

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

Hodnocení angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie

MUDr. Lukáš Smolej

Autoreferát dizertační práce

Doktorský studijní program: vnitřní nemoci

Hradec Králové, 2008

Práce byla podpořena grantem č. NR/8373-3 a výzkumným záměrem MZO 00179906

Ministerstva zdravotnictví České republiky.

Dizertační práce byla vypracována na II. interní klinice, oddělení klinické hematologie Lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice v Hradci Králové v rámci kombinované formy doktorského studijního programu vnitřní nemoci na Univerzitě Karlově v Praze, Lékařské fakultě v Hradci Králové.

Uchazeč: MUDr. Lukáš Smolej
II. interní klinika, oddělení klinické hematologie
Lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice
Sokolská 581, 500 05, Hradec Králové

Školitel: Prof. MUDr. Jaroslav Malý, CSc.
II. interní klinika, oddělení klinické hematologie
Lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice
Sokolská 581, 500 05, Hradec Králové

Oponenti: doc. MUDr. Michael Doubek, Ph.D.
Fakultní nemocnice Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno - Bohunice

prof. MUDr. Karel Indrák, DrSc.
Fakultní nemocnice Olomouc
I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc

Stanovisko k dizertační práci bylo vypracováno katedrou interních oborů Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové.

S dizertační prací je možné se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty UK v Hradci Králové, Šimkova 870.

Prof. MUDr. Jan Bureš, CSc.
Předseda komise pro obhajoby dizertačních prací
v oboru vnitřní nemoci

1. Úvod

Chronická lymfocytární leukémie (CLL) je nejčastějším leukemickým onemocněním dospělých na západní polokouli, celkově tvoří 25-30 % všech leukémii. Jde o onemocnění charakterizované hromaděním morfologicky zralých B-lymfocytů v kostní dřeni, periferní krvi a lymfatických orgánech. Etiologie choroby je neznámá. V patogenezi hraje zásadní roli nejen porucha apoptózy (programované buněčné smrti), která vede k narušení rovnováhy mezi novotvorbou a zánikem B-lymfocytů, ale díky znalostem z posledních let také z významné části aktivní proliferace maligního klonu. CLL má incidenci kolem 3/100 000 výrazně stoupající s věkem. Postihuje častěji muže než ženy v poměru 1,8:1. Medián věku při stanovení diagnózy je zhruba 65 let, v poslední době však klesá díky náhodnému zachytu CLL u asymptomatických jedinců při častějším rutinním vyšetřování krevního obrazu. Charakteristickou pro CLL je extrémní různorodost délky přežití, která může sahát od několika měsíců v případě agresivního onemocnění po více než 25 let (a tudíž přežití shodně s zdravými vrstevníky) při indolentním průběhu. Dosavadní klinické systémy stagingu (Rai, Binet) rozdělí základním způsobem nemocné dle rozsahu lymfadenopatie, organomegalie či cytopenií, nejsou však schopny identifikovat nemocné diagnostikované v časném stádiu, kteří však budou rychle progredovat a mít celkově špatnou prognózu. Proto se hledají nové prognostické faktory s cílem co nejpřesnější stratifikace nemocných dle rizika a vedoucí k individualizované léčbě. V současné době patří k významným prognostickým ukazatelům mutační stav genů pro variabilní část řetězce imunoglobulinu (IgV_H, výrazně horší prognóza pro nemocné s více než 98% homologií v sekvence vůči zárodečné linii) a genetické aberace detekované fluorescenční in situ hybridizací (FISH) - výrazně horší přežití pro nemocné s delecí 11q či 17p. V léčebné strategii došlo v posledních 10 letech k zásadnímu obratu od paliativní chemoterapie představované zejména chlorambucilem. Fludarabin a další purinová analoga v kombinaci s alkylačními cytostatiky, ev. monoklonálními protilátkami (rituximab a alemtuzumab) jsou schopné navodit nejen kompletní hematologickou, ale i molekulární remisi. Nadále je však CLL považována za nevyléčitelné onemocnění, pouze alogenní transplantace má u části nemocných zřejmě kurativní potenciál.

Jedním z možných prognostických faktorů, které by mohly přispět ke zpřesnění prognózy nemocných s CLL, je angiogeneze, neboli novotvorba cév z již existující vaskulatury. Tento proces je zcela nepostradatelný při rozvoji malignit. Zatímco význam angiogeneze u solidních nádorů je znám již od počátku 70. let 20. století, teprve v 90. letech dochází k výzkumu neovaskularizace u maligních onemocnění krevetvorby. Zvýšená angiogeneze byla zjištěna u akutních a chronických leukémií, maligních lymfomů, mnohočetného myelomu, myeloproliferací i myelodysplázií. CLL patří z hlediska angiogeneze k nejméně prozkoumaným hematologickým malignitám. Existují dva základní způsoby hodnocení angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie: stanovení koncentrací angiogenních cytokinů v periferní krvi a měření neovaskularizace v kostní dřeni.

1.1 Cirkulující angiogenní faktory

První zmínka o stanovení angiogenních ukazatelů v periferní krvi u chronické lymfocytární leukémie pochází z r. 1995, kdy Duensing et al. prokázali zvýšení bFGF (bazický růstový faktor pro fibroblasty) v séru u pilotního souboru 18 pacientů s CLL. V pozdějších letech bylo publikováno několik prací zkoumajících cirkulující koncentrace nejdůležitějších angiogenních aktivátorů bFGF i VEGF (cévní endotelový růstový faktor), některé však vykazovaly metodické nedostatky v podobě naprosté absence či nedostatečného rozsahu kontrolní skupiny, eventuálně zařazení i nemocných, kteří před hodnocením angiogeneze již podstoupili cytoredukční léčbu. Z hlediska prognostického významu byly ve třech studiích nalezeny vyšší koncentrace bFGF u pokročilých vs. časných klinických stádií. Molica et al. navíc zjistili souvislost mezi vyšší koncentrací VEGF a časnější progresí nemocných z časných stádií. Bairey et al. publikovali korelaci mezi sérovým bFGF a antiapoptotickým proteinem bcl-2. Co se týče cirkulujících

inhibitorů angiogeneze, jsou k dispozici pouze dvě studie týkající se sérového endostatínu, kde nebyly zjištěny významné rozdíly v koncentracích endostatínu mezi skupinou CLL pacientů a kontrolami. Byla též publikována souvislost mezi vyššími hodnotami endostatínu a pokročilým klinickým stádiem, resp. kratším obdobím do progresu. V jediné předchozí studii hodnotící vliv léčby na angiogenní faktory u CLL zjistila Gora-Tybor et al. signifikantní pokles bFGF a TGF-beta u osmnácti nemocných léčených monoterapií kladribinem. 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. Dosud také nebyla publikována jediná studie u CLL zabývající se solubilním endoglinem (sCD105), členem receptorového systému TGF-beta zásadně ovlivňujícím angiogenní pochody a zcela nezbytným pro intrauterinní vývoj vaskulatury.

Z metodického hlediska je nutno poznamenat, že naprostá většina studií hodnotila angiogenní aktivátory v krevním séru periferní krve, pouze ve dvou pracích byla použita krevní plazma. Řada prací dokazuje, že zejména v případě VEGF, ale také endostatínu 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. Z tohoto důvodu je podle našeho názoru přesnější a lépe vystihující biologickou aktivitu stanovení angiogenních faktorů v plazmě.

1.2 Vaskularita kostní dřeně

Význam vaskularity kostní dřeně u CLL není dosud zcela vyjasněn, což je dáno nedostatkem kvalitních studií v této oblasti. První publikace na toto téma (Aguayo et al.) nezjistila vyšší MVD vůči kontrolám. Problémem této studie však je zcela odlišná metodika hodnocení MVD. Naopak pilotní studie Kini et al. zvýšenou MVD prokázala. Dosud největší studie Sezera et al., publikovaná pouze formou abstraktu, zjistila kromě zvýšení MVD oproti kontrolám také signifikantně vyšší MVD u difúzní vs. nedifúzní infiltrace dřeně; navíc nemocní s vyšší (MVD) měli významně kratší dobu do progresu (PFS). Podobných výsledků dosáhli Mořica et al. u skupiny pacientů s časnou CLL. Wołowiec et al. zjistili také významně vyšší MVD u CLL a také pozitivní korelaci mezi proliferací a vaskularitou; neprokázali však vliv MVD na klinický průběh. Ve studii De Raeveho et al. byla zjištěna vyšší MVD a endoteliální proliferace pouze u podskupiny s difúzní infiltračí dřeně. Dosud byly publikovány pouze dvě pilotní studie hodnotící vliv léčby na mikrovaskulární denzitu kostní dřeně. V první z nich bylo léčbou na bázi fludarabinu dosaženo významného snížení MVD, ve druhé bylo stejného účinku dosaženo pomocí alemtuzumabu, nikoliv však chlorambucilu. Tato pilotní data naznačují, že fludarabin a alemtuzumab by mohly mít také antiangiogenní účinky. Příčin nejednoznačnosti dosavadních výsledků týkajících se vaskularity dřeně u CLL je několik. Za prvé, některé studie měly velmi omezený rozsah vyšetřených vzorků (např. Kini et al. vyšetřil 12 pacientů s CLL, z toho tři po léčbě). Za druhé, výsledky jednotlivých studií jsou těžko porovnatelné v důsledku použití odlišných protilátek k průkazu endotelu a metodik hodnocení MVD (např. metodika „hot spot“ vs. použití náhodných polí v publikaci Aguayo et al.). Nutné jsou tedy rozsáhlejší prospektivní studie s použitím pokud možno porovnatelných a reprodukovatelných metodik k objasnění praktického významu vaskularity dřeně v patogenezi CLL.

2. Cíle dizertační práce

1. Stanovit koncentrace cirkulujících angiogenních faktorů v plazmě nemocných s CLL.
2. Zhodnotit souvislost angiogenních faktorů s prognostickými faktory u CLL.
3. Vyšetřit vývoj koncentrací angiogenních faktorů po intenzivní léčbě.
4. Stanovit mikrovaskulární denzitu kostní dřeně u nemocných s CLL.
5. Zhodnotit souvislost mikrovaskulární denzity a prognostických faktorů u CLL.
6. Stanovit souvislost mikrovaskulární denzity a koncentrací angiogenních faktorů v plazmě.

3. Nemocní a metodiky

Do studie byly zařazeni nemocní s dosud neléčenou chronickou lymfocytární leukémií diagnostikovanou podle klasických kritérií National Cancer Institute – Sponsored Working Group. Hodnoty bFGF a VEGF byly změřeny u 73 CLL nemocných a 80 kontrol, sCD105 u 79 nemocných s CLL a 69 kontrol. Endostatin byl měřen u skupiny 62 nemocných s CLL a 34 kontrol. Stanovení neovaskularizace v kostní dřeni bylo provedeno u nemocných s CLL, kteří prodělali trepanobiopsii kostní dřene před zahájením léčby nebo v době diagnóz (CD34, n=22; vWF, n=17).

Vzoroky periferní krve k hodnocení cirkulujících angiogenních cytokinů byly odebrány do zkumavek obsahující ethylendiamintetraoctovou kyselinu (EDTA) jakožto antikoagulans. Všechny vzorky plazmy byly po centrifugaci zamrazeny při teplotě -70 °C až do měření. Angiogenní cytokiny byly stanoveny pomocí komerčně dostupného ELISA kitů (Human VEGF, bFGF, sCD105, Endostatin Quantikine ELISA kit, R & D Systems, MN, USA). Měření bylo provedeno podle standardní metodiky doporučené výrobcem.

Hodnocení mikrovaskulární denzity v histologických preparátech z trepanobiopsie lopaty kosti kyčelní bylo provedeno pomocí imunohistochemického vyšetření monoklonálními protilátkami proti lidskému von Willebrandově faktoru a CD34 (DakoCytomation, Dánsko). K hodnocení preparátů a výpočtu plochy zorného pole byl použit software počítačové analýzy obrazu LUCIA M/Comet 3.52 (Laboratory Imaging, Praha, ČR). Preparáty byly hodnoceny byly nejprve celkově zhodnoceny při přehledném zvětšení 100x nebo 200x, a pokud možno, byly vybrány oblasti s nejvyšším počtem patných cév, tzv. „hot spots“. Dále byly při velkém zvětšení 400x manuálně počítány vždy jen cévy, jejichž stěna byla tvořena pouze jednou vrstvou endotelií, a to ve 3 zorných polích v rámci jednoho „hot spot“. Výsledek byl udán v počtu cév na mm^2 . Studie byly provedeny dle zásad Helsinské deklarace, schváleny 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 Shapiro-Wilkovým testem. Pokud bylo rozdělení dat normální, byl k testování rozdílu koncentrací vůči kontrolní skupině užit parametrický t-test. Pokud neměla data normální rozdělení, byl použit neparametrický Mann-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.

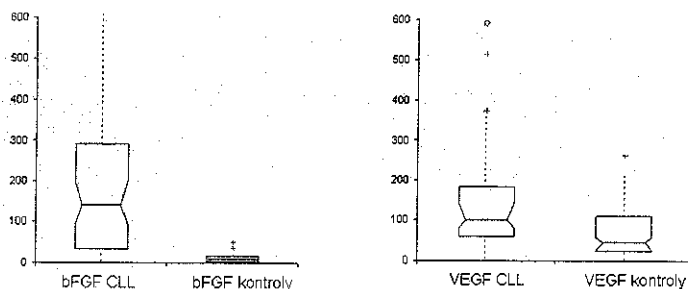
4. Výsledky

Koncentrace bFGF, VEGF, sCD105 i endostatinu byly významně zvýšeny u skupiny nemocných s CLL vůči kontrolní skupině (bFGF, VEGF, sCD105: $p < 0,0001$; endostatin: $p = 0,0494$ – viz tab. 1,2,4, obr. 1a, 2a, 3a, 4a). Také mikrovaskulární denzita byla významně vyšší u CLL vs. kontrol (CD34: $p = 0,039$, vWF: $p = 0,017$, tab. 4, obr. 5a). Koncentrace VEGF (nikoliv však bFGF) byly významně vyšší u nemocných s nízkou expresí ZAP-70 ($p = 0,018$ a $p = 0,088$). Naproti tomu koncentrace bFGF (nikoliv však VEGF) byly významně vyšší u nemocných s mutovanými vs. nemutovanými IgVH geny ($p = 0,019$ a $p = 0,0788$, tab. 3 a obr. 5). U dvanácti nemocných, kteří podstoupili intenzivní léčbu obsahující fludarabin (režim FCR - fludarabin + cyklofosfamid + rituximab, n=9; protokol FC - fludarabin + cyklofosfamid, n=3) došlo po léčbě k významnému poklesu koncentrace bFGF i VEGF ($p = 0,0005$, resp. $p = 0,0068$, obr. 2a,b). Nemocní s progresivní chorobou měli významně vyšší koncentrace sCD105 v porovnání s pacienty s indolentním průběhem ($p = 0,0016$). Byly prokázány významné rozdíly v koncentracích sCD105 v souvislosti s klinickým stádiem dle Raie ve smyslu vzestupu endoglinu od časných přes intermediární k pokročilým stádiím ($p = 0,009$ a $p = 0,04$, obr. 3b, tab. 3). Přežití do progresu bylo významně kratší u nemocných s CLL, kteří měli hodnotu sCD105

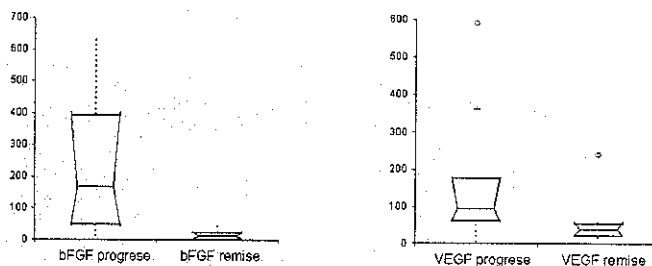
vyšší než průměr (medián 15 měs. vs. nedosažen, $p=0,0045$, obr. 3d). Nebyla zjištěna souvislost mezi plazmatickými koncentracemi endostatínu či mikrovaskulární denzity a klinickými či laboratorními prognostickými ukazateli. Stejně tak nebyla prokázána korelace mezi mikrovaskulární denzitou v kostní dřeni a koncentracemi angiogenních faktorů v periferní krvi. Byl však prokázán zásadní vliv endotelového markeru na hodnoty MVD (významně vyšší hodnoty při použití CD34 vs. vWF, $p<0,0001$, tab. 4, obr. 5b).

Angiogenní faktory	n	průměr	s	95% IS průměru	p
bFGF CLL	73	182,6	162,2	144,8-220,5	<0,0001
bFGF kontroly	80	11,1	11,3	8,6-13,6	
bFGF Rai nízké	37	182,3	158,4	129,5-235,1	0,782
bFGF Rai střední	31	178,9	176	114,4-243,5	
bFGF Rai vysoké	5	207,7	120,9	57,5-257,9	0,664
bFGF před léčbou	12	223,5	194,6	99,9-347,2	0,0005
bFGF po léčbě	12	13,6	13,3	5,1-22,0	
VEGF CLL	73	145,9	145,5	111,9-179,8	<0,0001
VEGF kontroly	80	64,2	59,5	51,0-77,5	
VEGF Rai nízké	37	144,3	161,8	26,6-198,2	0,365
VEGF Rai střední	31	157,8	136,4	24,5-207,8	
VEGF Rai vysoké	5	84,2	17,3	7,7-105,7	0,293
VEGF před léčbou	12	156,2	164,2	51,9-260,6	0,0068
VEGF po léčbě	12	54,5	60,1	16,4-92,7	

Tab. 1: bFGF a VEGF – deskriptivní statistika a porovnání jednotlivých podskupin pomocí Mann-Whitneyova testu. Zkratky: CLL - chronická lymfocytární leukémie; s – standardní odchylka; IS, interval spolehlivosti. Všechny koncentrace jsou uvedeny v pg/ml.



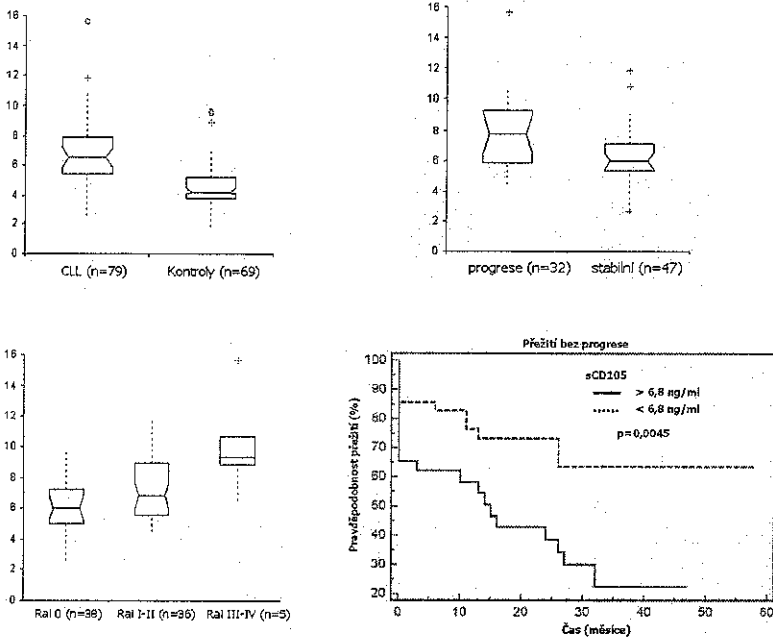
Obr. 1. Statisticky významné zvýšení bFGF (a) i VEGF (b) u nemocných s CLL vs. kontroly. Koncentrace jsou v pg/ml.



Obr. 2. Statisticky významný pokles koncentrací bFGF (a) i VEGF (b) po intenzivní léčbě založené na fludarabinu.

sCD105	n	průměr	s	95% IS průměru	p
CLL	79	6,8	2,1	6,4-7,4	<0,0001
kontroly	69	4,6	1,5	4,3-4,9	
Muži	50	7,0	2,2	6,4-7,6	0,42
Ženy	29	6,6	2,1	5,8-7,4	
progresivní choroba	32	7,8	2,3	6,9-8,6	0,002
stabilní choroba	47	6,2	1,7	5,7-6,7	
Rai 0	38	6,1	1,6	5,5-7,9	0,009
Rai I-II	36	7,2	1,9	6,6-7,9	
Rai III-IV	5	10,2	3,4	6,0-14,4	0,04

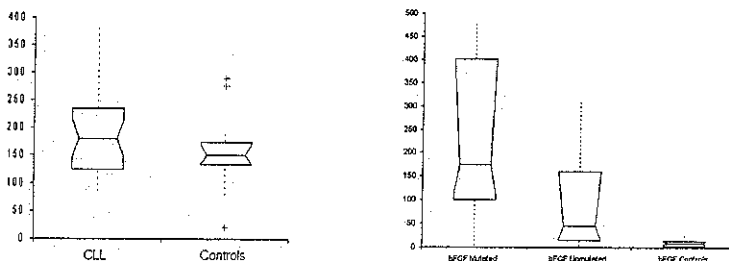
Tab. 2. sCD105 – deskriptivní statistika a porovnání jednotlivých podskupin pomocí Mann-Whitneyova testu. Zkratky: CLL - chronická lymfocytární leukémie; s – standardní odchylka; IS, interval spolehlivosti. Koncentrace jsou uvedeny v ng/ml.



Obr.3 a-c. Krabičkové grafy koncentrací sCD105. a – CLL vs. kontroly; b – progresivní vs. stabilní choroba; c – klinické stádium Rai 0 vs. I-II vs. III-IV. Obr. 3d. Přežití bez progresie je významně kratší u nemocných s CLL a koncentracemi sCD105 vyššími než aritmetický průměr. Hodnoty jsou v ng/ml.

Skupina	n	průměr	s	95% IS průměru	p
bFGF mutované IgVH	26	212,7	165,2	146,0-279,4	0,0149
bFGF nemutované IgVH	23	91,7	98,0	49,3-134,0	
VEGF mutované IgVH	26	141,7	90,9	105,0-178,4	0,0788
VEGF nemutované IgVH	23	134,4	156,8	66,6-202,2	

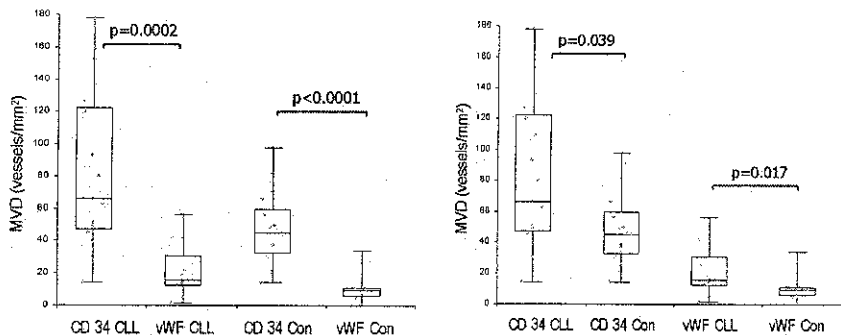
Tab. 3. bFGF/VEGF a mutační stav IgVH. Deskriptivní statistika a porovnání jednotlivých podskupin pomocí Mann-Whitneyova testu. Zkratky: CLL - chronická lymfocytární leukémie; s – standardní odchylka; IS, interval spolehlivosti. Koncentrace jsou uvedeny v pg/ml.



Obr.4 (vlevo), významně vyšší hodnoty endostatinu u CLL vs. kontrol. **Obr.5** (vpravo), bFGF je významně vyšší u nemocných s mutovanými vs. nemutovanými geny pro IgVH. Hodnoty jsou uvedeny v pg/ml.

	Mikrovaskulární denzita	
	CD34	vWF
CLL vs. kontroly	0,039	0,017
difúzní vs. ne-difúzní infiltrace	0,133	0,536
Rai 0 vs. I-IV	0,144	0,139
Stabilní vs. progresivní choroba	0,898	0,114
IgVH mutované vs. nemutované	0,172	0,383
Příznivé vs. nepříznivé FISH	0,705	0,105
CD 34 vs. vWF CLL		0,0002
CD 34 vs. vWF kontroly		<0,0001

Tab. 4 Významně vyšší MVD u nemocných s CLL a při použití CD34 vs. vWF.



Obr.5a Mikrovaskulární denzita je významně vyšší u nemocných s CLL v porovnání s kontrolami. **Obr. 5b** Hodnoty MVD jsou významně vyšší pro použití CD 34 vs. vWF. Hodnoty jsou uvedeny v počtu cév na mm².

5. Závěry

- 1) Angiogenní aktivátory bFGF, VEGF, sCD105 a inhibitor endostatin byly významně zvýšeny v plazmě periferní krve nemocných s neléčenou CLL.
- 2) Koncentrace sCD105 byly významně vyšší u nemocných s pokročilým klinickým stádiem a progresivním průběhem onemocnění.
- 3) Koncentrace bFGF byly významně zvýšeny u nemocných s mutovanými vs. nemutovanými geny pro IgVH.
- 4) Koncentrace VEGF byly významně vyšší u nemocných s nízkou expresí ZAP-70.

- 5) Nebyla prokázána souvislost endostatínu s klasickými či moderními prognostickými ukazateli u CLL.
- 6) bFGF a VEGF v plazmě periferní krve významně poklesly po úspěšné léčbě založené na fludarabinu.
- 7) Mikrovaskulární denzita byla významně zvýšena v kostní dřeni CLL pacientů.
- 8) Nebyla prokázána souvislost mikrovaskulární denzity s prognostickými faktory.
- 9) Nebyla prokázána korelace mezi mikrovaskulární denzitou v kostní dřeni a koncentracemi angiogenních faktorů v periferní krvi.
- 10) Hodnoty mikrovaskulární denzity byly významně závislé na druhu použitého endotelového markeru (významně vyšší MVD při použití CD34 vs. vWF).

6.1 Souhrn

Angiogeneze je v současné době považována za zásadní proces v patogenezi nádorového růstu. Ačkoliv je úloha angiogeneze u solidních nádorů jasná, o mnoho méně vědomostí o jejím významu je k dispozici u hematologických malignit. Chronická lymfocytární leukémie, nejčastější leukemické onemocnění na západní polokouli, je typická nesmírnou různorodostí klinického průběhu s celkovým přežitím sahajícím od několika měsíců po desítky let. Proto je věnována maximální snaha co nejlepšimu prognostickému zařazení každého nově diagnostikovaného nemocného. Účelem dizertační práce bylo pokusit se lépe charakterizovat konkrétní význam angiogeneze na prognózu a vztah k dalším prognostickým ukazatelům u CLL. Angiogeneze byla hodnocena dvěma základními metodami: koncentrace cirkulujících angiogenních aktivátorů (bazický růstový faktor pro fibroblasty - bFGF, cévní endotelový růstový faktor - VEGF, solubilní endoglin - sCD105) a inhibitoru endostatínu byly měřeny v plazmě obvodové krve za použití komerčně dostupných ELISA kitů u neléčených pacientů s CLL (bFGF, VEGF: n=73; endostatin: n=62; sCD105: n=79). Mikrovaskulární denzita kostní dřene (MVD) byla analyzována imunohistochemicky v preparátech z trepanobiopsií kostní dřene u neléčených nemocných s CLL za použití monoklonálních protilátek proti CD34 (n=22) a von Willebrandové faktoru (vWF, n=17). Všechny angiogenní cytokiny byly významně zvýšeny u kohorty s CLL vůči zdravým kontrolám. Koncentrace sCD105 byly významně zvýšeny u nemocných s progresivní chorobou a v pokročilých klinických stádiích; navíc vysoké hodnoty sCD105 korelovaly s kratším obdobím do progresu. Hodnoty bFGF byly významně vyšší u nemocných s mutovanými vs. nemutovanými geny pro IgVH; naproti tomu VEGF byl významně vyšší u nemocných s nízkou expresí ZAP-70. Koncentrace bFGF and VEGF významně poklesly po úspěšné léčbě založené na fludarabinu. Mikrovaskulární denzita byla také významně vyšší u skupiny s CLL vůči kontrolám, ale nebyla prokázána souvislost s dalšími prognostickými faktory. Stejně tak nebyla prokázána souvislost MVD s cirkulujícími angiogenními faktory. Hodnoty MVD byly významně závislé na tom, který endotelový marker byl použit (významně vyšší MVD při použití CD34 vs. vWF). Naše data ukazují, že angiogeneze by mohla hrát významnou úlohu v biologii CLL. Je zapotřebí dalších studií s rozsáhlejšími soubory nemocných a delší dobou sledování k potvrzení našich dat a k lepšímu porozumění angiogenním procesům a tím i kvalitnějšímu prognostickému zařazení individuálních nemocných u CLL.

6.2 Summary

Angiogenesis is currently considered a crucial process in the biology of malignant growth. While the role of angiogenesis is clear in solid tumors, much less knowledge exists about its significance in hematological malignancies. Chronic lymphocytic leukemia is the predominant leukemic disorder on the western hemisphere. It is typical of extremely heterogeneous clinical course with overall survival ranging from several months to dozens of years. Therefore, maximal efforts are devoted to best possible prognostication of newly diagnosed CLL patients.

The purpose of the thesis was to try to better characterize the exact role of angiogenesis on prognosis and its relationship to other prognostic parameters in CLL. Angiogenesis was quantified using two principal methods: concentrations of circulating angiogenic activators bFGF, VEGF, sCD105 and inhibitor endostatin in peripheral blood plasma were measured using commercially-available ELISA in untreated CLL patients (bFGF and VEGF, n=73; endostatin, n=62; sCD105, n=79). Bone marrow microvessel density (MVD) was analysed immunohistochemically in bone marrow biopsies from untreated CLL patients using monoclonal antibodies against CD34 (n=22) and von Willebrand factor (vWF, n=17). Angiogenic activators bFGF, VEGF, sCD105 and inhibitor endostatin were all significantly elevated in peripheral blood plasma of CLL patients. Levels of sCD105 were significantly elevated in patients with advanced clinical stages and with progressive disease; in addition, higher sCD105 correlated with shorter progression-free survival. bFGF concentrations were significantly higher in patients with mutated vs. unmutated IgVH genes while VEGF was elevated in patients with low ZAP-70 expression. In addition, levels of bFGF and VEGF significantly decreased after successful treatment based on fludarabine. With regard to bone marrow microvessel density, we have detected its elevation in CLL patients over controls but no association with classical or modern prognostic factors was found. Likewise, there was no correlation between microvessel density and circulating angiogenic cytokines. The values of MVD were significantly affected by choice of endothelial marker (significantly higher MVD using CD34 vs. vWF). In conclusion, our data indicate that angiogenesis may play an important role in CLL biology. Further studies using larger patient cohorts and longer follow-up are warranted in order to confirm our results and further contribute to better understanding of angiogenic processes and refined prognostication of individual patients in CLL.

7. Literatura

1. Aguayo A, Kantarjian H, Manshouri T et al. Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes. *Blood* 2000; 96:2240-5
2. Bairey O, Boycov O, Kaganovsky E et al. All three receptors for vascular endothelial growth factor (VEGF) are expressed on B-chronic lymphocytic leukemia (CLL) cells. *Leuk Res.* 2004; 28: 243-248.
3. Bairey O, Zimra Y, Shaklai M, Rabizadeh E. 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 leukaemia. *Br J Haematol.* 2001;113(2):400-6.
4. Bellamy WT, Richter L, Frutiger Y et al. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in hematopoietic malignancies. *Cancer Res.* 1999;59:728-733
5. Calabro L, Fonsatti E, Bellomo G et al. Differential levels of soluble endoglin (CD105) in myeloid malignancies. *J Cell Physiol* 2003; 194:171-5
6. De Raeve HR, Vermeulen PB, Vanderkerken K, Harris AL, Van Marck E. Microvessel density, endothelial-cell proliferation and carbonic anhydrase IX expression in haematological malignancies, bone-marrow metastases and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Virchows Arch.* 2004;445:27-35.
7. 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.
8. Duff SE, Li C, Garland JM, Kumar S. CD105 is important for angiogenesis: evidence and potential applications. *FASEB J* 2003; 17: 984-92
9. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med.* 1971; 285(21):1182-6.
10. Folkman J. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Clinical applications research on angiogenesis. *N Engl J Med.* 1995; 333(26):1757-63.

11. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med.* 1995; 1(1):27-31.
12. Ferrajoli A, Manshouri T, Estrov Z, Keating MJ, O'Brien S, Lerner S, Beran M et al. High levels of vascular endothelial growth factor receptor-2 correlate with shortened survival in chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res.* 2001;7(4):795-9.
13. Ferrara N. VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors. *Nat Rev Cancer* 2002; 2:795—803.
14. Gora-Tybor J, Blonski JZ, Robak T. Cladribine decreases the level of angiogenic factors in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Neoplasma* 2002;49(3):145-8.
15. 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
16. Chanan-Khan A., Porter C.W. Immunomodulating drugs for chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet Oncol.* 2006;7(6):480-8.
17. Cheifetz S, Bellon T, Cales C, Vera S, Bernabeu C, Massague J, Letarte M. Endoglin is a component of the transforming growth factor-beta receptor system in human endothelial cells. *J Biol Chem.* 1992; 267(27):19027-30.
18. 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.
19. Kay NE, Jelinek DF, Peterson L. Angiogenesis in B-chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res.* 2001;25(8):709-10.
20. Kay NE, Bone ND, Tschumper RC et al. B-CLL cells are capable of synthesis and secretion of both pro- and anti-angiogenic molecules. *Leukemia.* 2002;16(5):911-9.
21. Kerbel KS, Vitoria-Petit A, Klement G, Rak J. 'Accidental' anti-angiogenic drugs: anti-angiogenic directed signal transduction inhibitors and conventional chemotherapeutic agents as examples. *Eur J Cancer* 2000;36:1248—57.
22. Kini AR, Kay NE, Peterson LC. Increased bone marrow angiogenesis in B cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2000;14:1414—1418.
23. Konig 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(2):258-65.
24. Korkolopoulou P, Gribabis DA, Kavantzas N et al. A morphometric study of bone marrow angiogenesis in hairy cell leukaemia with clinicopathological correlations. *Br J Haematol.* 2003;122(6):900-10.
25. Krejci P, Dvorakova D, Krahulcova E. FGF-2 abnormalities in B cell chronic lymphocytic and chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2001; 15: 228-237.
26. Lebrin F, Goumans MJ, Jonker L, Carvalho RL, Valdimarsdottir G, Thorikay M, Mummery C, Arthur HM, Dijke Pt P: Endoglin promotes endothelial cell proliferation and TGF-beta/ALK1 signal transduction. *EMBO J.* 2004;1-11
27. Li C, Gardy R, Seon BK, Duff SE, Abdalla S, Renehan A, O'Dwyer ST, Haboubi N, Kumar S: Both high intratumoral microvessel density determined using CD105 antibody and elevated plasma levels of CD105 in colorectal cancer patients correlate with poor prognosis. *Br J Cancer* 2003; 88:1424-31
28. Mangi MH, Newland AC. Angiogenesis and angiogenic mediators in haematological malignancies. *Br J Haematol.* 2000; 111(1):43-51.
29. 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(3):1056-63.
30. Moehler TM, Ho AD, Goldschmidt H, Barlogie B. Angiogenesis in hematologic malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2003; 45(3):227-44.
31. Molica S, Vacca A, Levato D, Merchionne F, Ribbati D. Angiogenesis in acute and chronic

- lymphocytic leukemia. *Leuk Res.* 2004; 28: 321-324.
32. Molica S, Vacca A, Ribatti D et al. Prognostic value of enhanced bone marrow angiogenesis in early B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2002;100(9):3344-51.
 33. Molica S, Vacca A, Tucc L, Ribatti D. Reversal of bone marrow angiogenesis in chronic lymphocytic leukemia following fludarabine therapy. *Haematologica.* 2005;90(5):698-700.
 34. Molica S, Vitelli G, Levato D, Gandolfo GM, Liso V. Increased serum levels of vascular endothelial growth factor predict risk of progression in early B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol.* 1999;107(3):605-10.
 35. 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.
 36. Montillo M, Hamblin T, Hallek M et al. Chronic lymphocytic leukemia: novel prognostic factors and their relevance for risk-adapted therapeutic strategies. *Haematologica.* 2005, 90(3), 391-9.
 37. Niemoller K, Jakob C, Heider U et al. Bone marrow angiogenesis and its correlation with other disease characteristics in multiple myeloma in stage I versus stage II-III. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2003;129(4):234-8
 38. Panteli K, Zagorianakou N, Bai M et al. Angiogenesis in chronic myeloproliferative diseases detected by CD34 expression. *Eur J Haematol.* 2004;72(6):410-5.
 39. Pule MA, Gullmann C, Dennis D et al. Increased angiogenesis in bone marrow of children with acute lymphoblastic leukaemia has no prognostic significance. *Br J Haematol.* 2002; 118(4):991-8.
 40. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP et al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1975;46:219-234.
 41. Rajkumar SV, Leong T, Roche PC et al. Prognostic value of bone marrow angiogenesis in multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2000; 6:3111-3116
 42. Rajkumar SV, Mesa RA, Tefferi A. A review of angiogenesis and anti-angiogenic therapy in hematological malignancies. *Jour Hematother Stem Cel Res* 2001; 11: 33-47
 43. Ribatti D, Molica S, Vacca A et al. Tryptase-positive mast cells correlate positively with bone marrow angiogenesis in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia.* 2003;17(7):1428-30.
 44. Sezer O, Niemoeller K, Jakob C et al. Increased bone marrow angiogenesis is of prognostic relevance in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2001; 98 (11):361a (abstract)
 45. Shanafelt TD, Call TG. Current Approach to Diagnosis and Management of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Mayo Clin Proc.* 2004;79:388-398
 46. Shanafelt TD, Kay NE. The clinical and biologic importance of neovascularization and angiogenic signaling pathways in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol.* 2006; 33(2):174-85
 47. Takahashi N, Kawanishi-Tabata R, Haba A, Tabata M, Haruta Y, Tsai H, Seon BK: Association of serum endoglin with metastasis in patients with colorectal, breast, and other solid tumors, and suppressive effect of chemotherapy on the serum endoglin. *Clin Cancer Res* 2001; 7:524-32
 48. Vacca A, Iurlaro M, Ribatti D, et al.: Antiangiogenesis is produced by nontoxic doses of vinblastine. *Blood.* 1999; 94(12):4143-55.
 49. 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(4):395-404.
 50. Wolowiec D, Wozniak Z, Potoczek S, Ganczarski G, Wrobel T, Kuliczowski K, Frydecka I et al. Bone marrow angiogenesis and proliferation in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Anal Quant Cytol Histol.* 2004;26(5):263-70.

8. Publikace a přednášky autora

8.1 Publikace k tématu dizertační práce

8.1.1 Původní práce

1. Smolej L. Význam sérového solubilního endoglinu u nemocných s chronickou B-lymfocytární leukémií. In: Nové výzkumné směry v doktorandských pracích lékařských fakult. Hradec Králové: Astraprint 2004, 165-9
2. Smolej L., Maisnar V., Andrys C., Pour L., Malý J. Plasma concentrations of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in lymphoproliferative disorders. *Acta Medica (Hradec Králové)*, 2005; 48 (1): 57-8
3. Smolej L., Andrys C., Pekova S., Schwarz J., Zak P., Belada D. 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(10): 1432-1433. **IF=5,032**
4. Smolej L., Andrys C., Belada D., Maisnar V., Žák P., Široký O., Malý J. Plazmatické koncentrace solubilního endoglinu u nemocných s lymfoidními malignitami. *Trans. Hemat. dnes* 2006; 12(1): 37-39.
5. Smolej L., Benesova P. Role of angiogenesis in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2006;107(11):2742-3. **IF=4,800**
6. Kašparová P., **Smolej L.** Angiogenesis in bone marrow. In: *Frontiers in Postgraduate Research, Hradec Králové: Astraprint, 2006, In: New Frontiers in Research of PhD Students, Hradec Králové: Astraprint, 2006, 125-7*
7. Smolej L., Andrys C., Kučerová L., Peková S., Schwarz J., Sobotka J., Kučerová V. Angiogenic cytokines in chronic lymphocytic leukemia: association with classical and modern prognostic factors. In: *New Frontiers in Research of PhD Students, Hradec Králové: Astraprint, 2006, 163-6.*
8. Kašparová P., **Smolej L.** Angiogeneze v kostní dřeni u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií. *Čes.-slov. Patol.* 2007; 43(2):50-58
9. Smolej L., Andrys C., Vroblova V. Modern prognostic factors and angiogenesis in chronic lymphocytic leukemia: More data needed. *Leuk Res.* 2007;31(12):1763-4. **IF=2,483**
10. Smolej L., Andrys C., Krejsek J., Belada D., Žák P., Široký O., Malý J. Bazický fibroblastový růstový faktor (bFGF) a cévní endotelový růstový faktor (VEGF) jsou zvýšeny v plazmě periferní krve nemocných s chronickou lymfocytární leukémií a klesají po intenzivní léčbě obsahující fludarabin. *Vnitř Lék* 2007;53(11):1171-6.
11. Smolej L., Andrys C., Belada D., Hrudková M., Krejsek J., Malý J. Plazmatické koncentrace solubilního endoglinu mají prognostický význam u nemocných s chronickou lymfocytární leukémií. *Trans Hemat dnes, přijato k publikaci.*

8.1.2 Přehledové články

1. Pour L., Hájek R., Büchler T., Maisnar V., **Smolej L.** Angiogeneze a antiangiogenní terapie u nádorů. *Vnitř Lék* 2004; 50(12):930-8.
2. Smolej L. Angiogeneze a malignity. In: *Seminář z vnitřního lékařství XXII, Hradec Králové: HK Credit, 2005: 9-11.*
3. Smolej L., Žák P., Belada D. Chronická B-lymfocytární leukémie. In: *Seminář z vnitřního lékařství XXV, Hradec Králové: HK Credit, 2005: 12-17*
4. Smolej L., Benešová P. Význam angiogeneze u maligních nádorů. *Acta Medica (Hradec Králové) Suppl* 2005; 48(2):69-72
5. Smolej L., Žák P., Belada D., Malý J. Diagnostika a léčba chronické lymfocytární leukémie. *Lék. Zpr. LF UK Hradec Králové* 2007; 52(1):23-34

8.1.3 Ostatní články

1. Smolej L. Problematika apoptózy a angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie. Čas Lék Čes. 2004;143(7): 499.

VIII.1.4 Abstrakta ze zahraničních konferencí

1. Smolej L., Benesova P., Dedic K. et al.: Microvessel density as a marker of angiogenesis in hematological malignancies. Hematol J 2004, 5, Suppl 2, p.249 (abstract 740).
2. Smolej L., Andrys C., Široký O., Belada D., Žák P., Malý J.: Angiogenic activators in B-cell chronic lymphocytic leukemia: association with IgVH mutation status and genetic abnormalities. Leuk Lymphoma 2005; 46 (Suppl 1): S42. **IF=1,559**
3. Smolej L., Andrys C., Zak P., Belada D., Siroky O., Maly J. Basic fibroblast growth factor (bFGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) are elevated in patients with early stage B-cell chronic lymphocytic leukemia. Haematologica 2005 (Suppl 2), 444 (abstract 1152). **IF=5,032**
4. Smolej L., Zak P., Benesova P., Belada D., Hrudkova M., Maly J. Bone Marrow Angiogenesis in Chronic Lymphocytic Leukemia: Relationship to Classical and Modern Prognostic Factors. Blood 2006; 108 (11): 323b (abstract 4943). **IF=10,131**
5. Smolej L., Andrys C., Siroky O., Belada D., Zak P., Hrudkova M., Krejsek J., Maly J.: angiogenic activators in B-cell chronic lymphocytic leukemia: association with IgVH mutation status and genetic abnormalities. Haematologica 2006 (Suppl1);91:498 (abstract 1404) **IF=5,032**
6. Smolej L., Andrys C., Pekova S., Schwarz J., Zak P., Belada D., Krejsek J., Hrudkova M., Maly J.: Association of IgVH mutation status and plasma levels of angiogenic activators in chronic lymphocytic leukaemia: significantly higher bFGF but not VEGF in IgVH mutated patients. Br J Haem 2006;(1):102 (abstract 264) **IF=4,498**
7. Smolej L., Andrys C., Belada D., Pour L., Zak P., Krejsek J., Novosad J., Hrudkova M., Siroky O., Voglova J., Maly J.: Plasma soluble endoglin (sCD105) concentrations in patients with lymphoid malignancies - a pilot study. Br J Haem 2006;(1):104 (abstract 269) **IF=4,498**
8. Smolej L., Kasparova P, Zak P, Belada D. Choice of endothelial marker influences results of bone marrow microvessel density in chronic lymphocytic leukemia. Leuk Lymphoma 2007; 48 (Suppl 1): S111-2 (abstract P 2.33). **IF=1,559**
9. Smolej L, Andrys C, Vroblova V, Novosad J, Belada D, Zak P, Krejsek J, Hrudkova M, Siroky O, Maly J. Association of ZAP-70 expression with plasma levels of angiogenic activators in chronic lymphocytic leukemia. Haematologica 2007; 92 (suppl 1): 250 (abstract 0669). **IF=5,032**
10. Smolej L, Kasparova P, Zak P, Belada D. Choice of endothelial marker is crucial for quantification of bone marrow microvessel density in chronic lymphocytic leukemia. Haematologica 2007; 92 (suppl 1): 400-401 (abstract 1087). **IF=5,032**
11. Smolej L., Andrys C., Hrudkova M. Clinical Significance of Plasma Endostatin in Patients With Chronic Lymphocytic Leukaemia. Br J Haematol 2007; 137 (Suppl 1): 59 (abstract 175). **IF=4,498**
12. Smolej L., Novosad J., Vroblova V., Krejsek J., Andrys C. Relationship of ZAP-70 Expression and Circulating Angiogenic Cytokines in Chronic Lymphocytic Leukaemia. Br J Haematol 2007; 137 (Suppl 1): 59 (abstract 176). **IF=4,498**
13. Smolej L., Kasparova P. Bone Marrow Microvessel Density in Chronic Lymphocytic Leukaemia: Association With Prognostic Factors. Br J Haematol 2007 137 (Suppl 1): 43 (abstract 129). **IF=4,498**

8.1.5 Abstrakta z tuzemských konferencí

1. Smolej, L., Benešová, P., Maisnar, V., Dědič, K., Malý, J.: Hodnocení angiogeneze u hematologických malignit imunohistochemickým vyšetřením preparátů z trepanobiopsie kostní dřene - naše první zkušenosti. Česko-slovenské dny laboratorní hematologie s mezinárodní účastí, Hradec Králové, 28.-29.11.2002
2. Smolej L., Andrýs C., Pour L.: Plasma concentrations of angiogenic activators in chronic lymphocytic leukemia, multiple myeloma, and non-Hodgkin's lymphoma: results of a pilot study. Scripta Medica (Brno) 2004; 77 (5-6): 308.
3. Smolej L., Andrýs C., Pour L., Maisnar V., Belada D., Široký O., Žák P., Voglová J., Malý J.: Plazmatické koncentrace angiogenních aktivátorů u lymfoproliferativních nemocnění. In: XVIII. Olomoucké hematologické dny, Rubico, Olomouc 2004, 70-71.
4. Smolej, L., Bone, N., Arendt, B., Abraham, R., Kay, N., Jelínek, D.: Solubilní endoglin je zvýšen u nemocných s chronickou B-lymfocytární leukémií. In: Pecka M., Malý J.: Laboratorní hematologie, HK Credit, Hradec Králové, 2004, 73.
5. Smolej L., Andrýs C., Žák P., Krejsek J., Malý J. Angiogenní faktory bFGF, VEGF a sCD105 jsou zvýšeny u chronické B-lymfocytární leukémie. In: Žaloudík J., Vyzula R.: Edukační sborník XXIX. Brněnských onkologických dnů, Masarykův onkologický ústav 2005, 261.
6. Smolej L.: Ukazatele angiogeneze u hematologických malignit. In: Soukup T., Mokřý J.: 1.morfologický postgraduální kurz, Lékařská fakulta UK Hradec Králové, 2005, 35.
7. Smolej L., Andrýs C., Maisnar V. et al.: Significance Of Plasma Soluble Endoglin In Patients With Lymphoid Malignancies: A Pilot Study. In Petera J., Odrážka K.: Radiační onkologie 2005, Klinika onkologie a radioterapie FN HK, 144.
8. Smolej L., Andrýs C., Žák P., Belada D., Široký O., Malý J.: Angiogenní aktivátory jsou zvýšeny u chronické B-lymfocytární leukémie. In: XIX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 2005. Sborník abstrakt, 102 (P56).
9. Smolej L., Andrýs C., Žák P., Belada D., Široký O., Krejsek J., Malý J.: Angiogenní cytokiny u chronické B-lymfocytární leukémie: souvislost s moderními prognostickými faktory. In: Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie 2005, Olomouc. Sborník abstrakt, 43.
10. Smolej L., Andrýs C., Benešová P., Vokurková D., Belada D., Žák P., Hrudková M., Krejsek J., Novosad J., Široký O., Malý J. Komplexní hodnocení angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie. In: Žaloudík J., Vyzula R. (eds.): XXX. brněnské onkologické dny, Brno: MOÚ Brno, 2006: 298 (abstrakt 211).
11. Smolej L., Belada D., Žák P. Monoklonální protilátky v léčbě chronické lymfocytární leukémie. In: Žaloudík J., Vyzula R. (eds.): XXX. brněnské onkologické dny, Brno: MOÚ Brno, 2006: 93 (abstrakt 50).
12. Smolej L., Andrýs C., Žák P., Belada D., Široký O., Hrudková M., Novosad J., Krejsek J., Malý J.: Angiogenní cytokiny u chronické B-lymfocytární leukémie: souvislost s moderními prognostickými faktory. In Petera J., Odrážka K.: Radiační onkologie 2006, Hradec Králové: Klinika onkologie a radioterapie Fakultní nemocnice Hradec Králové, 2006: 247-8.
13. Smolej L., Andrýs C., Kašparová P., Vokurková D., Belada D., Žák P., Hrudková M., Krejsek J., Široký O., Malý J. Komplexní hodnocení angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie: mikrovaskulární denzita, angiogenní cytokiny a cirkulující mikropartikule. In: Pecka M., Malý J. Laboratorní hematologie 2006. Hradec Králové: HK Credit, 2006: 145
14. Smolej L., Andrýs C., Peková S., Schwarz J., Žák P., Belada D., Krejsek J., Hrudková M., Malý J. Chronic lymphocytic leukemia patients with mutated IgVH genes have significantly higher plasma levels of basic fibroblast factor but not vascular endothelial growth factor. In: XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.-2.6.2006, Olomouc: Rubico 2006, 78 (abstrakt 621).
15. Smolej L., Benešová P. Bone marrow microvessel density in chronic lymphocytic leukemia

- is significantly elevated but not associated with pattern of infiltration. In: XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.-2.6.2006, Olomouc: Rubico 2006, 107-8 (abstrakt 622).
16. Smolej L., Krejsek J., Andrýs C., Benešová P., Belada D., Žák P., Hrudková M., Novosad J. Angiogenesis in chronic lymphocytic leukemia: association with modern prognostic factors. *Acta Medica (Hradec Králové)* 2006; 49(2):152
 17. Benešová P., **Smolej L.** Bone marrow microvessel density in chronic lymphocytic leukemia is significantly elevated but not associated with pattern of infiltration. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2006; 150 (Suppl.1):33
 18. Smolej L., Hrudková M., Andrýs C., Peková S., Schwarz J., Žák P., Belada D., Krejsek J., Malý J.: Association of IgVH mutation status and plasma levels of angiogenic activators in chronic lymphocytic leukaemia: significantly higher bFGF but not VEGF in IgVH mutated patients. In: II. dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie 7.-9.12.2006, sborník abstrakt, Olomouc: Solen, 2006: 48
 19. Smolej L., Hrudková M., Andrýs C., Belada D., Pour L., Žák P., Krejsek J., Novosad J., Malý J.: Plasma soluble endoglin (sCD105) concentrations in patients with lymphoid malignancies - a pilot study. In: II. dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie 7.-9.12.2006, sborník abstrakt, Olomouc: Solen, 2006: 48
 20. Smolej L., Hrudková M., Andrýs C., Kašparová P., Vokurková D., Belada D., Žák P., Krejsek J., Novosad J., Malý J. Komplexní hodnocení angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie. In: II. dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie 7.-9.12.2006, sborník abstrakt, Olomouc: Solen, 2006: 48-9
 21. Smolej L, Andrýs C, Vroblova V, Novosad J, Belada D, Zak P, Krejsek J, Hrudkova M, Siroky O, Malý J. Correlation of ZAP-70 expression with angiogenic cytokines in chronic lymphocytic leukemia. In: XXI Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí. Sborník abstrakt, Olomouc: Rubico 2007, 86 (abstrakt P41).
 22. Smolej L, Andrýs C, Kašparová P. Prognostický význam angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie. In: XXI Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí. Sborník abstrakt, Olomouc: Rubico 2007, 31 (abstrakt 1107).
 23. Smolej L., Andrýs C., Benešová P., Hrudková M., Krejsek J., Malý J. Angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie. In: Žaloudík J, Vyzula R (eds.): Edukační sborník XXXI. Brněnských onkologických dnů, Brno: Masarykův onkologický ústav, 185.
 24. Smolej L., Krejsek J., Andrýs C., Kašparová P., Žák P., Hrudková M., Novosad J., Vroblová V. Plasma levels of angiogenic factors and microvessel density in chronic lymphocytic leukaemia. *Acta Medica (Hradec Králové)* 2007;50 (1): 85
 25. Smolej L, Andrýs C, Vroblova V, Novosad J, Belada D, Zak P, Krejsek J, Hrudkova M, Siroky O, Malý J. Correlation of ZAP-70 expression with angiogenic cytokines in chronic lymphocytic leukemia. In: XXI Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí. Sborník abstrakt, Olomouc: Rubico 2007, 86 (abstrakt P41).
 26. Smolej L, Andrýs C, Kašparová P. Prognostický význam angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie. In: XXI Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí. Sborník abstrakt, Olomouc: Rubico 2007, 31 (abstrakt 1107).

8.1.6 Přednášky

1. Smolej, L., Maisnar V., Malý J. Význam sledování angiogeneze u hematologických malignit. XVI. Olomoucké hematologické dny, 24.-25.5.2002
2. Smolej L., Maisnar V., Malý J. Angiogeneze u hematologických malignit a možnosti jejího sledování. IX. konference mladých lékařů, Brno, 12.6.2002
3. Smolej L., Benešová P., Maisnar V., Dědič K., Malý J.: Hodnocení angiogeneze u hematologických malignit. Seminář OKH FN HK, Hradec Králové, 15.4.2003
4. Smolej L.: Nové metodiky diagnostiky a léčby hematologických malignit. Pracovní dny SZP,

- Sedmihorky, 11.-13.5.2003
5. Smolej L.: Novinky v diagnostice a terapii chronické lymfocytární leukémie. Seminář kliniky onkologie a radioterapie FN HK, 9.2.2004
 6. Smolej L.: Význam cytogenetických změn a mutačního stavu IgVH pro prognózu chronické lymfocytární leukémie. Regionální hematologický seminář, Albeřice 21.4.2004
 7. Smolej L.: Angiogeneze jako diagnostický a léčební cíl u hematologických malignit. Pracovní dny SZP, Sedmihorky, 9.-11.5.2004
 8. Smolej L., Andrys C., Pour L.: Plazmatické koncentrace angiogenních aktivátorů u chronické lymfocytární leukémie, ne-Hodgkinova lymfomu a mnohočetného myelomu: výsledky pilotní studie. 10.konference mladých lékařů, Brno, 23.6.2004
 9. Smolej L.: The Role of Endoglin in B-cell Chronic Lymphocytic Leukemia. Immunology Laboratory Meeting, Mayo Clinic, Rochester, MN, 17.11.2004
 10. Smolej L.: Význam sérového solubilního endoglinu u nemocných s chronickou B-lymfocytární leukémií. Královéhradecké lékařské postgraduální dny, Hradec Králové, 16.-17.12.2004
 11. Smolej L.: Endoglin a CLL – nový prognostický faktor? Seminář Oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové, 19.1.2005
 12. Smolej L.: Angiogeneze a malignity. Program soustavného vzdělávání ve vnitřním lékařství, 46.kurz, Fakultní nemocnice Hradec Králové, 10.2.2005
 13. Smolej L.: Ukazatele angiogeneze u hematologických malignit. I.morfologický postgraduální kurz, Lékařská fakulta UK Hradec Králové, 15.2.2005
 14. Smolej L.: Budoucí prognostické faktory u B-CLL. Schůze české skupiny pro CLL, OKH FN Hradec Králové, 4.3.2005
 15. Smolej L.: Význam angiogeneze v diagnostice a léčbě malignit. Seminář kliniky onkologie a radioterapie FN Hradec Králové, 6.4.2005
 16. Smolej L., Žák P., Belada D.: Chronická B-lymfocytární leukémie. Program soustavného vzdělávání ve vnitřním lékařství, 49.kurz, Fakultní nemocnice Hradec Králové, 12.5.2005
 17. Smolej L., Andrys C., Žák P., Belada D., Široký O., Malý J.: Angiogenní aktivátory jsou zvýšeny u chronické B-lymfocytární leukémie. In: Olomoucké hematologické dny, Olomouc, 15.-18.6.2005
 18. Smolej L.: Angiogeneze a antiangiogenní léčba u malignit. 55. česko-slovenské farmakologické dny, 31.8.-2.9.2005
 19. Smolej L.: Angiogeneze u hematologických malignit. Slavnostní seminář II.interní kliniky LF UK a FN Hradec Králové k 80. narozeninám prof. Mazáka, 21.9.2005
 20. Smolej L.: Význam angiogeneze u chronické B-lymfocytární leukémie. Den o leukemiích, FN Brno, 2.11.2005
 21. Smolej L.: Angiogenic cytokines in chronic lymphocytic leukemia: association with classical and modern prognostic factors. 2nd International Postgraduate Conference, Hradec Králové, 1.12.2006
 22. Smolej L.: Angiogenic cytokines in chronic lymphocytic leukemia: association with classical and modern prognostic factors. II. fakultní konference studentů doktorského studia, Hradec Králové, 24. 10. 2006
 23. Smolej L.: Angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie. XXXI. Brněnské onkologické dny, 24.5.2007
 24. Smolej L.: Prognostický význam angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie XXI. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 15.6.2007

8.2 Ostatní publikace

8.2.1 Monografie

1. Belada D., Trněný M., Janíková A, Kozák T., Král T., Kubáčková K., Marková J., Mayer J., Papajík T., Procházka V., Pytlík R., **Smolej L.**, Tomiška M., Vášová I., Žák P., Bučková H, Jabali Y., Kabičková E., Štěrba J.: Diagnostické a léčebné postupy u nemocných s maligními lymfomy. Hradec Králové: Nucleus HK, 2007, 3.vyd.

8.2.2 Původní práce

1. Sýkorová A., Belada D., Maisnar V., Voglová J., Žák P., **Smolej L.**, Bukač J., Malý J. Výsledky léčby Hodgkinova lymfomu se zaměřením na léčbu relapsů a primárně progresivních onemocnění. Trans. Hemat. dnes 2005; 11 (2): 40-6.
2. Pintérová Kolesárová M, Kopáčová M, Tyčová V, Belada D, **Smolej L.**, Krejsek J, Pintér M, Rejchrt S, Bureš J. Unusual endoscopic appearance of B-cell lymphoma of the small bowel in a patient with Crohn's disease: a case report. Folia Gastroenterol Hepatol 2005; 3 (3): 104 – 109.
3. Belada D, **Smolej L.**, Štěpánková P, Beránek M, Dvořáková D, Bukač J, Malý J. Dosažení Bcl-2/IgH negativity v periferní krvi/kostní dřeni po léčbě je u nemocných s folikulárním lymfomem spojeno s lepší prognózou onemocnění. Vnitř Lék. 2007;53(10):1057-63.
4. Belada D, **Smolej L.**, Hrudková M, Štěpánková P, Sýkorová A, Žák P, Bukač J, Malý J. Addition of rituximab significantly improves outcomes in patients with diffuse large B-cell lymphoma - a single-center, retrospective study. Acta Medica (Hradec Kralove). 2007;50(2):113-8.
5. Peková S, Bezdičková L, **Smolej L.**, Kozák T, Hochová I, Žák P, Tomšíková L, Průcha M. Quantitation of minimal residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia using locked nucleic acid-modified, fluorescently labeled hybridization probes and real-time PCR technology. Mol Diagn Ther. 2007;11(5):325-35.
6. Maisnar V., Tichy M., **Smolej L.**, Zak P., Radocha J., Palicka V., Mały J., Blaha V. Isotype class switching after transplantation in multiple myeloma. Neoplasma. 2007;54:225–8. **IF=1,247**
7. Belada D., **Smolej L.**, Beránek M., Dvořáková D., Bukač J., Malý J. Molekulárně genetická Bcl-2/IgH pozitivita v kostní dřeni a/nebo v periferní krvi u nemocných s folikulárním lymfomem před léčbou neovlivňuje prognózu onemocnění. Lék. Zpr. LF UK Hradec Králové 2007;52(1):35–45
8. Pekova S, Cmejla R, **Smolej L.**, Kozak T, Spacek M, Prucha M. Identification of a novel, transactivation-defective splicing variant of p53 gene in patients with chronic lymphocytic leukemia. Leuk Res, ePub 2.8.2007. **IF=2,483**
9. Blaha M, Cermanova M, Blaha V, Jarolim P, Andrys C, Blazek M, Maly J, **Smolej L.**, Zajic J, Masin V, Zimova R, Rehacek V. Elevated serum soluble endoglin (sCD105) decreased during extracorporeal elimination therapy for familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis, ePub 29.5.2007. **IF=3,777**

8.2.3 Přehledové práce

1. Hrudková M., Fiala Z., Borská L., Novosad J., **Smolej L.** Účinky polycyklických aromatických uhlovodíků na kostní dřeň. Acta Medica (Hradec Králové) Supplementum 2004; 47(2):75-81
2. Malý J., Pecka M., Dulíček P., Blažek M., **Smolej L.** Antiagregační léky a jejich použití. In: Seminář z vnitřního lékařství XXIII, Hradec Králové: HK Credit, 2005: 26-32.

3. Malý J., Dulíček P., Pecka M., Blažek M., **Smolej L.** Léčba a prevence plicní embolie v roce 2005. In: Seminář z vnitřního lékařství XXVII, Hradec Králové: HK Credit 2005, 4-9.
4. Malý J., Pecka M., Dulíček P., Blažek M., **Smolej L.** Protidestičková léčba. Vnitř Lék 2005; 51 (7-8): 31-2.
5. Smolej L., Saudková L., Špaček M., Kozák T. ZAP-70 u chronické B-lymfocytární leukémie: klinický význam a metody detekce. Vnitř Lék 2006; 52(12): 1194-9
6. Belada D., **Smolej L.**, Beránek M., Malý J. Charakteristika translokace t(14;18) (q32;q21) u nemocných s folikulárním B-nehodgkinským lymfomem a možnosti její detekce. Lék. Zpr. LF UK Hradec Králové 2006; 51(4):271–280
7. Hrudková M., Žák P., Maisnar V., **Smolej L.**, Belada D., Malý J. Rychlé navození kompletní remise alemtuzumabem u nemocné s refrakterním Sézaryho syndromem (přehledný referát s úvodní kazuistikou). Lék. Zpr. LF UK Hradec Králové 2007;52(3):157–166

8.2.4 Ostatní publikace

1. Smolej L. Kombinační režim fludarabin + cyklofosfamid u chronické B-lymfocytární leukémie. Vnitř Lék 2005; 51 (9): 31-2.
2. Smolej L. 46th Annual Scientific Meeting of British Society of Haematology, 3.–5.4.2006, Edinburgh: novinky v léčbě chronické lymfocytární leukémie v I.linii. Trans. Hemat. dnes 2006; 12(2): 123
3. Smolej L. Farmakoekonomika v onkologii třetího tisíciletí. Farmakoekonomika 2006;2:45
4. Smolej L. The prognostic role of CLLU1 in chronic lymphocytic leukaemia. Eur J Haematol 2006; 77: 177. **IF=2,004**
5. Smolej L. Why R-CHOP for first line treatment of chronic lymphocytic leukemia? Int J Lab Hematol. 2007;29(6):478-9. **IF=0,921**
6. Smolej L. Diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukaemia: practical remarks. Arch Med Sci 2007; 3,4: 407-8
7. Smolej L. Fludarabine-induced autoimmune hemolytic anemia in a CLL patient: Rituximab as the treatment of choice? Leuk Res 2007; 31(2):267. **IF=2,483**
8. Smolej L., Vroblova V., Novosad J. Expression of ZAP-70 in patients with chronic lymphocytic leukemia may change significantly during the course of the disease. Int J Lab Hematol, online early 31.8.2007. **IF=0,921**
9. Smolej L. Efficacy of pneumococcal vaccination in chronic lymphocytic leukemia: should we rely on surrogate markers? Vaccine 2008, přijato k publikaci. **IF=3,159**

8.2.5 Abstrakta ze zahraničních konferencí

1. Smolej L, Maisnar V, Maly J. Pulmonary involvement in multiple myeloma. Hematol J 2004;5 (Suppl 2):277 (abstract 831).
2. Sykorova A, Belada D, Maisnar V, Voglova J, Zak P, **Smolej L**, Siroky O, Maly J: Retrospective analysis of primary progressive Hodgkin's disease in 1996-2004. Haematologica 2005; 90 (Suppl 2), 413 (abstract 1064). **IF=5,032**
3. Pour L, Kren L, Hajek R, Adam Z, Krejci M, **Smolej L**, Vorlicek J. Microvascular density in multiple myeloma – influence on prognosis. Haematologica 2005; 90 (Suppl 2), 434 (abstract 1123). **IF=5,032**
4. Smolej L., Belada D., Zak P., Maisnar V., Maly J. Oral fludarabine and cyclophosphamide plus rituximab (FCR) is a safe and effective salvage treatment of patients with relapsed / refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia or follicular lymphoma. Haematologica 2005 (Suppl 2), 444 (abstract 1151). **IF=5,032**
5. Belada D., Zak P., Sykorova A., Zavrelouva A., **Smolej L.**, Maly J. Rituximab improves outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma. A single centre retrospective study.

- Haematologica 2005 (Suppl 2), 99 (abstract 0249). **IF=5,032**
6. Belada D, Zak P, Sykorova A, Zavrelova A, **Smolej L**, Maly J: Rituximab improves outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) – single center retrospective study. *Ann Oncol* 2005; 16 (Suppl 5): 178 (abstract 483). **IF=3,605**
 7. Smolej L., Belada D. Perorální fludarabin a cyklofosfamid v kombinaci s rituximabem (FCR) jako záchranná léčba refrakterní a relabující chronické B-lymfocytární leukémie a folikulárního lymfomu. *Vnitř Lék* 2005; 51: 605
 8. Maisnar V., Tichy M., **Smolej L.**, Zak P., Palicka V., Maly J., Blaha V. Isotype class switching after transplantation in multiple myeloma. *Bone Marrow Transpl*, 2005: 35 (Suppl 2): 247. **IF=2,101**
 9. Belada D., **Smolej L.**, Žák P., Sýkorová A., Bukač J., Malý J.: Addition of rituximab significantly improves outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma. XIV. Slovensko-český hematologický a transfuziologický sjezd s mezinárodní účastí, 29.9.-2.10.2005, Štrbské Pleso, Vysoké Tatry, Slovensko, sborník abstrakt, 21 (abstrakt 54).
 10. Pour L., Hájek R., **Smolej L.**, Krejčí M., Křen L., Adam Z., Vorlíček J.: Angiogeneze u mnohočetného myelomu. XIV. Slovensko-český hematologický a transfuziologický sjezd s mezinárodní účastí, 29.9.-2.10.2005, Štrbské Pleso, Vysoké Tatry, Slovensko, sborník abstrakt, 8 (abstrakt 17).
 11. Pazlarová J., Daňová V., Kopecká I., **Smolej L.**, Pecka M.: Infiltrace kostní dřenež solidním nádorem – soubor cytologických nálezů. XIV. Slovensko-český hematologický a transfuziologický sjezd s mezinárodní účastí, 29.9.-2.10.2005, Štrbské Pleso, Vysoké Tatry, Slovensko, sborník abstrakt, 34 (abstrakt 88).
 12. Pekova S., Saudkova L., **Smolej L.**, Kozak T. Quantitation of minimal residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia using LNA-modified fluorescently labeled probes and Real-Time PCR technology. *Blood* 2006; 108 (11): 600a (abstract 2331). **IF=10,131**
 13. Smolej L., Voglová J., Andrys C. Angiogenic activators in peripheral blood plasma of patients with chronic myeloid leukemia: impact of treatment with imatinib mesylate. *Haematologica* 2006 (Suppl1); 91:251 (abstract 0682) **IF=5,032**
 14. Smolej L., Andrys C., Vokurkova D., Kakrdova D., Novosad J., Hrudkova M., Krejsek J. Endothelial microparticles and markers of copper metabolism as novel indicators of angiogenesis in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2006 (Suppl1); 91:401 abstract 1098) **IF=5,032**
 15. Peková S., Saudková L., **Smolej L.**, Kozák T. Quantitation of minimal residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia using LNA-modified fluorescently labeled probes and Real-Time PCR technology. *Haematologica* 2006 (Suppl 1); 91:101 (abstract 0271) **IF=5,032**
 16. Smolej L, Voglova J, Beranek M, Andrys C. Imatinib mesylate significantly decreases plasma levels of vascular endothelial growth factor and soluble endoglin but not basic fibroblast factor in patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica* 2007; (Suppl 1): **IF=5,032**
 17. Smolej L, Hrudková M., Peková S., Schwarz J., Kučerová M., Sobotka J, Holubová V, Belada D, Žák P, Široký O., Malý J. Combination of IgVH mutational status and genetic abnormalities may further refine prognostic stratification in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2007; 92 (suppl 1); 45 (abstract 0125). **IF=5,032**
 18. Vrbacky F, **Smolej L**, Pazlarova J. Angiopoietin-2 mRNA detected by real-time quantitative PCR is differentially expressed in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2007; 92 (suppl 1): 529-30 (abstract 1487). **IF=5,032**
 19. Belada D, **Smolej L**, Beranek M, Dvorakova D, Stepankova P, Bukac J, Maly J. Bone marrow/peripheral blood positivity of bcl-2/IgH rearrangement in patients with follicular lymphoma before treatment has no prognostic significance. *Haematologica* 2007; 92 (suppl 1): 517 (abstract 1449). **IF=5,032**

20. Belada D, **Smolej L**, Beranek M, Dvorakova D, Stepankova P, Bukac J, Maly J. Achievement of bcl-2/IgH negativity in bone marrow/peripheral blood is associated with better clinical outcome in patients with follicular lymphoma. *Haematologica* 2007; 92 (suppl 1): 533-4 (abstract 1501). **IF=5,032**
21. Hrudkova M, **Smolej L**, Pekova S, Schwarz J, Kucerova M, Sobotka J, Holubova V, Belada D, Zak P, Siroky O, Maly J. Combination of IgVH mutational status and genetic abnormalities may further refine prognostic stratification in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2007; 48 (Suppl 1): S83 (abstract P 1.56) **IF=1,559**
22. Hrudkova M, **Smolej L**, Belada D, Zak P, Maly J. Oral fludarabine and cyclophosphamide in combination with rituximab (FCR) is safe and effective in chronic lymphocytic leukemia patients with unfavourable prognostic factors. *Leuk Lymphoma* 2007; 48 (Suppl 1): S180-1 (abstract P 6.14) **IF=1,559**

8.2.6 Abstrakta z tuzemských konferencí

1. Smolej L., Maisnar V., Žák P., Voglová J., Malý J.: Sekundární akutní megakaryocytární leukémie. XVII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 4.6.-7.6. 2003. Sborník abstrakt.
2. Smolej L., Maisnar V.: Mnohočetný myelom s plicním postižením. Soubor 4 kazuistik. XVII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 4.6.-7.6. 2003. Sborník abstrakt.
3. Smolej L. Agresivní B-difúzní velkobuněčný Ne Hodgkinův lymfom s infiltrací kůže, progresí v CNS a leukemizací. XVII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 4.6.-7.6. 2003. Sborník abstrakt.
4. Smolej L., Maisnar V., Dostál V., Plíšek, Hons J., Slabá L., Malý J.: Listeriová meningitis u nemocného s mnohočetným myelomem. In: XVIII. Olomoucké hematologické dny, Rubico, Olomouc 2004, 77.
5. Smolej L., Žák P., Belada D., Maisnar V., Voglová J., Dulíček P., Malý J.: Alemtuzumab v léčbě refrakterní a relabující chronické lymfocytární leukémie. Zkušenosti jednoho centra. In: XVIII. Olomoucké hematologické dny, Rubico, Olomouc 2004, 67.
6. Smolej L., Daňová, V., Dwyterová, A., Pavlíková, Z., Maisnar, V., Pecka, M., Malý, J.: Infiltrace kostní dřeně solidním nádorem - soubor cytologických nálezů. In: Pecka M., Malý J.: Laboratorní hematologie, HK Credit, Hradec Králové, 2004. 114.
7. Smolej L., Andrýs C., Pour L., Žák P., Belada D., Maisnar V., Hrudková M., Novosad J., Široký O., Krejsek J., Voglová J., Malý J.: Plasma concentrations of angiogenic activators VEGF and bFGF in patients with multiple myeloma, follicular lymphoma, diffuse large B-cell lymphoma, and chronic myeloid leukemia. In: Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, 9.-10.12.2005, Olomouc. Sborník abstrakt. 47-8.
8. Holubová V., Sobotka J., **Smolej L.**, Brejcha M., Gumulec J., Žák P., Belada D., Blahutová Š., Fenclová Z., Heinzová V., Kunčar J., Kvardová A., Lakomá L., Laská J., Leníčková, Stejskal L., Wróbel M., Živná J., Radina M.: Prognosticky významné chromozómové aberace u pacientů s B-CLL identifikované metodou I-FISH. In: XIX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí. Sborník abstrakt, 102 (P56).
9. Smolej L., Belada D., Malý J.: Perorální fludarabin a cyklofosfamid v kombinaci s rituximabem (FCR) v léčbě refrakterní a relabující chronické B-lymfocytární leukémie a folikulárního lymfomu – první zkušenosti. In: XIX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 15.-18.6.2005. Sborník abstrakt, 101 (P54).
10. Pour L., **Smolej L.**, Andrýs C., Hájek R., Maisnar V., Penka M.: Plazmatické koncentrace angienních faktorů u nemocných s nově diagnostikovaným mnohočetným myelomem. In: XIX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 15.-18.6.2005. Sborník abstrakt, 40-1 (P80).
11. Pour L., **Smolej L.**, Krejčí M., Adam Z., Hájek R., Křen L., Vorlíček J.: Hodnocení

- microvaskulární density u mnohočetného myelomu a její vliv na prognosu onemocnění. In: XIX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 15.-18.6.2005. Sborník abstrakt, 41 (P80).
12. Kozák T., Mayer J., **Smolej L.**, Erbenová O., Jarošová M., Papajík T., Schwarz J., Trbušek M., Trněný M., Peková : Zpráva o České skupině pro chronickou lymfatickou leukémii (ČSCLL). In: XIX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 15.-18.6.2005. Sborník abstrakt, 102 (P56).
 13. Vokurková D., Kudlová M., **Smolej L.**, Borská L., Pudil R., Bláha M., Filip S., Hamáková J., Řeháček V., Fiala Z., Vojáček J. Sledování cirkulujících endotelových mikropartikulí v periferní krvi jako marker aktivního onemocnění. *Alergie* 2006; 8(S2): 103-104.
 14. Smolej L., Belada D., Žák P. Monoklonální protilátky v léčbě chronické lymfocytární leukémie. In: Žaloudík J., Vyzula R. (eds.): XXX. brněnské onkologické dny, Brno: MOÚ Brno, 2006: 93 (abstrakt 50).
 15. Maisnar V., Tichý M., **Smolej L.**, Kmoníček M., Žák P., Jebavý L., Palička V., Malý J. Změna typu paraproteinu po transplantační léčbě mnohočetného myelomu. In: XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.-2.6.2006, Olomouc: Rubico 2006, 44 (abstrakt 556).
 16. Peková S., Saudková L., **Smolej L.**, Kozák T. Quantitation of minimal residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia using LNA-modified fluorescently labeled probes and Real-Time PCR technology. In: XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.-2.6.2006, Olomouc: Rubico 2006, 62 (abstrakt 634).
 17. Kozák T., Mayer J., Erbenová O., Jarošová M., Papajík T., Peková S., Schwarz J., **Smolej L.**, Trbušek M., Trněný M. Stanovení laboratorních prognostických faktorů u chronické lymfocytární leukémie: harmonizační studie České skupiny pro CLL. In: XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.-2.6.2006, Olomouc: Rubico 2006, 63 (abstrakt 624).
 18. Hrudková M., Žák P., Malý J., **Smolej L.** Alemtuzumab v léčbě B-chronické lymfocytární leukémie – zkušenosti jednoho centra. In: XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.-2.6.2006, Olomouc: Rubico 2006, 76 (abstrakt 739).
 19. Smolej L., Belada D., Žák P., Malý J. Perorální fludarabin a cyklofosfamid + rituximab (FCR) v léčbě chronické lymfocytární leukémie. In: XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.-2.6.2006, Olomouc: Rubico 2006, 80 (abstrakt 637).
 20. Belada D., **Smolej L.**, Žák P., Malý J. Výsledky léčby nemocných s relabujícím folikulárním lymfomem pomocí režimu R-COP. In: XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.-2.6.2006, Olomouc: Rubico 2006, 86 (abstrakt 645).
 21. Smolej L., Vokurková D., Andrýs C., Krejsek J. Markers of copper metabolism and endothelial microparticles used as indicators of angiogenesis in chronic lymphocytic leukemia: a pilot study. In: XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.-2.6.2006, Olomouc: Rubico 2006, 106 (abstrakt 854).
 22. Smolej L., Pour L., Andrýs C., Benešová P., Maisnar V., Hájek R., Penka M. Plasma concentrations of angiogenic factors and microvascular density in patients with multiple myeloma. *Acta Medica (Hradec Králové)* 2006; 49(2):152
 23. Smolej L., Voglová J., Andrýs C.: Angiogenní faktory u chronické myeloidní leukémie. *Lék Zpr* 2006; 51 (2):192-4
 24. Smolej L., Voglová J., Andrýs C. Plasma levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF) and soluble endoglin (sCD105) in patients with chronic myeloid leukemia: impact of treatment with imatinib mesylate. In: Pecka M., Malý J. *Laboratorní hematologie 2006*. Hradec Králové: HK Credit, 2006: 144
 25. Bláha M., Cernanová M., Bláha V., Karolín P., Andrýs C., Blažek M., Malý J., **Smolej L.**, Procházková R., Zajíc J., Zimová R. Endoglin – a promising laboratory marker for evaluation of decrease in atherosclerosis activity. In: Pecka M., Malý J. *Laboratorní hematologie 2006*. Hradec Králové: HK Credit, 2006: 102

26. Pour L., **Smolej L.**, Hájek R., Maisnar V., Adam Z., Krejčí M., Penka M. Stanovení angiogenetického profilu ve dřeni a periferní krvi u pacientů s mnohočetným myelomem. In: Pecka M., Malý J. Laboratorní hematologie 2006. Hradec Králové: HK Credit, 2006: 67. Smolej L., Voglová J., Andrys C. Plasma levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF) and soluble endoglin (sCD105) in patients with chronic myeloid leukemia: impact of treatment with imatinib mesylate. In: Žaloudík J, Vyzula R (eds.): Edukační sborník XXXI. Brněnských onkologických dnů, Brno: Masarykův onkologický ústav 2007, 185-6.
27. Smolej L, Voglova J, Andrys C. Imatinib mesylate significantly decreases plasma levels of vascular endothelial growth factor and soluble endoglin but not basic fibroblast growth factor in patients with chronic myeloid leukemia. In: XXI Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí. Sborník abstrakt, Olomouc: Rubico 2007, 97-8 (abstrakt P64).
28. Hrudková M, **Smolej L.**, Belada D, Žák P, Malý J. Léčba chronické lymfocytární leukémie režimem FCR (perorální fludarabin a cyklofosfamid + rituximab) – zkušenosti jednoho centra. In: XXI Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí. Sborník abstrakt, Olomouc: Rubico 2007, 85-6 (abstrakt P40).
29. Vrbacký F, **Smolej L.**, Malý J, Pazlarová J, Pecka M. Rozdílná exprese mRNA pro angiopoietin-2 u pacientů s chronickou lymfatickou leukémií. In: XXI Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí. Sborník abstrakt, Olomouc: Rubico 2007, 86-7 (abstrakt P42).
30. Belada D, Bukač J, Dvořáková D, Beránek M, Štěpánková P, **Smolej L.**, Malý J. Vymizení Bcl-2/IgH pozitivitu v periferní krvi/kostní dřeni po léčbě je u nemocných s folikulárním lymfomem spojeno s lepší prognózou onemocnění. In: XXI Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí. Sborník abstrakt, Olomouc: Rubico 2007, 65 (abstrakt 1018).
31. Hrudková M, **Smolej L.**, Malý J, Belada D, Žák P, Peková S, Schwarz J, Kučerová L, Holubová V, Sobotka J. Kombinace mutačního stavu IgVH a cytogenetických odchylek může zpřesnit prognózu u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií. In: XXI Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí. Sborník abstrakt, Olomouc: Rubico 2007, 84-5 (abstrakt P38).
32. Smolej L., Pour L., Andrys C., Kašparová P., Maisnar V., Hájek R., Penka M. Angiogenic factors and microvascular density in patients with multiple myeloma. Acta Medica (Hradec Králové) 2007;50 (1): 85

8.2.7 Přednášky

1. Smolej L.: Agresivní B-difúzní velkobuněčný non Hodgkinův lymfom s infiltrací kůže, progresí v CNS a leukemizací. X. konference mladých lékařů, Brno, 11.6.2003.
2. Smolej L.: Novinky v diagnostice a léčbě chronické lymfocytární leukémie. Seminář OKH FN HK, Hradec Králové, 17.12.2003
3. Smolej, L., Daňová, V., Dynterová, A., Pavlíková, Z., Maisnar, V., Pecka, M., Malý, J.: Infiltrace kostní dřeni solidním nádorem - soubor cytologických nálezů. V. Česko - slovenské dny laboratorní hematologie s mezinárodní účastí, Hradec Králové, 25.- 26. 11. 2004
4. Smolej L.: Stáž na Mayo Clinic. Seminář Oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové, 19.1.2005
5. Smolej L.: Prognostické faktory lymfomů, hodnocení odpovědi na léčbu, význam FDG-PET. Regionální hematologický seminář „Nové trendy v diagnostice a léčbě lymfomů“, Špindlerův Mlýn, 4.-5.2.2005
6. Smolej L.: Význam fludarabinu v léčbě B-CLL. Schůze české skupiny pro CLL, OKH FN Hradec Králové, 4.3.2005
7. Smolej L.: Successful treatment of refractory follicular lymphoma using FCR regimen. Lymphoma Forum of Excellence, St. Bartholomew's Hospital, London, 8.3.2005

8. Smolej L.: Laboratorní metody užívané v imunologické laboratoři Mayo Clinic. Seminář laboratorního úseku Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice Hradec Králové, 29.3.2005
9. Smolej L., Žák P., Belada D.: Návrhy doporučení pro diagnostiku a léčbu chronické B-lymfocytární leukémie na OKH FN Hradec Králové. Seminář Oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové, 25.5.2005
10. Smolej L., Belada D. Perorální fludarabin a cyklofosfamid v kombinaci s rituximabem (FCR) jako záchranná léčba refrakterní a relabující chronické B-lymfocytární leukémie a folikulárního lymfomu. XXIV. dny mladých internistů, Olomouc, 26. – 27. 5. 2005
11. Smolej L.: Chronická lymfocytární leukémie: léčba 1. a 2. linie, refrakterní choroba. Seminář Oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové, 13.9.2006
12. Smolej L.: Angiogenní faktory u chronické myeloidní leukémie. Regionální hematologický seminář, Horní Albeřice, 21.4.2006
13. Smolej L., Belada D., Žák P. Monoklonální protilátky v léčbě chronické lymfocytární leukémie. XXX. brněnské onkologické dny, 12.5.2006
14. Smolej L.: Fludarabin v léčbě chronické lymfocytární leukémie. Hematologický seminář Schering, Jablonec nad Nisou, 27.5.2006.
15. Smolej L.: Kombinační fludarabinové režimy v léčbě 1.linie u chronické lymfocytární leukémie. Satelitní symposium Schering, XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.2006.
16. Smolej L.: Novinky v diagnostice a léčbě lymfoproliferací – ASH 2006. Seminář OKH, FN Hradec Králové, 24.1.2007
17. Smolej L.: Léčba chronické lymfocytární leukémie fludarabinem. Klinické studie a běžná praxe. Hematologické symposium Schering, Jablonec nad Nisou, 24.2.2007
18. Smolej L.: Jak číst klinické studie. Část 2. Pracovní setkání Kooperativní lymfomové skupiny, Praha, 19.4.2007
19. Smolej L.: Treatment of small lymphocytic lymphoma. Pracovní zasedání Kooperativní lymfomové skupiny, Praha, 21.9.2007
20. Smolej L.: Diagnostika a léčba chronické lymfocytární leukémie. Seminář II.interní kliniky, FN Hradec Králové, 25.9.2007
21. Smolej L.: Léčba chronické lymfocytární leukémie. Regionální hematologický seminář KN Pardubice, 31.10.2007
22. Smolej L.: Léčba chronické lymfocytární leukémie. Regionální hematologický seminář FN Hradec Králové, 12.12.2007
23. Smolej L.: Diagnostika a léčba lymfomu z malých lymfocytů. Seminář II.interní kliniky, oddělení klinické hematologie, FN Hradec Králové, 19.12.2007
24. Smolej L.: Moderní léčba chronické lymfocytární leukémie. Část 1.- fludarabin. Hematologické symposium Bayer-Schering, Jablonec nad Nisou, 26.1.2008
25. Smolej L.: Moderní léčba chronické lymfocytární leukémie. Část 2.- alemtuzumab. Hematologické symposium Bayer-Schering, Jablonec nad Nisou, 26.1.2008