

UNIVERSITA KARLOVA V PRAZE
LÉKAŘSKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
FAKULTNÍ NEMOCNICE HRADEC KRÁLOVÉ

MUDr. David Belada

STANOVENÍ TRANSKRIPTU BCL-2/IgH U NEMOCNÝCH S FOLIKULÁRNÍM
B-NEHODGKINSKÝM LYMFOMEM LÉČENÝCH CHEMOTERAPIÍ EVENT. V
KOMBINACI S MONOKLONÁLNÍ PROTILÁTKOU ANTI CD20 - RITUXIMABEM

Autoreferát disertační práce

Doktorský studijní program: vnitřní nemoci



Hradec Králové, 2008

Práce byla částečně podpořena výzkumným záměrem MZO 00179906 a grantem IGA
NR/9453-3 Ministerstva zdravotnictví České republiky

UNIVERSITA KARLOVA V PRAZE
LÉKAŘSKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
FAKULTNÍ NEMOCNICE HRADEC KRÁLOVÉ

MUDr. David Belada

STANOVENÍ TRANSKRIPTU BCL-2/IgH U NEMOCNÝCH S FOLIKULÁRNÍM
B-NEHODGKINSKÝM LYMFOMEM LÉČENÝCH CHEMOTERAPIÍ EVENT. V
KOMBINACI S MONOKLONÁLNÍ PROTILÁTKOU ANTI CD20 - RITUXIMABEM

Autoreferát disertační práce

Doktorský studijní program: vnitřní nemoci



Hradec Králové, 2008

Práce byla částečně podpořena výzkumným záměrem MZO 00179906 a grantem IGA NR/9453-3 Ministerstva zdravotnictví České republiky

Tato disertační práce v oboru vnitřní lékařství byla vypracována na II. interní klinice, oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice v Hradci Králové, a to v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu vnitřní nemoci na Universitě Karlově v Praze, Lékařské fakultě v Hradci Králové.

Uchazeč: * **MUDr. David Belada**
II. interní klinika, oddělení klinické hematologie
Fakultní nemocnice Hradec Králové

Školitel: **Prof. MUDr. Jaroslav Mařý, CSc.**
II. interní klinika, oddělení klinické hematologie
Universita Karlova v Praze, Lékařská Fakulta v Hradci Králové
Fakultní nemocnice Hradec Králové

Oponenti:

Prof. MUDr. Karel Indrák, DrSc.
Lékařská fakulta UP, Olomouc

Doc. MUDr. Marek Trněný, CSc.
1. Lékařská fakulta UK, Praha

**Obhajoba se koná před Komisí pro obhajoby
disertačních prací v doktorském studijním programu
Vnitřní nemoci
v pondělí 30. června 2008 od 10.00 hodin,
Onkologický pavilon ve Fakultní nemocnici v HK,
budova č. 23, 3. nadzemní podlaží, místnost č. 3.212**

Stanovisko k disertační práci vypracovala katedra interních oborů University Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, Hradec Králové.

Prof. MUDr. Jan Bureš, CSc.
Předseda komise pro obhajoby disertačních prací
v doktorském studijním programu vnitřní nemoci

1. Úvod

Folikulární lymfom (FL) je druhý nejčastější ne-Hodgkinův lymfom (NHL) v západní populaci. Je charakteristický molekulárně genetickými znaky, a to přítomností translokace t(14;18) (q32;q21). Ta z molekulárně genetického pohledu zahrnuje lokus 18q21 pro gen Bcl-2, který je translokován do oblasti lokusu 14q32, který kóduje těžký řetězec imunoglobulinu (IgH). Během translokačního procesu část chromozómu 18 obsahující kódující úsek genu Bcl-2 je přesunuta do oblasti J_H segmentu oblasti IgH na 14. chromozómu. Na recipročně vzniklý 18q chromozóm je naopak translokována část chromozómu 14, a to do oblasti distálně od bcl-2 genu. Bcl-2 onkogen se tak dostává do oblasti genu pro těžký řetězec imunoglobulinu, což vede k jeho nadměrné expresi, a tím k nadměrné syntéze proteinu bcl-2 – mohutného inhibitoru apoptózy. Tím je vysvětlena skutečnost, že buňky folikulárního lymfomu jsou „nesmrtelné“. Samotný růst lymfomu je v tomto případě více způsoben prodlouženým přežitím lymfomových buněk než samotnou zvýšenou proliferací aktivitou, jak je tomu například u agresivních lymfomů.

Translokace t(14;18) není uniformní. Bylo popsáno několik typů podle zlomového místa na chromozómu 18, v místě Bcl-2 genu. Základní zlomové body na chromozómu 18 jsou na 2 místech: MBR (major breakpoint region) a mcr - minor cluster region. Jen výjimečně byly popisovány zlomy v oblasti VCR (variant cluster region). Další zlomová místa byla detekována v oblasti mezi těmito úseky, a to nazývaném intermediate cluster region (ICR). Na chromozómu 14 jsou zlomová místa ve většině případů konstantní, a to v oblasti JH genu pro těžký řetězec imunoglobulinu.

Translokace t(14;18) a její záchyt je poměrně variabilní a závisí jak na vyšetřovaném materiálu, tak i na použité technice. Translokace ale byla nalezena také u jedinců s reaktivní lymfoidní hyperplazií, ale i u zcela zdravých jedinců – zde ovšem ve výrazně nižším počtu než u nemocných s FL. Frekvence záchytu t(14;18) je dle literatury variabilní (19-89 %). Příčinou takto významného rozmezí jsou jednak vlivy geografické (vyšší výskyt v Evropě a USA oproti Asii), ale zejména pak technické. Zásadní roli v tomto hraje skutečnost, že identifikace t(14;18), resp. Bcl-2/IgH přestavby je možná celou řadou technik, které se liší svojí citlivostí, přesností i mírou senzitivity i specificity. Od klasické cytogenetiky, přes PCR a její různé varianty (standardní PCR, long distance PCR, multiplex PCR, kvantitativní real-time PCR) až po fluorescenční in situ hybridizaci (FISH), která má relativně nejvyšší záchytnost (až 100 %). Nevýhodou FISH je její větší časová i technická náročnost, což z ní činí méně výhodnou metodu pro sledování dynamiky cytogenetických změn.

Problémem je také stanovení optimálního kompartmentu ke sledování aktivity onemocnění. Z hlediska geneze NHL by se jevil jako ideální vzorek mízní uzliny. Ten je zpravidla dostupný při diagnóze, avšak během terapie či po jejím ukončení již většinou nikoliv. Z klinického hlediska se proto setkáváme nejčastěji s analýzou vzorků kostní dřeně a/nebo periferní krve, které jsou technicky snadno dostupné. Mnoho prací se zabývalo zkoumáním, jaká je shoda v záchytu t(14;18) mezi periferní krví a kostní dření. I zde jsou výsledky rozporuplné, a to pravděpodobně proto, že primárně se jedná o uzlinové postižení a oba zmíněné kompartmenty jsou postiženy až sekundárně.

Z klinického pohledu má detekce t(14;18) několikový význam. Slouží zejména k potvrzení diagnózy FL, k posouzení přítomnosti minimální reziduální nemoci (MRN) po léčbě, ale i k vyhodnocování efektu nových léčebných postupů z hlediska molekulárně genetické remise. Význam dosažení molekulární remise byl studován několika autory, bohužel také s rozporuplnými výsledky. Některé práce prokazují, že dosažení molekulárně genetické remise je spojeno s lepší prognózou onemocnění, jiné nikoliv.

Dosažení molekulárně genetické remise závisí na druhu použité léčby. Zatímco po samotné chemoterapii dosáhne molekulární remise jen minimum nemocných, po intenzivní chemoterapii nebo vysokodávkované chemoterapii s podporou periferních kmenových buněk je tomu ve výrazně vyšším procentu. Nevýhodou těchto intenzivních postupů je ale riziko

sekundárního myelodysplastického syndromu nebo akutní myeloidní leukémie. Další možností je použití monoklonální protilátky anti CD20 – rituximabu, který je schopen navození molekulární remise ve více jak 50 % případů. I z tohoto důvodu je kombinace rituximabu a chemoterapie v současné době standardní léčbou nemocných s FL v první linii léčby.

2. Cíl práce*

Cílem této práce bylo zjistit výskyt Bcl-2/IgH pozitivitu ve vzorcích periferní krve a kostní dřeň u nemocných s folikulárním lymfomem, a to pomocí dvoukolové nested PCR. K vyšetřování byly z technických důvodů vybrány dvě nejčastěji popisované varianty translokace t(14;18) dle zlomových míst na chromozómu 18: MBR (major breakpoint region) a mcr (minor cluster region). Současně byla sledována shoda záchytu pozitivitu Bcl-2/IgH mezi oběma vyšetřovanými kompartmenty (kostní dřeň, periferní krev), shoda mezi molekulárně genetickým vyšetřením pomocí PCR a imunohistochemickým stanovením proteinu bcl-2 v trepanobiopsických vzorcích kostní dřeně. Z klinického pohledu bylo hlavním úkolem práce stanovit, jaká část nemocných dosáhla molekulárně genetické remise onemocnění po jednotlivých liniích terapie, a zda se lišily mezi sebou výsledky léčby v dosažení molekulárně genetické remise u skupiny nemocných, které byly léčeny samotnou chemoterapií a chemoterapií v kombinaci s monoklonální protilátkou anti-CD20, rituximabem. Dalším cílem práce bylo porovnat 2 hlavní skupiny: nemocné s FL s prokázanou vstupní Bcl-2/IgH pozitivitou oproti skupině úvodem Bcl-2/IgH negativních. Cílem této analýzy bylo zjistit, zda vstupní Bcl-2/IgH pozitivita ovlivňuje prognózu onemocnění.

3. Metodika

Do souboru byli zařazeni zejména nemocní s nově diagnostikovaným FL, u 7/50 se jednalo o relaps onemocnění. Před zahájením léčby byly od 41/50 nemocných k dispozici vzorky periferní krve i kostní dřeň, u 5 nemocných byl z technických důvodů vyšetřen jen vzorek periferní krve, u 4 nemocných jen vzorek kostní dřeně. Část souboru byla léčena samotnou chemoterapií (28/50), zbývající nemocní pak chemoterapií v kombinaci s rituximabem. Volba mezi oběma způsoby léčby nebyla provedena pomocí randomizace – výběr typu léčby (s rituximabem nebo bez něho) závisela zejména na období, ve kterém byl nemocný indikován k léčbě, neboť rituximab byl používán v rámci léčby I.linie nemocných s folikulárním na našem pracovišti až od roku 2004. Z tohoto pohledu se jedná vlastně o porovnání 2 období – před zavedením rituximabu a po něm. U části souboru byl rituximab podáván jako konsolidační terapie po podání samotné chemoterapií. Jednalo se o podskupinu nemocných, kde samotnou chemoterapií nebylo dosaženo klinické remise onemocnění, a kde byl rituximab podán s cílem odstranit reziduální lymfomovou aktivitu.

V našem souboru byly následně porovnávány křivky celkového přežití (OS), přežití bez progresu (PFS) a přežití bez události (EFS) – a to u skupiny Bcl-2/IgH pozitivních vs. negativních po léčbě I.linie i po ukončení celé terapie. U všech nemocných byly analyzovány následující klinické a laboratorní charakteristiky ve vztahu k průkazu Bcl-2/IgH přestavby: věk, pohlaví, performance status dle WHO klasifikace, B-symptomy, histologický grade lymfomu, hladina laktát dehydrogenázy, beta 2-mikroglobulin, klinické stádium dle Ann Arbor klasifikace, mezinárodní prognostický index FLIPI (Follicular Lymphoma International Prognostic Index), bulky disease > 5cm, extranodální léze (mimo dřeň) a postižení dřeně.

4. Soubor nemocných

Za období od června 2002 do ledna 2005 bylo na II.interní klinice, oddělení klinické hematologie FN a LF UK Hradec Králové, zařazeno do sledování 50 nemocných s folikulárním lymfomem. Všichni nemocní zařazení do sledování podepsali informovaný souhlas. Diagnóza byla u všech případů stanovena histologickým vyšetřením lymfatické uzliny a ověřena druhým čtením. V souboru bylo 33 mužů a 17 žen, věkový medián byl 56,5 let (33-76). Vstupní klinické stádium I/II/III/IV dle Ann Arbor klasifikace bylo přítomno u 3/5/4/38 nemocných – většina tedy byla diagnostikována v pokročilém stadiu. Histologicky byl prokázán v lymfatické uzlině FL grade 1/2/3 u 17/26/6 pacientů, v 1 případě nebyl grade určen. Ve většině případů se jednalo o nově diagnostikované onemocnění (43 pacientů), u 7 nemocných pak o relaps FL. Vstupní prognostické skóre FLIPI - nízké/střední/vysoké riziko - bylo u 19/15/16 nemocných. B-symptomy (váhový úbytek, teploty neinfekčního původu nad 38 st. Celsia nebo profúzní noční poty) mělo 18 nemocných (36 %), vstupní performance status dle WHO 0/1/2 byl u 11/31/6 nemocných. 10 % pacientů mělo v době zařazení do sledování „bulky disease“ (rozsáhlou lymfadenopatii >5cm). Zvýšená hodnota laktát dehydrogenázy (LDH) byla zaznamenána u 29/50 pacientů, postižení kostní dřeně měla většina nemocných – 37 (74 %). Hlavní klinické charakteristiky souboru jsou shrnuty v tab.1.

Tabulka 1. Hlavní klinické charakteristiky celého souboru před léčbou (n=50)

	Počet pacientů, n=50	%
Pohlaví		
Muži	33	67
Ženy	17	33
Věk ≥ 65 let	12	24
Grade lymfomu		
I+2	43	86
Stádium lymfomu		
I	3	6
II	5	10
III	4	8
IV	38	76
B-symptomy	18	36
Performance status		
0-1	42	84
2-3	8	16
LDH > norma	29	58
Beta 2 mikroglobulin > norma	26	52
Masa lymfomu > 5cm	5	10
Extranodální postižení (mimo dřeň)	10	20
Postižení dřeně	37	74
FLIPI		
0-1 (nízké riziko)	19	38
2 (střední riziko)	15	30
3-5 (vysoké riziko)	16	32

4.1. Léčba

Nemocní byli nejčastěji léčeni v té době standardní chemoterapií CHOP (cyklofosfamid, doxorubicin, vinkristin, prednison) – ve 23 případech, u ostatních nemocných byly použity následující režimy: 9x R-CHOP (rituximab, cyklofosfamid, doxorubicin, vinkristin, prednison), 8x R-COP (rituximab, cyklofosfamid, vinkristin, prednison), 5x R-FND (rituximab, fludarabin, mitoxantron, dexamethason) a 5x COP (cyklofosfamid, vinkristin, prednison). Monoklonální protilátka anti CD20 – rituximab – byla podána v rámci imunochemoterapie v první linii léčby u 22 pacientů (44 %), ostatních 28 nemocných bylo léčeno samotnou chemoterapií. U 17/27 (52 %) nemocných, kteří byli léčeni samotnou chemoterapií (1 nemocný nezhodnocen, zemřel při léčbě), ale kde nebylo dosaženo klinicky kompletní remise onemocnění, byl podán sekvenčně rituximab 4 x 375 mg/m² v týdenních intervalech s cílem odstranění reziduální nemoci. Molekulárně genetická odpověď na léčbu byla hodnocena u 25 nemocných (1 zemřel při léčbě). U všech vstupně Bcl-2/IgH pozitivních nemocných byly vyšetřeny vzorky periferní krve i kostní dřeně před léčbou i po jejím skončení. U 12/17 (71 %) nemocných, kde byl rituximab podán sekvenčně po samotné chemoterapii, byla vstupně zjištěna Bcl-2/IgH pozitivita. U této podskupiny bylo sledováno, zda po podání rituximabu došlo k vymizení Bcl-2/IgH positivity a při jejím přetrvávání bylo vyšetření opakováno ještě po 3 a 6 měsících. U nemocných v molekulárně genetické remisi bylo hodnoceno, zda dosažení remise ovlivnilo prognózu onemocnění ve vztahu k delšímu celkovému přežití, přežití bez známké progresu a přežití bez události oproti skupině, kde nebylo Bcl-2/IgH negativitě dosaženo. Klinicky byla léčebná odpověď hodnocena dle standardních Chesonových kritérií.

4.2. DNA extrakce a analýza

DNA ze vzorků periferní krve a kostní dřeně byla extrahována fenol-chloroformovou extrakcí po inkubaci 200 µl vzorku s proteinázou K při 56°C po dobu 16 hodin nebo pomocí komerčních mikrokolonek (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, Hilden, SRN) dle doporučení výrobce. Pro amplifikaci byla použita dvoukolová nested PCR. Produkty definované pomocí systému zevních a vnitřních primerů zahrnovaly oblasti major breakpoint region (MBR) a minor cluster region (mcr) na chromozómu 18. Sekvence primerů byly převzaty z práce Gribbena a kol. Obě PCR reakce byly provedeny v 25 µl reakční směsi obsahující: 150 ng nebo 500 ng DNA (v PCR I reakci) nebo 1 µl PCR I produktu (PCR II reakce), 2,5 µl 10x PCR pufru (TaKaRa Schuzo, Otsu, Shiga, Japonsko), 200 µM koncentraci každého dNTP (TaKaRa), 0,8 µM koncentraci primerů, 2 mM chloridu hořečnatého a 1U Taq polymerázy (TaKaRa). Amplifikace byla provedena v termocykléru GeneAmp PCR System 9600 (Perkin Elmer, Norwalk, USA). Po úvodní denaturaci (5 min při 96°C) proběhl PCR I and PCR II reakce v 30 reakčních cyklech: 60 sekund denaturace při 95 °C, 60 sekund annealing při 60°C a 60 sekund polymerace při 72°C. Detekce PCR produktů byla provedena pomocí elektroforézy na 2 % agarózovém gelu s ethidiumbromidem. Pro vyloučení falešné positivity bylo vyšetření provedeno paralelně i metodou extrakčních mikrokolonek se shodnými výsledky.

4.3. Statistická analýza

Základními sledovanými parametry našeho souboru byly: léčebná odpověď – tedy procento dosažení kompletní remise, parciální remise nebo stabilního onemocnění, dále molekulárně genetická remise v kostní dřeni a/nebo v periferní krvi. Celý soubor byl vyhodnocen pomocí následujících parametrů: celkové přežití, které bylo definováno jako období od zahájení terapie do úmrtí nemocného nebo ztráty ze sledování, období do progresu, které bylo určeno jako doba od zahájení léčby do relapsu/progrese onemocnění. Za událost byla považována progresse/relaps lymfomu, zahájení další protinádorové léčby nebo úmrtí z jakékoliv příčiny. K porovnání shody vstupních charakteristik souboru nemocných bylo použito Fisherova přesného testu, křivky přežití byly vytvořeny dle metody Kaplan a Meiera, shoda křivek byla testována log rank testem. Klinicky byla léčebná odpověď hodnocena dle standardních Chesonových kritérií. Z molekulárně genetického hlediska byla dvoukolová nested PCR schopna detekce 1 nádorové buňky z 10^5 molekul zdravých. Pro spolehlivost metody bylo vyšetřeno provedeno paralelně 2 metodami – fenol/chloroformovou extrakcí i metodou extrakčních mikrokolonek.

5. Výsledky:

5.1. Stanovení Bcl-2/IgH a jejího typu před léčbou:

Před zahájením léčby bylo analyzováno 91 vzorků: 46 z periferní krve a 45 z kostní dřeni. Od 41 nemocných byly k dispozici vzorky z obou výše uvedených kompartmentů, u 5 nemocných byl vyšetřen jen vzorek periferní krve, u 4 nemocných jen vzorek kostní dřeni. Bcl-2/IgH pozitivita z periferní krve a/nebo kostní dřeni byla nalezena u 26/50 nemocných (52 %), u zbývajících 24 nemocných (48 %) nebyla Bcl-2/IgH přestavba pomocí nested PCR zachycena. Medián věku u skupiny vstupně PCR pozitivních nemocných byl 56,5 let (35-74 let), u skupiny vstupně PCR negativní také 56,5 let (33-76 let). Hlavní klinické a laboratorní charakteristiky obou podskupin (vstupně Bcl-2/IgH pozitivní vs. Bcl-2/IgH negativní) a jejich porovnání ukazují tab. 1 a 2. Z ní je patrné, že obě podskupiny se statisticky významně lišily jen ve věku a v pravděpodobnosti postižení kostní dřeni před zahájením léčby – věk do 65 let a častější postižení dřeni byly shledány u skupiny vstupně Bcl-2/IgH pozitivních. Přítomnost Bcl-2/IgH přestavby vstupně nebyla dle našeho sledování asociována s gradingem lymfomu, přítomností B-symptomů ani dalšími klinickými charakteristikami. Z 26 nemocných Bcl-2/IgH pozitivních před léčbou se ve 24 případech (92 %) jednalo o přestavbu MBR, u 2 p (8 %) pak byla prokázána přestavba ve zlomovém místě mcr. U 23 ze 26 vstupně Bcl-2/IgH pozitivních nemocných bylo diagnostikováno postižení obou kompartmentů současně (ve 21 případech MBR, u 2 nemocných mcr). U dvou pacientů byla Bcl-2/IgH pozitivita kostní dřeni při negativitě Bcl-2/IgH v periferní krvi, u jednoho nemocného naopak byl záchyt Bcl-2/IgH elementů jen v periferní krvi při negativním nálezu v kostní dřeni.

Tabulka 1. Klinické a laboratorní charakteristiky souboru nemocných ve vztahu k přítomnosti Bcl-2/IgH přestavby před léčbou

	vstupně Bcl-2/IgH negativní, n = 24 (%)	vstupně Bcl-2/IgH pozitivní, n = 26 (%)	P - hodnota
Mužské pořlívá	33	61	NS
Věk < 65 let	58	88	0.02
Grade FL			
I+II	80	81	NS
III	17	19	NS
Stádium			
I+II	25	8	NS
III+IV	75	92	NS
B-symptomy	42	30	NS
Performance status			
0-1	79	88	
2 a více	21	12	NS
LDH > norma	63	54	NS
Beta 2 mikroglobulin > norma	48	69	NS
Bulk > 5cm	13	12	Ns
Extranodální postižení (mimo dřeň)	29	12	NS
Postižení dřeň	58	88	0.02
FLIPI			
0-1 (nizké riziko)	50	27	NS
2 (střední riziko)	25	35	NS
3-5 (vysoké riziko)	25	38	NS

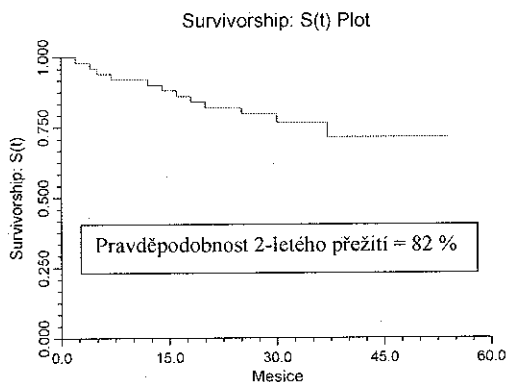
Tabulka 2. Léčebné charakteristiky souboru nemocných ve vztahu k přítomnosti Bcl-2/IgH přestavby před léčbou

	vstupně Bcl-2/IgH negativní, n = 24 (%)	vstupně Bcl-2/IgH pozitivní, n = 26 (%)	P - hodnota
Dosažení uCR + CR	57	53	NS
Radioterapie	17	15	NS
Rituximab v léčbě	46	42	NS
Režimy podané léčby			
CHOP	42	50	NS
R-CHOP	16	19	NS
R-COP	13	19	NS
COP	16	4	NS
R-FND	13	8	NS
Radioterapie	17	15	NS
Relaps/progrese	25	50	NS
Žijící nemocní	71	81	NS
Délka sledování (medián, měsíce)	28.5	34	NS

5.2. Význam vstupní Bcl-2/IgH pozitivita na výsledky léčby a prognózu

V této části studie bylo zkoumáno, zda nemocní s prokázanou vstupní Bcl-2/IgH pozitivitou folikulárního lymfomu měli odlišnou klinickou a molekulárně genetickou odpověď na léčbu oproti skupině vstupně Bcl-2/IgH negativních. U celého souboru 50 pacientů byla klinicky zaznamenána léčebná odpověď u 40/50 nemocných (80 %). Ve 22 případech (44 %) bylo dosaženo nejisté kompletní remise (uCR) a kompletní remise (CR), u 18 nemocných (36 %) byla dosažena parciální remise (PR). Nebyl sledán žádný statisticky významný rozdíl v celkové léčebné odpovědi (uCR+CR+PR) mezi skupinou vstupně Bcl-2/IgH pozitivních a vstupně Bcl-2/IgH negativních nemocných (85 % vs. 86 %, $p=NS$). Obě podskupiny se ale lišily v pravděpodobnosti následného relapsu/progrese. Tyto události byly zaznamenány u 15/25 (60 %) vstupně Bcl-2/IgH pozitivních nemocných s mediánem doby do relapsu/progrese 16 měsíců, ale jen u 5/20 (25 %) vstupně Bcl-2/IgH negativních nemocných (u 4 nemocných nebyl hodnocen pro tento parametr, neboť došlo k úmrtí během léčby) s mediánem doby do relapsu/progrese 14 měsíců. Tento rozdíl mezi oběma skupinami byl statisticky významný ($p=0.03$). Pravděpodobnost 2-letého celkového přežití u celého souboru byla 82 % (viz obr.1). U podskupiny vstupně Bcl-2/IgH pozitivních byla pravděpodobnost 2-letého celkového přežití 83 %, u vstupně Bcl-2/IgH negativních pak 68 %, tento rozdíl nebyl statisticky významný ($p=0,35$) – viz obr.2.

Obrázek 1. Graf celkového přežití celého souboru – medián přežití nebyl dosažen, třetí kvartil byl 37 měsíců



Z klinického pohledu nemocní po R-CHT dosáhli významně vyššího procenta uCR + CR oproti skupině léčené samotnou CHT (71% vs.28 %, p=0,007). Výsledky klinické a molekulární odpovědi skupiny léčené CHT i R-CHT jsou shrnuty v tab.3.

Tabulka 3. Klinická a molekulární odpověď po chemoterapii (CHT) a chemoterapii s rituximabem (R-CHT)

Klinická odpověď	N	%	před léčbou	po léčbě	po léčbě
			PCR +	PCR +	PCR -
po podání CHT:	25		N=14		
uCR + CR	7	28		2/3	1/3
PR	14	56		8/9	1/9
SD	4	16		2/2	0/2
CELKEM				12/14	2/14 (14 %)
po podání R-CHT:	21		N=11		
uCR + CR	15	71		2/8	6/8
PR	4	19		½	1/2
SD	2	10		1/1	0/1
CELKEM				4/11	7/11 (64 %)

Podrobnější analýzou bylo zjištěno, že vyšší pravděpodobnosti dosažení klinické odpovědi ve smyslu uCR+CR bylo dosaženo u pacientů s grade 3 folikulárního lymfomu, u jedinců bez B symptomů a u pacientů, kteří byli léčeni v léčbě I.linie rituximabem – viz tabulka 4.

Tabulka 4. Pravděpodobnost dosažení uCR + CR po I.linii léčby ve vztahu ke vstupním charakteristikám (n=47)

Parametr		uCR+ CR n=47 (%)		uCR + CR n=47 (%)	P
Věk	< 65 let	50	≥ 65 let	36	NS
Pohlaví	Muži	45	ženy	50	NS
Grade FL	I+2	38	3	100	0.005
Linie léčby	První	46	relaps	50	NS
Stadium	I+II	71	III+IV	43	0.23
B-symptomy	ano	18	ne	63	0.005
PS	0+1	48	2-5	33	NS
LDH	N	37	N	54	NS
Beta 2 mikroglobulin	> N	61	> N	38	NS
FLIPI	0-1	59	2-5	40	NS
Extranodální léze	ano	70	ne	42	NS
Postižení dřene	ano	40	ne	67	NS
Radioterapie	ano	50	ne	46	NS
Podání rituximabu	ano	68	ne	28	0.009
PCR stav před léčbou	+	42	-	52	NS

Z molekulárně genetického pohledu na stejný problém bylo zjištěno, že pouze podání rituximabu v 1.linii statisticky významně ovlivnilo dosažení molekulárně genetické remise. Všechny ostatní parametry v našem souboru nebyly statisticky významně spojeny s vymizením Bcl-2/IgH přestavby po léčbě 1.linie. – viz tab.5.

Tabulka 5. Pravděpodobnost dosažení Bcl-2/IgH negativity po 1.linii léčby ve vztahu ke vzájemným charakteristikám (n=25)

Parametr		Bcl-2/IgH negat. n=25 (%)		Bcl-2/IgH negat. n=25 (%)	P
Věk	< 65 let	45	≥ 65 let	0	NS
Pohlaví	Muži	44	ženy	22	NS
Grade FL	I+2	30	3	100	NS
Linie léčby	první	36	relaps	33	NS
Stadium	I+II	50	III+IV	35	NS
B-symptomy	ano	13	ne	47	NS
PS	0+1	41	2-5	0	NS
LDH	N	50	> N	23	NS
Beta 2mikroglobulin	N	63	> N	27	NS
FLIP1	0-1	57	2-5	28	NS
Extranodální léze	ano	67	ne	32	NS
Postižení dřeně	ano	36	ne	33	NS
Podání rituximabu	ano	64	ne	14	0.01

5.4. Klinická a molekulární odpověď na sekvenční podání rituximabu po chemoterapii

Sekvenčně byl podán rituximab u 17 z 27 nemocných, kteří byli léčeni samotnou chemoterapií, ale u kterých nebylo dosaženo kompletní remise onemocnění s přetrvávající Bcl-2/IgH pozitivitou. Z klinického pohledu bylo před podáním rituximabu ze 17 nemocných 14 v parciální remisi a 3 v nejisté kompletní remisi.

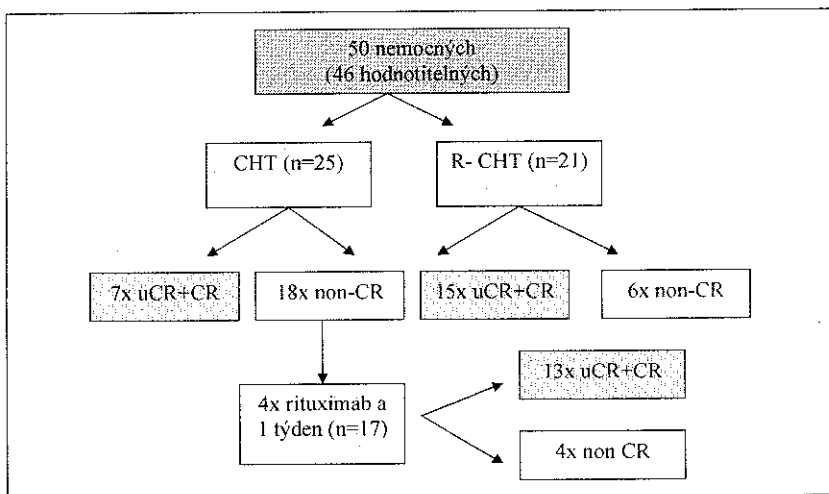
Rituximab byl podán ve standardním dávkování (tedy 375 mg/m² po 1 týdnu, celkem 4x) s cílem odstranění reziduální nemoci. Z klinického pohledu po podání rituximabu 8 ze 14 nemocných původně v PR dosáhlo CR, 2 pak uCR a 4 zůstali v PR. Všichni 3 nemocní, kteří byli hodnoceni jako uCR před podáním rituximabu, dosáhli následně klinicky CR. Celkem u 13/17 (76 %) nemocných došlo klinicky ke zlepšení celkové odpovědi po podání 4 dávek rituximabu.

Z molekulárně genetického hlediska celkem 12/17 (71 %) nemocných bylo PCR pozitivních pro přestavbu Bcl-2/IgH před sekvenčním podáním rituximabu. K vymizení Bcl-2/IgH positivity došlo při kontrole za 1 měsíc od poslední dávky rituximabu u 7/12 nemocných (58 %). Zbývajících 5 Bcl-2/IgH pozitivních pacientů bylo poté sledováno po 3 měsících a u 2 z 5 došlo k vymizení Bcl-2/IgH přestavby v intervalu 3 (1 pacient), resp. 6 měsíců (1 pacient), což ukazuje na dlouhodobý biologický efekt podávaného rituximabu. Molekulárně genetická odpověď byla zaznamenána u 9/12 nemocných z této skupiny nemocných léčených sekvenčním podáním rituximabu po podání samotné CHT (75 %).

5.5. Klinická a molekulární odpověď po celé léčbě

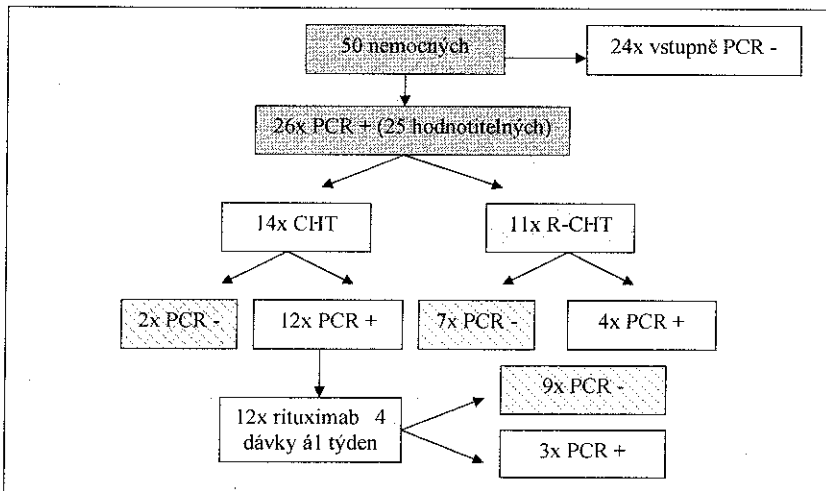
Z klinického pohledu v našem souboru z 50 nemocných bylo hodnotitelných stran klinické odpovědi celkem 46 nemocných (4 zemřeli při léčbě). Po R-CHT dosáhlo uCR+CR 15/21 nemocných, po samotné CHT 7/25 nemocných. Ze zbývajících 18 nemocných, kteří nedosáhli kompletní remise po CHT, bylo 17 léчено konsolidační léčbou rituximabem. Po této léčbě se 13/17 nemocných dostalo do kompletní remise. Celkem tedy 35/46 nemocných dosáhlo v kterékoliv fázi léčby kompletní nebo nejisté kompletní remise onemocnění. Celkem 28 z těchto 35 nemocných dostalo v některé fázi léčby rituximab. Osud nemocných z klinického hlediska stran dosažení uCR + CR během jednotlivých fází léčby je znázorněn na obr.5.

Obrázek 5. Přehled klinické odpovědi – dosažení uCR + CR- u celého souboru dle jednotlivých linií léčby.



Z molekulárního hlediska ze 26 vstupně Bcl-2/IgH nemocných bylo 25 pacientů hodnotitelných stran molekulární odpovědi (1 zemřel při léčbě). Po R-CHT dosáhlo Bcl-2/IgH negativity 7/11 nemocných, po samotné chemoterapii jen 2/14 nemocných. Ze zbývajících 12 nemocných, kteří nedosáhli molekulární remise, byli všichni léčení konsolidační léčbou rituximabem (protože klinicky nedosáhli uCR nebo CR). Po této léčbě se 9/12 nemocných dostalo do molekulárně genetické remise. Celkem tedy 18/25 nemocných dosáhlo v kterékoliv fázi léčby molekulární remise onemocnění. Přehledně je toto znázorněno na obr.6.

Obrázek 6. Přehled molekulárně genetické odpovědi (= Bcl-2/IgH negativita) u celého souboru



Statisticky byla analyzována pravděpodobnost dosažení PCR negativity Bcl-2/IgH podle jednotlivých vstupních parametrů po ukončení celé léčby. Při sledování pravděpodobnosti dosažení molekulární remise po celé léčbě se jako statisticky významné parametry ukázaly: věk pod 65 let, lepší performance status a hraničně i FLIPI index – viz tab.6.

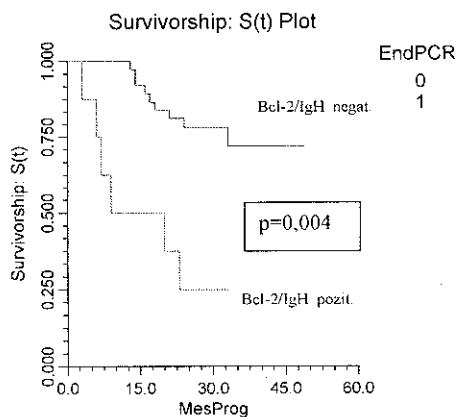
Tabulka 6. Pravděpodobnost dosažení Bcl-2/IgH negativity po ukončení celé léčby ve vztahu ke vstupním charakteristikám (N=25)

Parametr		Bcl-2/IgH negat. n=25 (%)		Bcl-2/IgH negat. n=25 (%)	P
Věk	< 65 let	94	≥ 65 let	50	0.02
Pohlaví	Muži	75	ženy	56	NS
Grade FL	I+2	65	3	100	NS
Linie léčby	První	73	relaps	67	NS
Stadium	I+II	50	III+IV	70	NS
B-symptomy	Ano	63	ne	71	NS
PS	0+I	77	2-5	0	0.02
LDH	N	83	N	54	NS
Beta 2mikroglobulin	> N	88	> N	60	NS
FLIPI	0-1	100	2-5	56	0.05
Extranodální léze	Ano	100	ne	64	NS
Postižení dřeně	Ano	68	ne	67	NS
Rituximab v 1.linii	Ano	64	ne	71	NS

5.6. Význam dosažení Bcl-2/IgH negativity na prognózu onemocnění

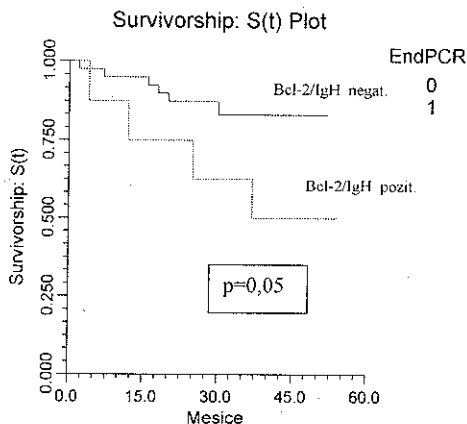
Ze souboru 26 nemocných vstupně Bcl-2/IgH pozitivních ke dni hodnocení zemřelo 5 nemocných - všichni na progresi lymfomu, 3 z nich byli ze skupiny, která nedosáhla nikdy Bcl-2/IgH negativity. Následný relaps/progrese lymfomu byly po léčbě zaznamenány u 10 ze 23 (43 %) hodnotitelných pacientů (3 nemocní zemřeli během léčby) s mediánem doby do relapsu/progrese 15,5 měsíců. U skupiny, kde během léčby v kterékoli fázi bylo dosaženo Bcl-2/IgH negativity, došlo k relapsu či progresi u 4/15 pacientů (27 %), u nadále Bcl-2/IgH pozitivních pak u 6/8 případů (75 %) – tento rozdíl byl statisticky významný ($p=0,004$). Pravděpodobnost 2-letého přežití bez progresie byla u pacientů s přetrvávající Bcl-2/IgH pozitivitou 38 %, u Bcl-2/IgH negativních 81 % – viz.obr.7.

Obrázek 7. Porovnání křivek doby do progresie u skupiny s dosaženou Bcl-2/IgH negativitou v kterékoliv fázi léčby se skupinou Bcl-2/IgH pozitivních po celé léčbě



Ke dni hodnocení žije 21/26 nemocných (81 %), ve skupině nadále Bcl-2/IgH pozitivních žije 4/8 nemocných (50 %), ve skupině Bcl-2/IgH negativních žije 17/18 pacientů (94 %). Pravděpodobnost dvouletého přežití u obou podskupin byla 74 % vs. 87 % - tento rozdíl byl hraničně statisticky významný ($p=0,05$) – viz.obr.č.8.

Obrázek 8. Porovnání křivek celkového přežití skupiny s dosaženou Bcl-2/IgH negativitou v kterékoliv fázi léčby se skupinou Bcl-2/IgH pozitivních po celé léčbě.



Medián sledování této části souboru je 34 měsíců (4-54 měsíců). Porovnáním vstupních charakteristik a výsledky léčby bylo zjištěno, že v našem souboru bylo dosažení Bcl-2/IgH negativity asociováno s těmito faktory: věk < 65 let ($p=0,02$), performance status 0+1 v úvodu ($p=0,02$) a hraničně i index FLIPI ($p=0,05$) – viz tab.9. Porovnáním léčebných výsledků nemocných, kteří kdykoliv během léčby dosáhli Bcl-2/IgH negativity se skupinou, u kterých přetrvávala Bcl-2/IgH pozitivita, byl nalezen rozdíl mezi oběma skupinami v delší době do progresu, době do události a hraničně i v delším přežití ve prospěch skupiny Bcl-2/IgH negativních po léčbě. PCR negativní status po léčbě tak byl dle našeho sledování spojen s dlouhodobější remisí onemocnění, nižším rizikem relapsu a s naznačeným trendem k delšímu celkovému přežití. Pomocí univariantační analýzy bylo zkoumáno, které faktory byly asociovány s vymizením Bcl-2/IgH přestavby po celé léčbě. Z analýzy vyplývá, že jedinci, u kterých bylo dosaženo molekulární remise, jsou mladšího věku a s lepším performance statusem. Dosažení PCR negativity je pak spojeno s nižším rizikem relapsu onemocnění.

5.7. PCR analýza Bcl-2/IgH v periferní krvi a kostní dřeni - porovnání s výsledky imunohistochemického průkazu bcl-2 ve vzorcích kostní dřeni

V této části práce byla zkoumána korelace mezi PCR pozitivitou Bcl-2/IgH v periferní krvi a/nebo kostní dřeni a pozitivním imunohistochemickým (IHCH) průkazem bcl-2 proteinu v histologickém vzorku kostní dřeni, který byl k dispozici od všech 26 pacientů vstupně Bcl-2/IgH pozitivních. IHCH pozitivita byla nalezena u 24 z 26 vzorků kostní dřeni (92 %) PCR pozitivních nemocných. Zajímavostí bylo, že 5 IHCH pozitivních vzorků dřeni (21 %) bylo nalezeno i ve skupině 24 vstupně Bcl-2/IgH negativních pacientů při PCR vyšetření pro oblast MBR a mcr. Svědčí to pro skutečnost, že jistě existují další zlomová místa na 18. chromozómu, která nebyla námi používanou PCR metodikou odhalena.

Souhrn: Bcl-2/IgH přestavba je charakteristickou molekulární přestavbou u nemocných s folikulárním lymfomem (FL), její prognostický význam je však stále nejasný. Cílem práce bylo zhodnocení výskytu Bcl-2/IgH přestavby u 50 nemocných s FL před zahájením léčby pomocí nested PCR s následným zhodnocením významu molekulárně genetického nálezu v korelaci s klinickou charakteristikou a výsledky léčby obou skupin - s prokázanou Bcl-2/IgH přestavbou a bez ní. Pomocí nested PCR byla detekována přestavba ve 2 nejčastějších oblastech – major breakpoint region (MBR) a minor cluster region (mcr), a to celkem u 26/50 nemocných (52 %) - ve 24 případech pro oblast MBR, ve dvou pak mcr, zbylých 24 pacientů bylo Bcl-2/IgH negativních. Byla zjištěna významná shoda mezi záchytem Bcl-2/IgH pozitivních buněk v kostní dřeni a periferní krvi, stejně jako mezi PCR stanovením Bcl-2/IgH přestavby a imunohistochemickým stanovením proteinu bcl-2 při vyšetření kostní dřeni. Mezi Bcl-2/IgH pozitivní a Bcl-2/IgH negativní skupinou nebyl nalezen rozdíl v pravděpodobnosti dosažení kompletní remise po léčbě ani v prognóze onemocnění stran celkového přežití či období do progresu onemocnění. Dalším cílem zhodnocení dosažení Bcl-2/IgH negativitu na prognózu nemocných s FL. Samotnou chemoterapií (CHT) bylo léčeno 28 nemocných (56 %), chemoterapií v kombinaci s monoklonální protilátkou anti-CD20, rituximabem (R-CHT) 22 pacientů (44 %). Molekulárně genetické remise dosáhlo po R-CHT 7 z 11 pacientů (64 %), po CHT jen 2 ze 14 pacientů (14 %) – tento rozdíl byl statisticky významný ($p=0,037$). U 17/28 nemocných, kteří byli léčeni samotnou chemoterapií a nedosáhli kompletní remise, byly podány sekvenčně 4 dávky rituximabu po 1 týdnu. 12 ze 17 nemocných (71 %) takto léčených bylo před léčbou Bcl-2/IgH pozitivních. K vymizení Bcl-2/IgH pozitivivity došlo při kontrole za 1 měsíc u 7/12 nemocných (58 %), u 2/5 zbývajících nemocných byla zaznamenána negativita Bcl-2/IgH v intervalu 3 (1 pacient), resp. 6 měsíců (1 pacient). S dosažením Bcl-2/IgH negativitu kdykoliv během léčby byly asociovány tyto faktory: věk < 65 let ($p=0,02$) a performance status 0+1 dle WHO v úvodu ($p=0,02$). Nemocní, kteří dosáhli vymizení Bcl-2/IgH po léčbě, měli v porovnání se skupinou Bcl-2/IgH pozitivních nižší riziko relapsu/progrese – 27 % vs. 75 % ($p=0,03$), ve 2 letech pak vyšší pravděpodobnost přežití bez progresu (81 % vs. 38 %, $p=0,004$), bez události (74 % vs. 38 %, $p=0,01$) a hraničně celkové přežití (87 % vs. 74 %, $p=0,05$). Dosažení Bcl-2/IgH negativitu po léčbě folikulárního lymfomu je dle našich zkušeností spojeno s lepší prognózou onemocnění.

Summary: Bcl-2/IgH rearrangement is the molecular hallmark of follicular lymphoma. However, its clinical significance remains unclear. The aim of this study was to evaluate Bcl-2/IgH rearrangement in 50 patients with follicular lymphoma before treatment by means of nested PCR technique and to correlate molecular genetic findings with clinical characteristics and results of treatment in subgroups – with vs. without Bcl-2/IgH rearrangement. 91 samples from peripheral blood and/or bone marrow from fifty patients (median age, 56.5 years; male/female ratio: 33/17) were analysed. Samples from both compartments were available in 41 cases. Bcl-2/IgH rearrangement was analysed by nested PCR technique for both major breakpoint region (MBR) and minor cluster region (mcr). Twenty-six out of fifty patients (52 %) were positive for Bcl-2/IgH rearrangements; 24 in MBR and 2 in mcr, remaining 24 patients were negative. High correlation between Bcl-2/IgH rearrangement in peripheral blood and bone marrow was noted as well as correlation between PCR Bcl-2/IgH detection and immunohistochemistry bcl-2 detection in bone marrow. No differences were found according to initial Bcl-2/IgH status with respect to clinical course of disease in terms of complete remission achievement, improved overall survival or progression-free survival in comparison with Bcl-2/IgH negative group. The other aim of this study was to evaluate the impact of molecular remission achievement to prognosis of fifty patients with follicular lymphoma. Twenty-eight patients (56 %) were treated with chemotherapy (CHT) alone, 22 patients (44 %) with chemotherapy in combination with monoclonal anti-CD20 antibody rituximab (R-CHT). Molecular remission has been achieved more likely after R-CHT (64 %)

than after CHT (14 %), $p=0,037$. Seventeen out of twenty seven patients treated with CHT alone who did not achieve complete remission were treated with consolidation treatment with 4 doses of weekly rituximab. 12/17 (71 %) were positive in Bcl-2/IgH rearrangement. Five out of twelve patients (58 %) become negative 1 month later, in 2/5 remaining patients molecular remission has been achieved after 3 and 6 months, respectively. Bcl-2/IgH negativity during treatment was associated with: age under 65 years ($p=0,02$) and with good performance status (0+1) ($p=0,02$). Patients in molecular genetic remission in comparison with group remaining Bcl-2/IgH positive had lower risk of relapse/progression (27 % vs. 75 %, $p=0,03$), better 2-year progression free survival (81 % vs. 38 %, $p=0,004$), event free survival (74 % vs. 38 %, $p=0,01$) and borderline overall survival (87 % vs. 74 %, $p=0,05$). In conclusion, PCR negativity in Bcl-2/IgH rearrangement in our study has been associated with better clinical outcome of disease.

6. Seznam použitých zkratk

AA IPI – age adjusted international prognostic index (věkově upravený mezinárodní prognostický index)
ADCC – cytotoxicita závislá na protilátkách
AML – akutní myeloidní leukémie
ASCT – autologous stem cell transplantation
ATT – alternative tripple therapy
BCL-2 gen – B-cell leukemia/lymphoma 2 gen
CD – cluster of differenciation
CLL – chronická B-lymfocytární leukémie
CR – kompletní remise
DNA – deoxyribonucleotid acid (deoxyribonukleová kyselina)
DLBCL –diffuse large B-cell lymphoma (difúzní B-velkobuněčný lymfom)
EFS – event free survival (období bez události)
FLIPI – Follicular Lymphoma International Prognostic Index
FISH – fluorescenční in situ hybridizace
FL – folikulární lymfom
HLA – human leukocyte antigens
CHT - chemoterapie
ICR – intermediate cluster region
IgH – těžký řetězec imunoglobulinu
LDH – laktát dehydrogenáza
LD-PCR – long distance polymerázová řetězová reakce
MALT lymfom – mucosa associated lymphoma tissue lymphoma
MBR – major breakpoint region
MDS – myelodysplastický syndrom
Mcr – minor cluster region
MRN – minimální reziduální nemoc
NHL - ne Hodgkinův lymfom
OS – overall survival (celkové přežití)
PCR – polymerázová řetězová reakce
PD – progresivní onemocnění
PFS – progression free survival (období bez progresse)
PR – parciální remise
PS – performance status
QRT-PCT – kvantitativní real time polymerázová řetězová reakce
R-CHT – rituximab + chemoterapie

RT –radioterapie
SD – stabilní onemocnění
SKY – vícebarevné spektrální karyotypování
TLNI –total lymph node irradiation
TRM – peritransplantační mortalita
uCR – nepotvrzená kompletní remise
VCR – variant cluster region
WHO – World Health Organization

7. Seznam vybrané použité literatury

1. Trněný M., Vášová I., Pytlík R. et al. - Distribuce podtypů non-Hodgkinského lymfomu v České republice a jejich přežití – Klinická onkologie 2007; 20:340-348
2. Harris NL, Jaffe ES. et al. - WHO classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues. Report of the clinical advisory committee meeting – Airle House, Virginia, November 1997; J Clin Oncol 17; 1999:3835-3849.
3. Tsujimoto Y, Groce CM Analysis fo the structure, transcripts, and protein products of bcl-2, the gene involved in human follicular lymphoma. Proc.Natl.Acad.Sci. 1986; 83:5214-5218.
4. Tsujimoto Y, Finger L, Yunis J. et al. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. Science 1984; 226:1097-1099
5. Cleary ML, Sklar J Nucleoside sequence of a t(14;18) chromosomal breakpoint in follicular lymphoma and demonstration of a breakpoint-cluster region near a transcriptionally active locus on chromosome 18. Proc.Natl.Acad.Sci. 1985; 82:7439-7443
6. Viardot A, Möller P, Högel J, Werner K. et al. Clinicopathologic Correlations of Genomic Gains and Losses in Follicular Lymphoma. J Clin Oncol 2002; 20:4523-4530.
7. Papajik T, Jedličková K, Krigerová E, et al. Polymerase chain reaction detection of cells carrying t(14;18) in bone marrow of patients with follicular and diffuse large B-cell lymphoma: the importance of analysis at diagnosis and significance of long term follow-up. Neoplasma 2001; 6:501-505.
8. Corradini P, Astolfi M, Cherasco C et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in follicular and mantle cell non-Hodgkin´s lymphomas treated with high-dose chemotherapy and peripheral blood progenitor cell autografting. Blood 1997; 89:724-731.
9. Albinger-Hegyí A, Hochreutener B, Abdou MT, Hegyí I et al. High Frequency of t(14;18)-Translocation Breakpoints Outside of Major Breakpoint and Minor Cluster Regions in Follicular Lymphomas. Improved Polymerase Chain Reaction Protocols for Their Detection. Am J Pathol 2002; 160:823-832.
10. López-Guillermo A, Cabanillas F, McDonnell TI, McLaughlin P et al. Correlation of Bcl-2 Rearrangements With Clinical Characteristic and Outcome in Indolent Follicular Lymphoma. Blood 1999; 93:3081-3087.
11. Gribben JG, Freedman AS, Woo SD, Blake K et al. All Advanced Stage Non-Hodgkin´s Lymphomas With a Polymerase Chain Reaction Amplifiable Breakpoint of bcl-2 Have residual Cells Containing the bcl-2 Rearrangements et Evaluation and After Treatment. Blood 1991; 78:3275-3280.
12. Ladetto M, Drandi D, Compagno M, Astolfi M et al. PCR-Detectable Nonneoplastic Bcl-2/IgH Rearrangements Are Common in Normal Subjects and Cancer Patients at Diagnosis but Rare in Subjects Treated With Chemotherapy. J Clin Oncol 2003; 21:1398-1403.

13. Dölken G, Illerhaus G, Hirt C, Martelsman R BCL-2/JH Rearrangements in Circulating B Cells of Healthy Blood Donors and Patients With Nonmalignant Diseases. *J Clin Oncol* 1996; 14:1333-1344.
14. Summers KE, Davies KE, Mattews J et al. The relative role of peripheral blood and bone marrow for monitoring molecular evidence of disease in follicular lymphoma by quantitative real-time polymerase chain reaction. *Br J Haematol*. 2002; 118:563-566
15. Montoto S, López-Guillermo A, Colomer D, et al. Incidence and clinical significance of bcl-2/IgH rearrangements in follicular lymphoma. *Leukemia and lymphoma* 2003; 44:71-76.
16. Gribben JG, Neuberger K et al. Detection by polymerase chain reaction of residual cells with the bcl-2 translocation is associated with increased risk of relapse after autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. *Blood* 1993; 81:3449-3457.
17. Corradini P, Astolfi M et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in follicular and mantle cell non-Hodgkin's lymphomas treated with high-dose chemotherapy and peripheral blood progenitor cell autografting. *Blood* 1997; 89:724-731.
18. Johnson PW, Swinbank K et al. Variability of polymerase chain reaction detection of the bcl-2-IgH translocation in an international multicentre study. *Ann Oncol* 1999; 10:1349-1354.
19. Foran JM, Gupta RK, Cunningham D et al. A UK multicentre phase II study of rituximab (chimeric anti-CD20 monoclonal antibody) in patients with follicular lymphoma, with PCR monitoring of molecular response. *Br J Haematol* 1999; 109:81-88.
20. Gribben JG, Neuberger D, Barber M et al. Detection of Residual Lymphoma Cells by Polymerase Chain Reaction in Peripheral Blood Is Significantly Less Predictive for Relapse Than Detection in Bone Marrow. *Blood* 1994; 83:3800-3807.
21. Janíková –Obořilová A, Mayer J, Dvořáková D et al. Praktické aspekty a reálný klinický význam sledování t(14;18) v periferní krvi pacientů s folikulárním lymfomem. *Čas Lék Česk.* 2007; 146:374-381
22. López-Guillermo A, Cabanillas F, McLaughlin et al. The Clinical Significance of Molecular Response in Indolent Follicular Lymphomas. *Blood* 1998; 91:2955-2960.
23. Rambaldi A, Lazzari M, Manzoni C et al. Monitoring of minimal residual disease after CHOP and rituximab in previously untreated patients with follicular lymphoma. *Blood* 2002; 99:856-862.
24. Obořilová A, Dvořáková D, Mayer J: Translokace t(14;18) a její význam ve sledování minimální zbytkové nemoci u folikulárního lymfomu. *Transfúze a hematologie dnes* 2004; 2:51-61.
25. Lopez-Guillermo A, Cabanillas F, McLaughlin P, Smith T et al. Molecular response assessed by PCR is the most important factor predicting failure-free survival in indolent follicular lymphoma: Update of the MDACC series. *Annals of Oncology* 2000; 11(Suppl.1):137-140.
26. Rambaldi A, Carlotti E, Oldani E et al. Quantitative PCR of bone marrow BCL2/IgH+ cells at diagnosis predicts treatment response and long-term outcome in follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 2005; 105:3428-3433.
27. Rohatiner AZ, Johnson PW, Price CG et al. Myeloablative therapy with autologous bone marrow transplantation as consolidation therapy for recurrent follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 1994; 12:1177-1184.
28. Freedman AS, Gribben JG et al. High-dose therapy and autologous bone marrow transplantation in patients with follicular lymphoma during first remission. *Blood* 1996; 88:2780-2786.

29. Gribben JG, Freedman AS et al. Immunologic purging of marrow assessed by PCR before autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. *N Eng J Med* 1991; 325:1525-1531.
30. Ladetto M, Corradini P, Vallet S et al. High rate of clinical and molecular remissions in follicular lymphoma patients receiving high-dose sequential chemotherapy and autografting at diagnosis: a multicenter, prospective study by the Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO). *Blood* 2002; 100:1559-1564.
31. Czuczman M, Grillo-Lopez A et al. Rituximab clearance of BCL-2 from peripheral blood and bone marrow from patients with relapsed low-grade follicular lymphoma. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1999; 40:719 (Abstr 4748).
32. Czuczman MS, Grillo-López AJ, McLaughlin P, White CA et al. Clearing of cells bearing the bcl-2 [t(14;18)] translocation from blood and marrow of patients treated with rituximab alone or in combination with CHOP chemotherapy. *Annals of Oncology* 2001; 12:109-114.
33. Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B et al. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 1999; 17:1244. Erratum in: *J Clin Oncol* 2000; 18: 2351.
34. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53:457-481.
35. Colombat P, Salles G, Brousse N et al. Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) as single first-line therapy for patients with follicular lymphoma with a low tumor burden: clinical and molecular evaluation. *Blood* 2001; 97:101-106.
36. Mandigers CM, Meijerink PP, Mensink EM et al. Lack of correlation between numbers of circulating t(14;18)-positive cells and response to first-line treatment in follicular lymphoma. *Blood* 2001; 98:940-944.
37. Juckett M, Rowlings P et al. T-cell depleted allogeneic bone marrow transplantation for high-risk non-Hodgkin's lymphoma: clinical and molecular follow up. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21:893-899.
38. Magni M, Di Nicola M, Devizzi L et al. Successful in vivo purging of CD34-containing peripheral blood harvests in mantle cell and indolent lymphoma: evidence for a role of both chemotherapy and rituximab infusion. *Blood* 2000; 96:864-869.
39. Mahé B, Milpied N, Mellerin MP et al. PCR detection of residual Bcl-2/IgH-positive cells after high-dose therapy with autologous stem cell transplantation is a prognostic factor for event-free survival in patients with low-grade follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplantation* 2003; 31:467-473.
40. Horning SJ, Negrin RS, Hoppe RT et al. High-dose therapy and autologous bone marrow transplantation for follicular lymphoma in first complete or partial remission: results of a phase II clinical trial. *Blood* 2001; 97:404-409.
41. Ha Ch, Cabanillas F, Lee M et al. Serial Determination of the bcl-2 Gene in the Bone Marrow and Peripheral Blood after Central Lymphatic Irradiation for Stages I-III Follicular Lymphoma: A Preliminary Report. *Clinical Cancer Research* 1997; 3:215-219.
42. Tsimberidou AM, McLaughlin P, Younes A, Rodriguez MA et al. Fludarabine, mitoxantrone, dexamethasone (FND) compared with alternating triple therapy (ATT) regimen in patients with stage IV indolent lymphoma. *Blood* 2002; 100:4351-4357.

8. Přehled publikační aktivity

8.1. Monografie

1. **Belada D**, Trněný M a kolektiv autorů Kooperativní lymfomové skupiny. Diagnostické a léčebné postupy u nemocných s maligními lymfomy. Credit HK, Hradec Králové, květen 2005.
2. **Belada D**, Trněný M a kolektiv autorů Kooperativní lymfomové skupiny. Diagnostické a léčebné postupy u nemocných s maligními lymfomy – 2., doplněné vydání. Credit HK, září 2005.
3. **Belada D**, Trněný M a kolektiv autorů Kooperativní lymfomové skupiny. Diagnostické a léčebné postupy u nemocných s maligními lymfomy II. Credit HK, 2007.

8.2. Původní práce, statě ve sbornících

1. Bláha M, Malý J, Žák P, **Belada D**, Skořepová M. The role of erythrocytapheresis in secondary erythrocytosis therapy. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2002, 26(4), s.273-5. **IF 1,037**.
2. Dědič K, **Belada D**, Žák P, Nožička Z. Intravascular large B-cell lymphoma presenting as cutaneous panniculitis. *Acta Medica* 2003, 46 (3), s.121-3.
3. Doležal J, Vižďa J, Kafka P, Žák P, **Belada D**, Horáček J, Ceeová V. Zkušenosti s aplikací 90Y ibritumomab tiuxetanu (Zevalin) u pacientů s non- Hodgkinským lymfomem z pohledu nukleární medicíny. *Česká radiologie*, 2005, 59, s. 218-223.
4. Bláha M, Masin V, Stransky P, Cermanova M, Malý J, **Belada D**. Optimalization of the therapeutic procedure during LDL-apheresis – a computerized model. *Transfusion and Apheresis Science*, 2005, 32, s. 149-156. **IF 1,65**.
5. Sýkorová A, **Belada D**, Maisnar V, Voglová J, Žák P, Smolej L, Bukač J, Malý J. Výsledky léčby Hodgkinova lymfomu v letech 1996-2004 se zaměřením na léčbu relapsů a primárně progresivních onemocnění. *Transfúze a hematologie dnes*, 2005, 11(2), s. 40-46.
6. Smolej L, Andrýs C, **Belada D**, Maisnar V, Žák P, Široký O, Malý J. Plazmatické koncentrace solubilního endoglinu u nemocných s lymfoidními malignitami. *Transfúze a hematologie dnes*, 2006, 12(1), s. 37–39.
7. Kopáčová M, Rejchrt S, Tyčová V, **Belada D**, Pintérová M, Bureš J. Tumorous neo-vascularization: a newly recognized endoscopic feature of intestinal non-Hodgkin lymphoma. *Endoscopy*, 2006, 38, s. 224. **IF 4,072**.
8. **Belada D**, Pytlík R, Trněný M, Malý J. Efektivita rituximabu v rámci konsolidační léčby po chemoterapii CHOP u nemocných s folikulárním lymfomem. *Transfúze a hematologie dnes*, 2005, 11, (1), s. 10-13
9. **Belada D**, Smolej L, 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. *Vnitřní lékařství*, 2007, 53 (10), s. 645-651.
10. **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. *Lékařské zprávy Lékařské fakulty University Karlovy v Hradci Králové*, 2007, 52 (1), s. 35-45.

11. Motl R, Laco J, **Belada D**, Tyčová V. Difúzní B-velkobuněčný lymfom gingivy – popis případu. Lékařské zprávy Lékařské fakulty University Karlovy v Hradci Králové, 2007, 52 (1), s. 47-52.
12. Procházka V, Trněný M, Pytlík R, Vášová I, Král Z, **Belada D**, Kozák T, Kubáčková K, Šiffnerová H za Kooperativní Lymfomovou skupinu. Peripheral T-cell lymphoma, unspecified – the analysis of the data from the Czech Lymphoma Study Group registry. Biomed Pap Med Univ Palacky Olomouc Czech Republic, 2007; 151(1), s. 103-107.
13. **Belada D**. LYFE meeting, Mnichov 29.-30.3.2006. Transfúze a hematologie dnes, 2007, 13(2), s. 94.
14. Trněný M, Vášová I, Pytlík R, **Belada D**, Janovská M, Kubáčková K, Šálková J, Sýkorová A, Klener P za KLS. Distribuce podtypů non-Hodgkinského lymfomu v České republice a jejich přežití. Klinická onkologie 2007, 20 (5), s. 340-348.
15. Poznarová A, **Belada D**, Žák P. Hodgkinův lymfom – klasifikace a terapie. Seminář z vnitřního lékařství, Credit HK, 2003, s.7-10.
16. Trněný M, Vášová I, Kozák T, **Belada D**, Šiffnerová H, Kubáčková K, Papajík T, Lysý M, Fakan F, Kodet R, Petrová M, Klener P za Kooperativní lymfomovou skupinu. Význam klinického registru nemocných s lymfomy – přínos, možnosti a limitace. Klinická onkologie, 2004, Suppl., s.84-87.
17. Prausova D, Krejsek J, Zak P, Voglova J, **Belada D** - Importance of immunofenotyping in the diagnosis of B-cell lymphoproliferative disease. Vnitřní lékařství, 2004, 50 (1), s.45-53.
18. **Belada D**. Postavení protilátek v léčbě NHL. Seminář z vnitřního lékařství, 46.kurs, Credit HK, 2005, s. 15-17.
19. Beránek M, Voglová J, Sýkorová A, **Belada D**, Bláha M. Význam kvantitativního hodnocení transkriptů bcr-abl pomocí real-time PCR pro efektivní léčbu chronické myeloidní leukémie. Časopis lékařů českých, 2006, 145 (1), s.25-29.
20. **Belada D**. Diagnostika a staging lymfomů. Seminář z vnitřního lékařství, 59.kurs, Credit HK, 2006, s.17-20.
21. Penka M, Doubek M, Schwarz J, Pytlík R, Dulíček P, Voglová J, Široký O, **Belada D**, Dusek L. Anagrelid v léčbě esenciální trombocytémie a dalších myeloproliferací - data z registru českých pacientů léčených Anagrelidem. Vnitřní Lékařství, 2006, 52 (5), s. 498-503.
22. **Belada D**, Smolej L, Hrudková M, Štěpánková P, Sýkorová A, Žák P, Bukač J, Malý J. Addition of rituximab to chemotherapy significantly improves outcomes in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma. A single-center retrospective study. Acta Medica 2007, 50 (2), s. 113-118.
23. Trněný M, Vášová I, Pytlík R, Kozák T, **Belada D**, Šiffnerová H, Mayer J, Kubáčková K, Papajík T, Lysý M, Fakan F, Kodet R, Petrová M, Klener P. Kooperativní lymfomová skupina (Czech Lymphoma Study Group). Sborník XVIII. Brněnských onkologických dnů, edukační sborník, vydal MOÚ Brno, 2004, s. 230-233.
24. Vášová I, Pytlík R, Trněný M, Kozák T, Kubáčková K, **Belada D**, Mayer J, Pírnos P, Fakan F, Kodet R, Papajík T, Petrová M, Hofmanová Ž. Difúzní B velkobuněčný lymfom, charakteristika a léčba, data z registru Kooperativní lymfomové skupiny. Sborník XVIII. Brněnských onkologických dnů, edukační sborník, vydal MOÚ Brno, 2004, s. 235-237.
25. 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**

8.3. Přehledné články, statě ve sbornících

1. **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. Lékařské zprávy Lékařské fakulty University Karlovy v Hradci Králové, 2006; 51 (4), s. 271-280.
2. Smolej L, Žák P, **Belada D**, Malý J. Diagnostika a léčba chronické lymfatické leukémie. Lékařské zprávy Lékařské fakulty University Karlovy v Hradci Králové, 2007, 52 (1), s. 23-34.
3. **Belada D**, Sýkorová A, Žák P, Malý J. Současný pohled na léčbu nemocných s folikulárním B-nehodgkinovým lymfomem, nové trendy v léčbě tohoto onemocnění. Sborník XVIII. Brněnských onkologických dnů, edukační sborník, vydal MOÚ Brno, 2004, s. 237-240.
4. **Belada D**. Folikulární lymfom – možnosti standardní léčby v roce 2007. XIV. Jihočeské onkologické dny - sborník přednášek, 2007, s. 49-52.
5. **Belada D**. Folikulární lymfom – možnosti standardní léčby v roce 2007. Farmakoterapie, 2007 (Suppl.), v tisku.
6. **Belada D**. Existují standardy péče o nemocné s lymfomy?. Farmakoterapie 2007, (Suppl.), v tisku.

8.4. Abstrakta z tuzemských konferencí

1. **Belada D**, Dulíček P, Malý J. Krvácivý stav po požití rodentocid. Trombóza a hemostáza 2001. Hradec Králové, Nucleus, 2001, s. 58.
2. **Belada D**. Efekt záchranného režimu ESAP v léčbě pacientů s relapsem Hodgkinovy choroby. Olomoucké hematologické dny, 2001, s.63.
3. **Belada D**, Poznarová A, Žák P, Maisnar V. Výsledky léčby pacientů s Hodgkinovým lymfomem za roky 1998-2001 na OKH, nové trendy v léčbě tohoto onemocnění. Olomoucké hematologické dny, 24.5.2002, s.45.
4. **Belada D**, Žák P, Malý J. Nové trendy v léčbě nemocných s DLBCL. XXII.dny mladých internistů, Olomouc, 29-30.5.2003, s. 60.
5. **Belada D**, Žák P, Maisnar V, Malý J. Výsledky léčby nemocných s relapsem DLBCL pomocí záchranného režimu R-ICE – první zkušenosti. XVII.Olomoucké hematologické dny, Olomouc 4.-7.6.2003, s.107.
6. **Belada D**, Poznarová A, Žák P, Malý J. Angina pectoris vyžadující chirurgický zákrok jako pozdní následek radioterapie u mladé pacientky s Hodgkinovým lymfomem. X.Jihočeské onkologické dny, Český Krumlov, 9.-12.10.2003, s.32.
7. Poznarová A, Míčková J, **Belada D**, Žák P. Pozitivita MRSA u 2 nemocných s HL léčených terapií eskalovaný BEACOPP. X.Jihočeské onkologické dny, Český Krumlov, 9.-12.10.2003, s. 48.
8. Vášová I, Trněný M, Žák P, **Belada D**, Pytlík R, Váňková V, Papajik T, Vondráková J, Campr V, Petrová M za KLS a Pfreundschuh M., Loffler M.za MINT – MabThera International trial. Mezinárodní randomizovaná studie primární léčby nemocných mladších 60 let s difúzním velkobuněčným B lymfomem s nízkým a středně nízkým rizikem srovnávající CHOP like režim s rituximabem nebo bez rituximabu, první interim analýza. XVIII. Olomoucké hematologické dny, 2004, s. 48.
9. Trněný M, Vášová I, Šálková J, Mayer J, Navrátil M, Pytlík R, Benešová E, Kofešková E, Karban J, Kozák T, Jankovská M, Kubáčková K, **Belada D**, Žák P, Petrová M za Kooperativní lymfomovou skupinu - Charakteristika 584 nemocných léčených pro difúzní velkobuněčný lymfom B řady – analýza Kooperativní lymfomové skupiny. XVIII. Olomoucké hematologické dny, 2004, s. 50.

10. Pytlík R, Trněný M, **Belada D**, Kubáčková K, Pírnos J, Jankovská M, Pukyová J, Příbylová J, Papajík T, Kozák T, Klener P za Kooperativní lymfomovou skupinu -Tři generace Mega-CHOP režimů pro léčbu rizikových difúzních B velkobuněčných lymfomů. XVIII. Olomoucké hematologické dny, 2004, s. 50.
11. Vášová I, Trněný M, **Belada D**, Pírnos J, Kubáčková K, Jankovská M, Pytlík R, Benešová K, Hamouzová M za KLS. Primární lymfomy centrálního nervového systému – data z registru Kooperativní lymfomové skupiny (KLS). XVIII.Olomoucké hematologické dny, 2004, s. 58.
12. Tomiška M, Vášová I, Jankovská M, Trněný M, **Belada D**, Kubáčková K, Pírnos J, Hamouzová M za KLS. Výsledky léčby primárních lymfomů zažívacího traktu v České republice. XVIII. Olomoucké hematologické dny, 2004, s. 50.
13. Vášová I, Boudová L, Pírnos J, **Belada D**, Jankovská M, Trněný M, Fakan F, Hamouzová M za KLS. Primární testikulární lymfom – klinicko-patologická multicentrická retrospektivní studie a data z registru KLS. XVIII. Olomoucké hematologické dny, 2004, s. 51.
14. Smolej L, Žák P, **Belada D**, Maisnar V, Voglová J, Duliček P, Malý J. Alemtuzumab v léčbě refraktérní a relabující B-CLL – naše zkušenosti. XVIII. Olomoucké hematologické dny, 2004, s. 61.
15. Sýkorová A, **Belada D**, Žák P, Malý J. Výskyt infekcí u pacientů s pokročilým stadiem Hodgkinova lymfomu léčených chemoterapií BEACOPP. XVIII. Olomoucké hematologické dny, 2004, s. 46.
16. Smolej L, Andrys C, Pour L, Maisnar V, **Belada D**, Žák P, Sýkorová A, Voglová J, Bláha M., Malý J. Hodnocení plazmatických koncentrací angiogenních aktivátorů bFGF a VEGF metodou ELISA u lymfoproliferativních onemocnění. XVIII. Olomoucké hematologické dny, 2004, s. 70.
17. Bláha M, Mašín V, Stránský P, Bláha V, Cermanová M, Malý J, **Belada D**. Laboratory assesment of absorber efficacy during LDL – Apheresis. Dny laboratorní hematologie, Hradec Králové, HK Credit, 2004, s. 77.
18. Smolej L, Andrys C, Maisnar V, **Belada D**, Žák P, Široký O, Sýkorová A, Voglová J., Pour L, Malý J, Penka M. Significance of plazma soluble endoglin in patients with lymphoid malignancies: a pilot study. 1.konference Společnosti radiační onkologie, biologie a fyziky, Hradec Králové, 25.-26.5.2005, s. 144.
19. Trněný M, Vášová I, **Belada D**, Pytlík R, Pírnos J, Loeffler M, Pfreundshuch M. Randomizovaná studie srovnávací CHOP-like režim s rituximabem a samotný CHOP-like režim u nemocných s DLBCL s nízkým rizikem mladších 60 let (za KLS a MINT skupinu). XIX.Olomoucké hematologické dny, 2005, s. 9.
20. Pytlík R, Trněný M, **Belada D**, Kubáčková K, Vášová I, Pírnos J, Pukyová J, Příbylová J, Jankovská M, Papajík T, Kozák T, Šiffnerová H, Hamouzová M, Klener P za KLS. 101 pacientů s rizikovým agresivním lymfomem léčeným protokolem MegaCHOP/ESAP/BEAM +- Rituximab. Vývoj léčebného konceptu. XIX.Olomoucké hematologické dny, 2005, s. 9.
21. Vášová I, **Belada D**, Pytlík R, Jarkovský J, Jankovská M, Pírnos J, Kubáčková K, Papajík T, Bolomská I, Matuška M, Jakešová J, Fakan F, Kodet R, Hamouzová M za KLS. Primární extranodální lymfomy: analýza 653 nemocných z registru KLS. XIX.Olomoucké hematologické dny, 2005, s. 7.
22. **Belada D**. Význam rituximabu a vysokodávkované léčby u nemocných s difúzním B-velkobuněčným lymfomem – zkušenosti centra. XIX.Olomoucké hematologické dny, 2005, s. 8.
23. Voglová J, Bláha M, Beránek M, Maisnar V, Sýkorová A, Rabasová J, **Belada D**. Mobilizace a sběr periferních kmenových buněk u nemocných s chronickou myeloidní

- leukémií v kompletní cytogenetické remisi navozené imatinibem. XIX.Olomoucké hematologické dny, 2005, s. 67.
24. Vášová I, **Belada D**, Jankovská M, Pírnos J, Kubáčková K, Papajík T, Bolomská I, Matuška M, Jakešová J, Fakan F, Kodet R, Petrová M, Trněný M, Klener P za KLS. Význam klinického registru nemocných s lymfomy – přínos, možnosti, limity. XIX.Olomoucké hematologické dny, 2005, s. 29.
 25. Hrudková M, **Belada D**, Maisnar V, Malý J. Kazuistika – Burkitt-like lymfom. XIX.Olomoucké hematologické dny, 2005, s. 33.
 26. Smolej L, **Belada D**, Malý J. Perorální fludarabin a cyklofosamid v kombinaci s rituximabem (FCR) v léčbě refrakterní a relabující B-CLL a folikulárního lymfomu – první zkušenosti. XIX.Olomoucké hematologické dny, 2005, s. 35.
 27. Holubová V, Sobotka J, Smolej L, Břejcha M, **Belada D**, Blahutová Š. Prognosticky významné chromozómové aberace u pacientů s B-CLL identifikované metodou I-FISH. XIX.Olomoucké hematologické dny, 2005, s. 36.
 28. Smolej L, Andrýs C, Žák P, **Belada D**, Široký O, Malý J. Angiogenní aktivátory jsou zvýšeny u B-CLL. XIX.Olomoucké hematologické dny, 2005, s. 28.
 29. 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. Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, 9.-10.12.2005, Olomouc, Sborník abstrakt, 47-8.
 30. 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. Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie – 9.-10.12.2005, Olomouc, Sborník abstrakt, s. 49.
 31. Bláha M, Cermanová M, Bláha V, Mašín V, Blažek M, Jebavý L, Široký O, Malý J, **Belada D**. Performance of LDL-apheresis and its relation to the quality of the adsorbers. IX.kongres o ateroskleróze – Špindlerův Mlýn, 1.-3.12.2005, Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, 2005, 8 (Suppl.3), s. 20.
 32. 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. 2.konference Společnosti radiační onkologie, Hradec Králové. 3.-4.3.2006, s. 250.
 33. Smolej L, Andrýs C, Žák P, **Belada D**, Široký O, Hrudková M, Novosad J, Krejsek 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. 2.konference Společnosti radiační onkologie, Hradec Králové 3.-4.3.2006, s. 247.
 34. Doubek M, Pytlík R, Schwarz J, Hluší A, Dulíček P, Voglová J, Široký O, **Belada D**, Dušek L, Penka M. Anagrelid v léčbě esenciální trombocytémie a dalších myeloproliferací – data z registru českých pacientů léčených Anagrelidem. XX.Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5. – 2.6.2006, s. 8.
 35. Trněný M, **Belada D**, Vášová I, Pytlík R, Kozák T, Kubáčková K, Pírnos J, Hamouzová M. Rituximab signifikantně zlepšuje osud mladých nemocných s difuzním B-velkobuněčným lymfomem (DLBCL) a špatným prognostickým rizikem dle IPI. XX.Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.–2.6.2006, s. 8.
 36. Vášová I, Pytlík R, Trněný M, **Belada D**, Jankovská M, Kubáčková K, Matuška M za Kooperativní lymfomovou skupinu. CNS relapsy u nemocných s rizikovými agresivními lymfomy léčenými dle protokolů KLS s intenzivní indukci a

- vysokodávkovanou konsolidací. XX.Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.2006 – 2.6.2006, s. 10.
37. Křpatová J, Fofová Ž, **Belada D**, Pavlicová V. Ambulantní podání rituximabu a možné komplikace léčby. XX.Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.2006 – 2.6.2006, s. 12.
 38. 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 fibroblastic factor but not vascular endothelial growth factor. XX.Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.2006 – 2.6.2006, s. 21.
 39. Smolej L, **Belada D**, Žák P, Malý J. Perorální fludarabin a cyclofosamid + rituximab (FCR) v léčbě chronické lymfocytární leukémie. XX.Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.2006 – 2.6.2006, s. 21.
 40. Procházka V, Trněný M, Vášová I, **Belada D**, Campr V, Kodet R, Petrová M, Hamouzová M. za KLS. Periferní T-nehodgkinské lymfomy: analýza z data Kooperativní lymfomové skupiny (KLS) ČR. XX.Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.2006 – 2.6.2006, s. 22.
 41. **Belada D**, Smolej L, Žák P, Malý J. Výsledky léčby nemocných s relabujícím folikulárním lymfomem pomocí režimu R-COP. XX.Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.2006 – 2.6.2006, s. 22.
 42. Bělohávková P, Zavrčelová A, Cermanová M, Žák P, **Belada D**, Voglová J, Jebavý L, Malý J. Sekundární MDS/AML po autologní transplantaci pro lymfom s využitím BEAM. XX.Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 31.5.2006 – 2.6.2006, s. 23.
 43. **Belada D**, Žák P, Malý J, Šáiková J, Kolečková E, Pytlík R, Trněný M. Výsledky podávání rituximabu v rámci konsolidační léčby po chemoterapii CHOP u nemocných s folikulárním B nehodgkinským lymfomem. XVIII. Olomoucké hematologické dny, sborník abstrakt, 2004, s. 49.
 44. Beránek M, **Belada D**, Dvořáková D, Mayer J, Palička V. Nested PCR for detection of t(14,18) MBR translocation in NHL patients. Symposium klinické biochemie, Pardubice, 19.9.-21.9.2004, s. 147.
 45. **Belada D**, Beránek M, Palička V, Malý J. Detekce translokace t(14,18) MBR u pacientů s folikulárním B-nehodgkinským lymfomem pomocí nested PCR. Dny laboratorní hematologie, 24.-26.11.2004, Hradec Králové, sborník abstrakt, s. 76.
 46. **Belada D**, Beránek M, Palička V, Dvořáková D, Malý J. Výsledky stanovení Bcl-2/IgH přestavby u nemocných s nově diagnostikovaným folikulárním B-nehodgkinským lymfomem za období 2001-2004. Laboratorní hematologie, Hradec Králové, Credit HK, 2005, s.77-78.
 47. **Belada D**, Bukač J, Dvořáková D, Beránek M, Štěpánková P, Smolej L, Malý J. Vymizení Bcl-2/IgH pozitivita v periferní krvi/kostní dřeni po léčbě je u nemocných s folikulárním lymfomem spojeno s lepší prognózou onemocnění. XXI.Olomoucké hematologické dny, 16.-19.6.2007, sborník abstrakt, s.65.
 48. Smolej L, **Belada D**, Žák P. Monoklonální protilátky v léčbě chronické lymfocytární leukémie. XXX.Brněnské onkologické dny, edukační sborník, vydal MOU Brno, 2006, s. 93.
 49. 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. XXX.Brněnské onkologické dny, edukační sborník, vydal MOU Brno, 2006, s. 298.
 50. 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 Petera J., Odrážka K.: Radiační onkologie 2006, Hradec Králové, s. 249-250.
51. 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, s. 247-8.
 52. Smolej L, Andrýs C, Kašparová P, Vokurková D, **Belada D**, Žák P, Hrudková M, Krejsek J, Malý J. Komplexní hodnocení angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie: mikrovaskulární denzita, angiogenní cytokiny a cirkulující mikropartikelule. - Laboratorní hematologie, HK Credit, 2006, s. 145.
 53. Smolej L, Hrudková M, Andrýs C, **Belada D**, Pour L, Žák P, Malý J. Plasma soluble endoglin (sCD105) concentration in patients with lymphoid malignancies – a pilot study. Sborník abstrakt - II. Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, Olomouc, 2006, s. 48.
 54. Smolej L, Hrudková M, Andrýs C, Kašparová P, **Belada D**, Malý J. Komplexní hodnocení angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie. In Sborník abstrakt:II. Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, Olomouc, 2006, s. 48-49.
 55. Smolej L, Hrudková M, Andrýs C, Peková S, Schwarz J, **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 Sborník abstrakt II. Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, Olomouc, 2006, s. 48.
 56. Smolej L, Kašparová P, Žák P, **Belada D**, Hrudková M, Malý J. Bone marrow angiogenesis in chronic lymphocytic leukemia: prognostic implications. In Sborník abstrakt Pražský hematologický den, Praha, Karolinum, 2006, s. 17.
 57. **Belada D**. Lymfomy tenkého střeva z pohledu hematologa. XI.Hradecké gastroenterologické dny, 2007, s. 35.
 58. Trněný M, Vášová I, Pytlík R, **Belada D**, Jankovská M za KLS Epidemiologie a distribuce lymfomů v České republice. XXI.Olomoucké hematologické dny, 16.-19.6.2007, s. 54.
 59. Vášová I, Janovská M, Papajík T, Kubáčková K, **Belada D**, Pytlík R, Trněný M, Křen L, Campr V, Fakan F. Burkittův lymfom: přehled diagnostiky a léčba a data z registru KLS. XXI.Olomoucké hematologické dny, 16.-19.6.2007, s. 55.
 60. Voglová J, Fáber E, **Belada D**, Klamová H, Gumulec J. Další malignity u nemocných s chronickou myeloidní leukémií léčených imatinibem. XXI.Olomoucké hematologické dny, 16.-19.6.2007, s. 63.
 61. Štěpánková P, **Belada D**, Bláha M, Maisnar V, Malý J. Analýza průběhu separaci periferních kmenových buněk u nemocných s maligními lymfomy s ohledem na optimální načasování sběru. XXI.Olomoucké hematologické dny, 16.-19.6.2007, s. 67.
 62. Hrudková M, Smolej L, Malý J, **Belada D**, Žák P, Peková S, Schwarz J. Kombinace mutačního stavu IgVH a cytogenetických odchylek může zpřesnit prognózu u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií. XXI.Olomoucké hematologické dny, 16.-19.6.2007, s. 84.
 63. Hrudková M, Smolej L, **Belada D**, Žák P, Malý J. Léčba chronické lymfocytární leukémie režimem FCR (perorální fludarabin a cyklofosamid+rituximab) – zkušenosti jednoho centra. XXI.Olomoucké hematologické dny, 16.-19.6.2007, s. 85.
 64. Smolej L, Andrýs C, Novosad J, **Belada D**, Žák P, Krejsek J, Hrudková M, Široký O, Malý J. Correlation of ZAP-70 expression with angiogenic cytokines in chronic lymphocytic leukemia. XXI.Olomoucké hematologické dny, 16.-19.6.2007, s. 86.

65. Štěpánková P, **Belada D**, Králíčková P, Koblížek J, Malý J. Úskalí léčby difúzního B-velkobuněčného lymfomu u nemocného s Jobovým syndromem. XIV. Jihočeské onkologické dny, Český Krumlov, 2007, s. 124.
66. Hrudková M, **Belada D**, Vališ M, Hornychová H, Abuhajar M, Malý J. Progressivní multifokální leukoencefalopatie – vzácná komplikace po podání chemoterapie a rituximabu u nemocného s lymfomem XIV. Jihočeské onkologické dny, Český Krumlov, 2007, s 126.

8.5. Abstrakta z mezinárodních konferencí

1. **Belada D**, Smolej L, Beránek M, Dvořáková D, Štěpánková P, Bukač J, Malý J. Bone marrow/peripheral blood positivity of Bcl-2/IgH rearrangement in patients with follicular lymphoma before treatment has no prognostic significance. *Hematologica – the hematology journal*, 2007; Vol.92 (Suppl.1), s.517, **IF 4,57**.
2. **Belada D**, Smolej L, Beránek M, Dvořáková D, Štěpánková P, Bukač J, Malý J. Achievement of Bcl-2/IgH negativity in peripheral blood/bone marrow is associated with better clinical outcome in patients with follicular lymphoma. *Hematologica – the hematology journal*, 2007; Vol.92 (Suppl.1), s.533, **IF 4,57**.
3. Trněný M, Pytlík R, Mayer J, Vášová I, Maisnar V, Papajík T, Kubáčková K, Matuška M, **Belada D**, Kozák T, Žák P, Klener P. The survivala benefit of intensified induction and/or high-dose consolidation in high-risk diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) patients: data from the Czech Lymphoma Study Group. *Blood*, 104 (Suppl.), s.376. **IF 10,131**.
4. Žák P, Kmoníček M, Jebavý V, Maisnar V, **Belada D**, Malý J. Allogenic stem cell transplantation with reduced intensity conditioning for poor prognosis lymphoma (a single centre experience). *Bone marrow transplantation*, 2002, s. 236. **IF 2,64**.
5. Poznarová A, Voglová J, Beránek M, Rabatová J, **Belada D**, Mašín J. Comparison of cytogenetic and molecular genetic methods in patients with chronic phase of chronic myeloid leukemia (CML) treated with imatinib mesylate. *Haematology Journal*, 2003, s. 1802. **IF 4,57**.
7. Pytlík R, Kubáčková K, Žák P, Janovská M, Pirnos J, Papajík T, **Belada D**, Vášová I, Hamouzová M and Trněný M. Treatment of high-risk mediastinal diffuse large B-cell lymphoma with MegaCHOP and autologous transplant. *Haematology Journal*, 2004, 5 (Suppl.2), str. 350. **IF 4,57**.
8. Pytlík R, **Belada D**, Pirnos J, Kubáčková K, Vášová I, Hamouzová M, Trněný M. Treatment of high risk diffuse large B cell lymphoma with rituximab, MegaCHOP and autologous transplant. *Haematology Journal*, 2004, 5 (Suppl.2), s. 234. **IF 4,57**.
9. Sýkorová A, **Belada D**, Žák P, Malý J. Infections in patients with advanced Hodgkin's disease treated with escalated BEACOPP. *Haematology Journal*, 2004, 5 (Suppl.2), s. 165. **IF 4,57**.
10. Vosmik M, Odrážka K, Petera J, Sýkorová A, **Belada D**, Zouhar M. Can we expect any benefit from IMRT in Hodgkin's disease? *European Journal of hematology*, 2004, 73 (Suppl 65), s. 14. **IF 2,004**.
11. Pytlík R, Kubáčková K, Kozák T, **Belada D**, Papajík T, Siffnerová H, Žák P, Vášová I, Hamouzová M, Trněný M. Favorable outcome of high risk mediastinal diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) after dose-intensive chemotherapy, rituximab and autologous transplant (ASCT). *Blood*, 2004, 104 (11), Suppl., str. 372. **IF 10,131**.
12. Voglová J, Bláha M, Beránek M, Maisnar V, Sýkorová A, Rabasová J, **Belada D** Collection of peripheral blood stem cells in chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib. *EBMT*, 2005, s. 136. **IF 2,64**.

13. **Belada D**, Žák P, Sýkorová A, Zavřelová A, Smolej L, Malý J. Rituximab improves outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) – single centre retrospective study. *Annals of Oncology*, 2005, 16 (Suppl.5), s. 178. **IF 4,319**.
14. Pytlík R, Trněný M, **Belada D**, Kubáčková K, Vášová I, Pírnos J, Papajík T, Klener P. For the Czech Lymphoma Study Group. Treatment of 101 high risk aggressive B-cell lymphoma patients with MegaCHOP-BEAM regimen +- rituximab : The evolution of the concept. *Annals of Oncology*, 2005, 16 (Suppl.5), s. 175. **IF 4,319**.
15. **Belada D**, Žák P, Sýkorová A, Zavřelová A, Smolej L, Malý J. Rituximab improves outcome in patients with diffuse Large B-cell lymphoma. A single centre retrospective study. *Haematologica/The Haematology Journal*, 2005, 90, s. 99. **IF 4,57**.
16. Sykorova A, **Belada D**, Maisnar V, Voglova J, Zak P, Smolej L, Malý J. Retrospective analysis of treatment of primary progressive and/or relapsed Hodgkin's disease in 1996-2004. *Haematologica/The Haematology Journal*, 2005, 90, s. 413. **IF 4,57**.
17. Smolej L, Zak P, **Belada D**, Maisnar V, Mały J, Voglova J. Orať fludarabine and Cyclophosphamide plus rituximab (FCR) is a safe and effective salvage treatment of patients with relapsed/refractory B-cell chronic lymphoblastic leukemia and follicular lymphoma. *Haematologica/The Haematology Journal*, 2005, 90, S2, s. 444. **IF 4,57**.
18. Smolej L, Andrys C, Zak P, **Belada D**, Siroky O, Malý J. Basic fibroblastic growth factor (BFGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) are elevated in patients with early stage B-cell chronic lymphoblastic leukemia. *Haematologica/The Haematology Journal*, 2005, 90, S2, s. 444. **IF 4,57**.
19. Smolej L, Andrys C, Široký O, **Belada D**, Žák P, Malý J. Angiogenic activators in B-cell chronic lymphocytic leukemia: association with lhVH mutation status and genetic abnormalities. *Leukemia and Lymphoma*, 2005, 46 (suppl.1), s. 42. **IF 1,29**.
20. Holubová V, Sobotka J, Smolej L, Brejcha M, Gumulec J, Žák P, **Belada D**, Blahutová S. Identification of prognostic chromosomal aberrations in chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). *Chromosome Research*, 2005, 13 (Suppl.1), s.132. **IF 3,007**.
21. **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, Vysoké Tatry, Štrbské pleso, s. 21.
22. Trněný M, **Belada D**, Vášová I, Pytlík R, Kozák T., Sýkorová A, Kubáčková K, Pírnos J, Bolomská I, Petrová M, Hamouzová M, Klener P. za Kooperativní lymfomovou skupinu (Czech lymphoma study group. Rituximab v kombinaci s chemoterapií s antracyklinovým režimem významně zlepšuje přežití nemocných s difúzním B-velkobuněčným lymfomem B řady (DLBCL) mladších 60 let. XIV.Slovensko-český hematologický a transfuziologický sjezd s mezinárodní účastí, 29.9.-2.10.2005, Vysoké Tatry, Štrbské pleso, s. 21.
23. Trněný M, Andrašina I, **Belada D**, Berč A, Genserková H, Guman T, Indrák K, Jankovská M, Kafková A, Klener P. Dávková Intenzita v léčbě maligních lymfomů v České a Slovenské republice – retrospektivní studie. XIV.Slovensko-český hematologický a transfuziologický sjezd s mezinárodní účastí – 29.9.-2.10.2005, Vysoké Tatry, Štrbské pleso, s. 22.
24. Pytlík R, Trněný M, **Belada D**, Pírnos J, Kubackova K, Vasova I, Kozak T, Pukyova J, Pribylova J, Zak P, Hamounova M, Klener P. Treatment of High Risk Diffuse Large B-cell Lymphomas (DLBCL) with Intensive Induction Chemotherapy, Rituximab and Autologous Stem Cell Transplant Czech Lymphoma Study Group, *Blood*, 2005, 106, s. 269. **IF 10,131**.

25. Trnėny M, **Belada D**, Vasova I, Pytlik R, Kozak T, Sykorova A, Kubackova K, Pimos J, Bolomska I, Petrova M. Rituximab Combination with Anthracyclin Based Chemotherapy Significantly Improved the Outcome of Young Patients with Diffuse Large B-cell Lymphoma in low as well in High Risk Subgroups Czech Lymphoma Study Group. *Blood*, 2005, 106, p. 2444. **IF 10,131.**
26. Smolej L, Andrys C, Siroky O, **Belada D**, Zak P, Hrudkova M, Krejssek J, Maly J. Angiogenic activators in B-cell chronic lymphocytic leukemia: association with IgVH mutation status and genetic abnormalities. *Haematologica*, 2006, (Suppl.1), abs. 1404. **IF 5,032.**
27. Smolej L, Andrys C, Pekova S, Schwarz J., Zak P, **Belada D**, Krejssek 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, abs.269. **IF=3,195**
28. Smolej L, Andrys C, **Belada D**, Pour L, Zak P, Krejssek 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, abs. 269. **IF=3,195.**
29. Smolej L, Andrýs C, Pekova S, Holubova V, **Belada D**, Zak P, Siroky O, Hrudkova M, Novosad J, Krejssek J, Maly J. Angiogenic cytokines in B-cell chronic lymphocytic leukemia: association with IGvH mutation status and genetic abnormalities. *Haematologica/the hematology journal*, 2006, 91 (s1), abs.1404. **IF 4,57.**
30. Pytlik R, **Belada D**, Kubáčková K, Kozák T, Janovská M, Vášová I, Trněný M. Intensive induction is beneficial for high risk younger patients with aggressive B-cell lymphoma, while frontline ASCT brings no benefit: final analysis of MegaCHOP-BEAM and MegaCHOP-ESAP-BEAM studies. *Blood*, 2006, 108, s. 255b. **IF 10,131.**
31. 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, abs. 4943. **IF 10,131**
32. Smolej L, Hrudkova M, Zak P, **Belada D**, Pekova S, Kucerova I, Holubova V. Combination of IGvH mutational status and genetic abnormalities may further refine prognostic stratification in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Hematologica – the hematology journal*, 2007; 92 (Suppl.1), Abs.125. **IF 4,57.**
33. Smolej L, Andrys C, Vrablova V, Novosad J, **Belada D**, Zak P, Krejssek J, Maly J. Association of ZAP-70 expression with plasma levels of angiogenic activators in chronic lymphocytic leukemia. *Hematologica – the hematology journal*, 2007, 92 (Suppl.1), abs. 353. **IF 4,57.**
34. Smolej L, Kasparova P, **Belada D**, Zak P. Choice of endothelial markers is crucial for quantification of bone marrow microvessel density in chronic lymphocytic leukemia. *Hematologica – the hematology journal*, 2007; 92 (Suppl.1), abs.1087. **IF 4,57.**
35. Stepankova P, **Belada D**, Zavrelouva A, Sykorova A, Smolej L. Are four cycles of BEACOPP escalated plus four cycles of BEACOPP baseline an appropriate treatment option for patients with advanced stage Hodgkin's lymphoma? A single center retrospective analysis. *Haematologica/the hematology journal*, 2007, 92(s5), abs. 110. **IF 4,57.**
36. Trnėny M, Pytlik R, **Belada D**, Kubackova K, Vasova I, Sykorova A, Kozak T, Podnos J, Matuska M, Bolomska I, Pribylova J, Hamounova M, and Klener P - Czech Lymphoma Study Group. Treatment of Diffuse Large B-Cell Lymphoma with Rituximab, Intensive Induction and High-Dose Consolidation: The Final Analysis of the Czech Lymphoma Study Group (CLSG) R-MegaCHOP-ESHAP-BEAM (R-MEB) Trial. *Blood*, 2007, 110, abs.21. **IF 10,37.**