typické neobvyčejnou různorodostí prognózy (s celkovým přežitím od několika měsíců až po desítky let), která neumožňuje dopředu odhadnout klinický prů-

běh u individuálního pacienta [10]. S cílem zpřesnění prognózy CLL jsou hledány nové prognostické parametry, jako v posledních letech např. genetické aberace detekované fluorescenční in situ hybridizací (FISH) či mutační stav genů kódujících variabilní část těžkého řetězce imunoglobulinu (IgVH) [11]. V posledních letech bylo publikováno, že lymfocyty CLL mají schopnost tvořit angiogenní aktivátory i inhibitory [12] a že ukazatele angiogeneze by mohly mít u CLL prognostický význam [13–16]. Pouze jediná studie zkoumala vývoj koncentrací angiogenních cytokinů při léčbě CLL [17]. Za nejdůležitější aktivátory angiogeneze jsou pokládány cévní endotelový růstový faktor (vascular endothelial growth factor – VEGF) a bazický fibroblastový růstový faktor (basic fibroblast growth factor – bFGF) [3–4, 18–20]. Cílem naší práce bylo 1. stanovení těchto angiogenních faktorů v periferní krvi u nemocných s CLL, 2. zhodnocení jejich vztahu ke klinic-

kému stadiu a 3. porovnat jejich hodnoty v závislosti na intenzivní léčbě na bázi fludarabinu.

Nemocní a metody

Do studie bylo zařazeno 73 nemocných s neléčenou chronickou lymfocytární leukemií diagnostikovanou podle klasických kritérií National Cancer Institute – Sponsored Working Group [21]. Jednalo se o 43 mužů a 30 žen, medián věku 65 let, rozmezí 31–88 let. Nízké (Rai 0)/střední (Rai I – II)/vysoké (Rai III – IV) riziko dle modifikovaného Raiova stagingu [22] bylo přítomno u 37/31/5 nemocných. Kontrolní skupinu tvořilo 80 zdravých dobrovolníků. Jako antikoagulans byla použita kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA). Všechny vzorky plazmy byly po centrifugaci zamrazeny při teplotě -70°C až do měření. bFGF i VEGF byly stanoveny pomocí komerčně dostupného ELISA kitu (Human VEGF/bFGF Quantikine ELISA kit, R & D Systems, MN, USA). Měření bylo provedeno podle

Tab. 1. Angiogenní aktivátory bFGF a VEGF jsou signifikantně zvýšeny u CLL a významně klesají po léčbě založené na fludarabinu.

Angiogenní faktory	n	medián	průměr	s	95% IS průměru	p
bFGF CLL	73	140,5	182,6	162,2	144,8–220,5	< 0,0001
bFGF kontroly	80	8,6	11,1	11,3	8,6–13,6	
bFGF muži	43	137	177,3	161,6	127,6–227,1	0,89
bFGF ženy	30	149,1	190,2	165,5	128,4–252,0	
bFGF Rai nízké	37	145,7	182,3	158,4	129,5–235,1	0,782
bFGF Rai střední	31	116,1	178,9	176	114,4–243,5	
bFGF Rai vysoké	5	276,6	207,7	120,9	57,5–257,9	0,664
bFGF před léčbou	12	166,1	223,5	194,6	99,9–347,2	0,0005
bFGF po léčbě	12	10,6	13,6	13,3	5,1–22,0	
VEGF CLL	73	100,2	145,9	145,5	111,9–179,8	< 0,0001
VEGF kontroly	80	45,6	64,2	59,5	51,0–77,5	
VEGF muži	43	86,4	118,9	108,1	16,5–152,1	0,064
VEGF ženy	30	104,9	184,6	181,8	33,2–252,5	
VEGF Rai nízké	37	100,2	144,3	161,8	26,6–198,2	0,365
VEGF Rai střední	31	104,8	157,8	136,4	24,5–207,8	
VEGF Rai vysoké	5	83,4	84,2	17,3	7,7–105,7	0,293
VEGF před léčbou	12	95,5	156,2	164,2	51,9–260,6	0,0068
VEGF po léčbě	12	40,2	54,5	60,1	16,4–92,7	

Hodnoty bFGF i VEGF jsou uvedeny v pg/ml. CLL – chronická lymfocytární leukemie, s – standardní odchylka, IC – interval spolehlivosti.

standardní metodiky doporučené výrobcem. Studie byla provedena dle zásad Helsinské deklarace, schválena etickou komisí a nemocní podepsali informovaný souhlas. Statistická analýza byla provedena pomocí softwaru Analyse-it (Analyse-it Software Ltd, Velká Británie). Všechna data byla testována na normalitu Shapirovým-Wilkovým testem. Pokud bylo rozdělení dat normální, byl k testování rozdílů koncentrací vůči kontrolní skupině užit parametrický t-test. Pokud neměla data normální rozdělení, byl použit neparametrický Mannův-Whitneyův U test. K testování změny angiogenních faktorů po léčbě byl proveden Wilcoxonův test. Korelace byla stanovena pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Všechny výsledky p hodnot jsou pro dvoustranné testy. P hodnoty nižší než 0,05 byly považovány za statisticky významné.

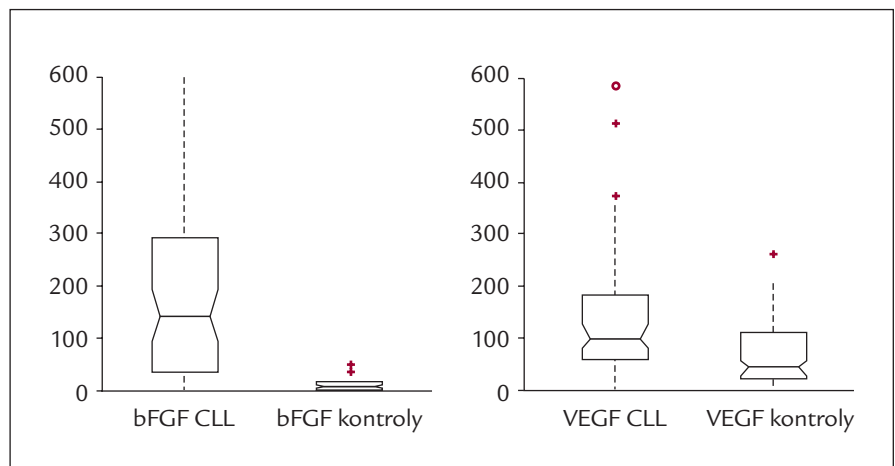
Výsledky

Deskriptivní statistika i výsledky testování rozdílů v koncentracích bFGF a VEGF mezi jednotlivými skupinami a kontrolami jsou uvedeny v tab. 1. Koncentrace obou cytokinů u nemocných s CLL byly signifikantně vyšší oproti kontrolní skupině (bFGF: průměr $\pm$ standardní odchylka $177,1 \pm 167,3$ pg/ml, 95% IC – interval spolehlivosti – průměru 140,9–213,5 pg/ml vs $11,1 \pm 11,3$ pg/ml, 95% IC 8,6 až 13,6 pg/ml, $p < 0,0001$; VEGF: $144,2 \pm 141,6$ pg/ml, 95 % IC 113,4 až 174,9 pg/ml vs $64,2 \pm 59,6$ pg/ml, 95% IS 51,0–77,5 pg/ml, $p < 0,0001$), obr. 1. Počet leukocytů v době odběru nekoreloval s koncentracemi angiogenních faktorů (bFGF: $r = 0,1$; VEGF: $r = 0,17$), z čehož vyplývá, že hodnoty angiogenních cytokinů nejsou prostým ukazatelem nádorové masy (tab. 2). Z hlediska prognostických faktorů nebyly nalezeny rozdíly v koncentracích bFGF či VEGF u nemocných s nízkým vs středním vs vysokým rizikem dle Raie (což také hovoří proti lineární souvislosti intenzity angiogeneze a nádorové nálože) či u mužů vs u žen

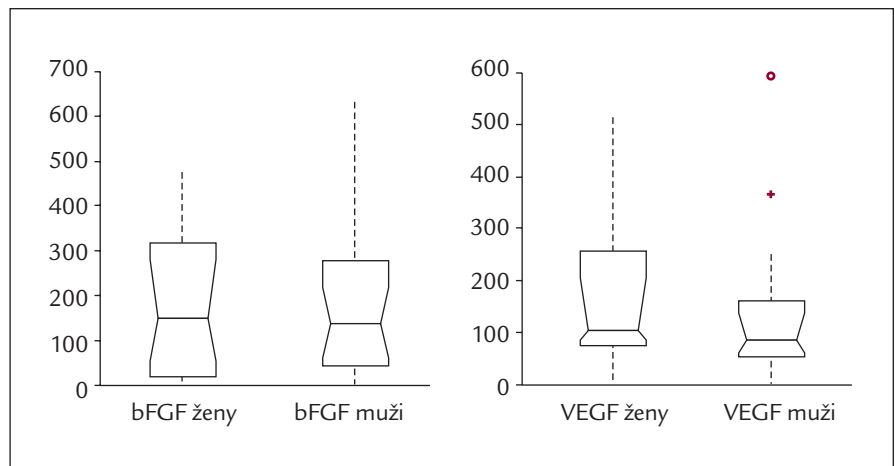
Tab. 2. Koncentrace angiogenních faktorů ani jejich pokles po léčbě nekorelují s hodnotou leukocytů.

skupina	r	p
bFGF, leuko	0,1	0,449
VEGF, leuko	0,17	0,201
bFGF, leuko před léčbou	0,48	0,114
bFGF, leuko po léčbě	0,27	0,403
VEGF, leuko před léčbou	0,5	0,097
VEGF, leuko po léčbě	-0,24	0,455

Leuko – leukocyty, r – Spearmanův korelační koeficient



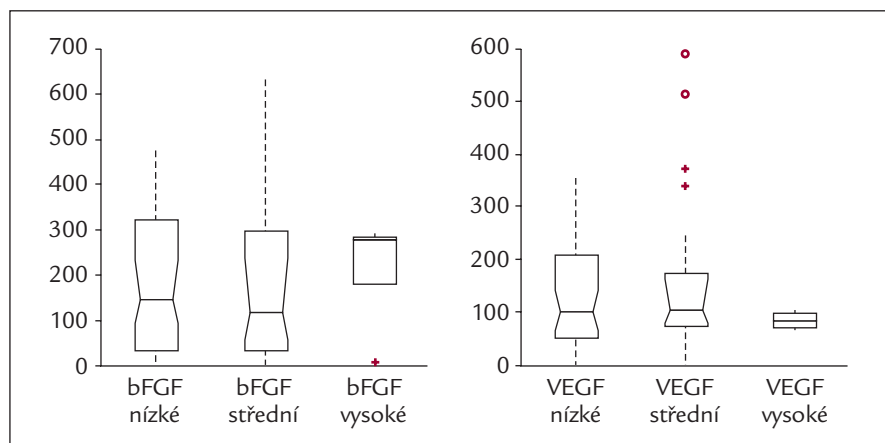
Graf 1. Statisticky významné zvýšení bFGF (a) i VEGF (b) u skupiny nemocných s CLL vs kontrol. Koncentrace jsou uvedeny v pg/ml.



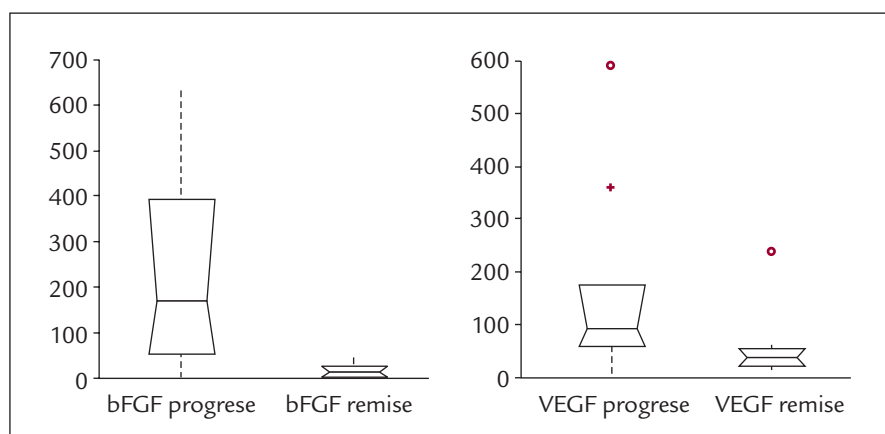
Graf 2. Plazmatické koncentrace bFGF (a) a VEGF (b) se neliší mezi muži a ženami. Koncentrace jsou uvedeny v pg/ml.

(obr. 2 a 3). U 12 nemocných, kteří podstoupili intenzivní léčbu obsahující fludarabin (režim FCR – fludarabin + cyklofosfamid + rituximab, $n = 9$; protokol FC – fludarabin + cyklofosfamid, $n = 3$) došlo po léčbě k signifi-

kantnímu poklesu koncentrace bFGF ($p = 0,0005$) i VEGF ($p = 0,0068$), aniž by pokles angiogenních cytokinů po léčbě koreloval s počtem leukocytů (obr. 4, tab. 2). Hodnoty bFGF i VEGF u CLL pacientů po léčbě byly



Graf 3. Hodnoty bFGF (a) ani VEGF (b) nejsou závislé na klinickém stadiu dle Raie. Koncentrace jsou uvedeny v pg/ml.



Graf 4. Statisticky významný pokles koncentrací bFGF (a) i VEGF (b) po intenzivní léčbě založené na fludarabinu. Koncentrace jsou uvedeny v pg/ml.

již bez statisticky významného rozdílu vůči zdravým kontrolám ($p = 0,524$, resp. $0,728$).

Diskuse

V posledních letech přibývá důkazů o významu angiogeneze u hematologických malignit. Zvýšené koncentrace angiogenních aktivátorů v periferní krvi byly zjištěny u prakticky všech maligních krevních onemocnění [3–9]. První zmínka o angiogenních ukazatelích u chronické lymfocytární leukemie pochází z roku 1995, kdy Duensing et al prokázali zvýšení bFGF v séru u pilotního souboru 18 pacientů s CLL [23]. V pozdějších letech bylo publikováno několik prací zkoumajících cirkulující bFGF i VEGF [5,13,24–29], některé však vykazovaly metodické nedostatky v podobě naprosté absence

či nedostatečného rozsahu kontrolní skupiny [5,23,25,29], ev. zařazení i nemocných, kteří před hodnocením angiogeneze již podstoupili cytoredukční léčbu [5,23,25,29]. V naší práci jsou proto zařazení výhradně nemocní s neléčenou CLL a kontrolní skupina 80 zdravých dobrovolníků (největší ze všech publikovaných prací na dané téma) prakticky vylučuje chybu malých čísel. V naší práci jsme v souladu s literaturou zjistili statisticky významné zvýšení klíčových aktivátorů angiogeneze bFGF a VEGF v periferní krvi ve srovnání s kontrolní skupinou. Co se týče prognostického významu ukazatelů angiogeneze, ve 3 studiích byly nalezeny vyšší koncentrace bFGF u pokročilých vs. časných stadií [13, 26,28]. Molica et al navíc zjistili souvislost mezi vyšší koncentrací VEGF

a časnější progresí nemocných z časných stadií [13]. Bairey et al publikovali korelaci mezi sérovým bFGF a antiapoptotickým proteinem bcl-2 [25]. V našem souboru jsme neshledali signifikantních rozdílů v bFGF či VEGF mezi nemocnými různých klinických stadií. Jednou z možných příčin je odlišné spektrum pacientů (pouze 5 nemocných v pokročilém stadiu) a také použití odlišného materiálu pro hodnocení angiogenních faktorů (plazma vs. sérum). Z technického hlediska je zajímavé, že naprostá většina studií hodnotila angiogenní aktivátory v krevním séru periferní krve [14,24–27], pouze ve 2 pracích byla použita krevní plazma [5,29]. Otázka, zda je vhodnější měřit ukazatele angiogeneze v séru či plazmě, je kontroverzní a dosud nedořešená, nicméně řada prací dokazuje, že zejména v případě VEGF je kvantifikace v séru zatížena chybou způsobenou uvolněním tohoto faktoru z trombocytů při tvorbě krevní sraženiny, z čehož vyplývají vyšší hodnoty v séru ve srovnání s plazmou a pozitivní korelace s počtem trombocytů [30–33]. Z tohoto důvodu považujeme za přesnější stanovení angiogenních faktorů v plazmě.

Naše pilotní data prokázala významné snížení bFGF i VEGF po chemoterapii na bázi fludarabinu, na základě čehož vyslovujeme hypotézu, že tato léčba by mohla mít také antiangiogenní účinky. Tuto domněnku nepřímo podporují publikace dokazující antiangiogenní efekt u některých klasických cytostatik [34,35]. V jediné předchozí studii hodnotící vliv léčby na angiogenní faktory u CLL zjistila Gora-Tybor et al signifikantní pokles bFGF a TGF- β (transformujícího růstového faktoru β) u 18 nemocných léčených monoterapií kladribinem [17]. Dosud neexistuje práce hodnotící angiogenní faktory v závislosti na kombinované léčbě obsahující fludarabin, stejně tak nebyla dosud publikována studie hodnotící vývoj koncentrací VEGF po léčbě CLL. V tomto jsou naše výsledky prioritní. Nedostatkem naší

studie je absence srovnání angiogenních faktorů s moderními prognostickými faktory (mutační stav IgVH, genetické aberace vyšetřované pomocí FISH). Souvislost mutačního stavu IgVH a angiogenních aktivátorů jsme již publikovali jako pilotní studii u 46 nemocných [36]. V nynější rozšířené kohortě však nebylo možné z finančních důvodů tato vyšetření provést u starých či polymorbidních nemocných vzhledem k tomu, že velmi drahé stanovení mutačního stavu IgVH či genetických aberací u nich neovlivní volbu terapie.

Závěr

Závěrem shrnujeme, že v naší studii jsme prokázali signifikantní zvýšení zásadních angiogenních cytokinů bFGF a VEGF u skupiny nemocných s dosud neléčenou CLL. Nebyla prokázána souvislost koncentrací těchto faktorů s klinickým stadiem dle Raie, či pohlavím. Agresivní léčba složená z fludarabinu, cyklofosfamidu + rituximabu vedla k významnému snížení koncentrací těchto angiogenních aktivátorů na hodnoty srovnatelné s kontrolní skupinou. Tyto výsledky by tedy mohly ukazovat na antiangiogenní působení této terapie. Delší doba sledování je nutná k posouzení eventuální spojitosti mezi angiogenními ukazateli parametry jako doba do progresu či celkové přežití; rozsáhlejší kohorta nemocných pak k potvrzení pilotních dat týkajících se poklesu angiogenních faktorů po léčbě. Další výzkum angiogeneze u CLL je cenný nejen z prognostického, ale také léčebného hlediska, neboť v současné době jsou již k dispozici nadějná data z klinických studií využívajících antiangiogenní léky, jako je thalidomid či lenalidomid [37,38].

Tato práce byla podpořena grantem NR/8373-3 IGA MZ ČR.

Literatura

1. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971; 285: 1182–1186.

2. Folkman J. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med* 1995; 333: 1757–1763

3. Pour L, Hájek R, Büchler T et al. Angiogeneze a antiangiogenní léčba u nádorů. *Vnitř Lék* 2004; 50(12): 930–938.

4. Smolej L, Benešová P. Význam angiogeneze u maligních nádorů. *Acta Medica (Hradec Králové) Suppl* 2005; 48: 69–72.

5. Aguayo A, Kantarjian H, Manshouri T et al. Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes. *Blood* 2000; 96: 2240–2245.

6. Moehler TM, Ho AD, Goldschmidt H et al. Angiogenesis in hematologic malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2003; 45: 227–244.

7. Rajkumar SV, Witzig TE. A review of angiogenesis and antiangiogenic therapy with thalidomide in multiple myeloma. *Cancer Treat Rev* 2000; 26: 351–362.

8. Salven P, Teerenhovi L, Joensuu H. A high pretreatment serum vascular endothelial growth factor concentration is associated with poor outcome in non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 90: 3167.

9. Perez-Atayde AR, Sallan SE, Tedrow U et al. Spectrum of tumor angiogenesis in the bone marrow of children with acute lymphoblastic leukemia. *Am J Pathol* 1997; 150: 815–821.

10. Shanafelt TD, Geyer SM, Kay NE. Prognosis at diagnosis: integrating molecular biologic insights into clinical practice for patients with CLL. *Blood* 2004; 103: 1202–1210.

11. Papajík T, Jarošová M, Píkalová Z et al. Chronická B-lymfocytární leukemie. Část II: Diagnostická kritéria a význam stanovení individuální prognózy nemocného. *Trans Hematol* 2006; 12: 132–139.

12. Kay NE, Bone ND, Tschumper RC et al. B-CLL cells are capable of synthesis and secretion of both pro- and antiangiogenic molecules. *Leukemia* 2002; 16: 911–919.

13. Molica S, Vitelli G, Levato D et al. Clinicoprognostic implications of increased serum levels of vascular endothelial growth factor and basic fibroblastic growth factor in early B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Cancer* 2002; 86: 31–35.

14. Menzel T, Rahman Z, Calleja E et al. Elevated intracellular level of basic fibroblast growth factor correlates with stage of chronic lymphocytic leukemia

and is associated with resistance to fludarabine. *Blood* 1996; 87: 1056–1063.

15. König A, Menzel T, Lynen S et al. Basic fibroblast growth factor (bFGF) upregulates the expression of bcl-2 in B-cell chronic lymphocytic leukemia cell lines resulting in delaying apoptosis. *Leukemia* 1997; 11: 258–265.

16. Ferrajoli A, Manshouri T, Estrov Z et al. High levels of vascular endothelial growth factor receptor-2 correlate with shortened survival in chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 795–799.

17. Gora-Tybor J, Blonski JZ, Robak T. Cladribine decreases the level of angiogenic factors in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Neoplasma* 2002; 49: 145–148.

18. Auguste P, Javerzat S, Bikfalvi A. Regulation of vascular development by fibroblast growth factors. *Cell Tissue Res* 2003; 314: 157–166.

19. Šimíčková M, Dubská L, Kocáková I et al. Angiogeneze a antiangiogenní terapie se zaměřením na cirkulující vaskulární endotelový růstový faktor (VEGF). *Klin Onkol* 2006; 19: 212–216.

20. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3: 391–400.

21. Cheson BD, Bennett JM, Grever M et al. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood* 1996; 87: 4990–4997.

22. Rai KR. A critical analysis of staging in CLL. In: Gale RP, Rai KR (eds). *Chronic Lymphocytic Leukemia. Recent Progress and Future Direction*. New York (NY): AR Liss 1987: 253.

23. Duensing S, Atzpodien J. Increased intracellular and plasma levels of basic fibroblast growth factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1995; 85: 1978–1980.

24. Molica S, Vitelli G, Levato D et al. Increased serum levels of vascular endothelial growth factor predict risk of progression in early B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1999; 107: 605–610.

25. Bairey O, Zimra Y, Shaklai M et al. Bcl-2 expression correlates positively with serum basic fibroblast growth factor (bFGF) and negatively with cellular vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with chronic lymphocytic leukemia

mia. Br J Haematol 2001; 113: 400–406.

26. Gora-Tybor J, Blonski JZ, Robak T. Circulating proangiogenic cytokines and angiogenesis inhibitor endostatin in untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. Mediators Inflamm 2003; 12: 167–171.

27. Gora-Tybor J, Blonski JZ, Robak T. Circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) and its soluble receptors in patients with chronic lymphocytic leukemia. Eur Cytokine Netw 2005; 16: 41–46.

28. Wolowiec D, Dybko J, Wrobel T et al. Circulating sCD138 and some angiogenesis-involved cytokines help to anticipate the disease progression of early-stage B-cell chronic lymphocytic leukemia. Mediators Inflamm 2006; 3: 1–6.

29. Krejci P, Dvorakova D, Krahulcova E. FGF-2 abnormalities in B cell chronic lymphocytic and chronic myeloid leukemia. Leukemia 2001; 15: 228–237.

30. Werther K, Christensen IJ, Nielsen HJ. Determination of vascular endothelial growth factor (VEGF) in circulating blood: significance of VEGF in various leucocytes and platelets. Scand J Clin Lab Invest 2002; 62: 343–350.

31. Webb NJ, Bottomley MJ, Watson CJ et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is released from platelets during blood clotting: implications for measurement of circulating VEGF levels in clinical disease. Clin Sci (Lond) 1998; 94: 395–404.

32. George ML, Eccles SA, Tutton MG et al. Correlation of plasma and serum vascular endothelial growth factor levels with platelet count in colorectal cancer: clinical evidence of platelet scavenging? Clin Cancer Res 2000; 6: 3147–3152.

33. Banks RE, Forbes MA, Kinsey SE et al. Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology. Br J Cancer 1998; 77: 956–964.

34. Vacca A, Iurlaro M, Ribatti D et al. Antiangiogenesis is produced by nontoxic doses of vinblastine. Blood 1999; 94: 4143–4155.

35. Kerbel KS, Vitoria-Petit A, Klement G et al. „Accidental“ anti-angiogenic drugs: anti-oncogene directed signal transduction inhibitors and conventional chemo-

therapeutic agents as examples. Eur J Cancer 2000; 36: 1248–1257.

36. Smolej L, Andrys C, Pekova S et al. Plasma levels of basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor and their association with IgVH mutation status in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. Haematologica 2006; 91: 1432–1433.

37. Chanan-Khan A, Miller KC, Takeshita K et al. Results of a phase 1 clinical trial of thalidomide in combination with fludarabine as initial therapy for patients with treatment-requiring chronic lymphocytic leukemia (CLL). Blood 2005; 106: 3348–3352.

38. Chanan-Khan A. Targeting the microenvironment: a new treatment paradigm for chronic lymphocytic leukaemia. Haematologica Reports 2006; 2: 22–27.

MUDr. Lukáš Smolej

www.fnhk.cz

e-mail: smolej@seznam.cz

Doručeno do redakce: 18. 5. 2007

Přijato po recenzi: 17. 7. 2007

www.geriatrickarevue.cz