

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



Prognostické faktory u chronické lymfocytární leukemie

Monika Motyčková

**Autoreferát disertační práce
Doktorský studijní program vnitřní nemoci**

**Hradec Králové
2013**

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu vnitřní nemoci na Katedře interních oborů Lékařské fakulty UK v Hradci Králové.

Autor: MUDr. Monika Motyčková, IV. interní hematologická klinika Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Školitel: doc. MUDr. Pavel Žák, Ph.D., IV. interní hematologická klinika Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Oponenti: prof. MUDr. Michal Doubek, Ph.D., Interní hematologická a onkologická klinika Lékařské fakulty Masarykovy Univerzity a Fakultní nemocnice Brno

doc. MUDr. Tomáš Papajík, CSc., Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice v Olomouci

Obhajoba disertační práce se bude konat před Komisí pro obhajobu disertačních prací doktorského studijního programu Vnitřní nemoci dne 1.7.2013

Tato práce vznikla za podpory: výzkumného záměru PRVOUK P37/08/400 Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové, výzkumného záměru MZO 00179906 a grantu IGA NT/13412-4

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové (tel. 495 816 131).

prof. MUDr. Jan Bureš, CSc.

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací
v doktorském studijním programu vnitřní nemoci

Obsah

1. Souhrn	4
2. Summary	5
3. Úvod do problematiky.....	6
4. Cíle disertační práce	7
5. Pacienti a metodiky	7
6. Výsledky.....	9
6.1 Hodnocení sérových koncentrací tumor nekrotizujícího faktoru- α a jejich souvislost s prognostickými faktory a klinickým průběhem CLL	9
6.2 Hodnocení sérových koncentrací transformujícího růstového faktoru beta-1 (TGF- β 1) a exprese receptoru typu II pro TGF- β a jejich souvislost s prognostickými faktory a klinickým průběhem CLL.....	10
6.3 Hodnocení sérových koncentrací fibroblastového růstového faktoru-2 a exprese receptoru typu 2 pro FGF-2 a jejich souvislost s prognostickými faktory a klinickým průběhem CLL.....	11
7. Diskuze.....	12
8. Závěry	14
9. Použitá literatura.....	16
10. Přehled publikační činnosti autora.....	22
10.1 Monografie a kapitoly v monografiích	22
10.2 Původní články.....	22
10.3 Statě ve sbornících	23
10.4. Přehledové články	31
10.5. Přednášky na odborných setkáních, které přednesl autor DP.....	31

1. Souhrn

Úvod: Jedním z hlavních trendů u chronické lymfocytární leukemie (CLL) se v posledních letech stalo hledání nových prognostických faktorů umožňujících zpřesnit prognózu, a předpovědět tak klinický průběh onemocnění již v době stanovení diagnózy s možností načasování a přizpůsobení intenzity léčby individuálnímu riziku nemocného. *Cíle práce:* Cílem naší práce bylo zhodnocení prognostického významu vybraných ukazatelů apoptózy a angiogeneze a jejich vztahu ke klasickým a novým prognostickým faktorům a ke klinickému průběhu CLL. *Pacienti a metodiky:* Byly měřeny sérové koncentrace tumor nekrotizujícího faktoru alfa (TNF- α), transformujícího růstového faktoru beta-1 (TGF- β 1) a fibroblastového růstového faktoru-2 (FGF-2) metodou ELISA a exprese receptoru typu II pro TGF- β (TGF β R2) a receptoru typu 2 pro FGF-2 (FGFR2) průtokovou cytometrií na lymfocytech periferní krve u 75 neléčených pacientů s CLL (47 mužů a 28 žen, medián věku 65 let, rozmezí 38-82 let). *Výsledky:* Sérové koncentrace TNF- α byly významně vyšší u nemocných s CLL v porovnání s kontrolní skupinou ($p < 0,0001$) a byly spojeny s nepříznivou prognózou: významně vyšší TNF- α měli nemocní s vysokým rizikem dle Raie v porovnání s nemocnými s nízkým i středním rizikem ($p = 0,0008$, resp. $p = 0,0097$), nemocní s vysokou hodnotou sérového beta 2-mikroglobulinu ($p = 0,045$), masivní lymfadenopatií ($p = 0,0083$), nemutovanými geny pro variabilní části těžkých řetězců imunoglobulinů ($p = 0,041$) a nepříznivými cytogenetickými aberacemi ($p = 0,0014$). Nemocní s progredující CLL měli významně vyšší hodnoty TNF- α než nemocní se stabilním průběhem ($p = 0,0009$) a období do zahájení léčby bylo významně kratší u pacientů s vyššími koncentracemi TNF- α ($p = 0,0049$). Zvýšené koncentrace TGF- β 1 byly naopak spojeny s příznivou prognózou: významně vyšší TGF- β 1 byl zjištěn u nemocných s nízkým rizikem dle Raie v porovnání s vysokým rizikem ($p = 0,011$), u nemocných bez masivní lymfadenopatie ($p = 0,041$), s mutovanými IgVH geny ($p = 0,012$) a negativitou ZAP-70 (zeta-asociovaný protein o 70 kilodaltonech) ($p = 0,044$). Nemocní s progredující chorobou měli významně nižší TGF- β 1 než nemocní se stabilním onemocněním ($p = 0,0014$). Období do zahájení léčby bylo významně delší u nemocných s vyšším TGF- β 1 ($p = 0,016$). U nemocných s vysokým rizikem dle Raie v porovnání s nemocnými s nízkým rizikem byla zjištěna významně nižší exprese TGF β R2 ($p = 0,022$). Významně vyšší sérové koncentrace FGF-2 měli nemocní s CLL oproti kontrolní skupině ($p < 0,0001$). Exprese FGFR2 byla významně nižší u nemocných s CLL ve srovnání s kontrolní skupinou ($p = 0,042$). Prognostický význam FGF-2 ani exprese FGFR2 nebyl prokázán. Statisticky významnými a nezávislými prognostickými faktory pro celkové přežití byly zvýšené sérové koncentrace TNF- α a masivní lymfadenopatie (hodnocená ultrasonografickým vyšetřením, UZ) ($p = 0,036$, resp. $p = 0,047$). *Závěry:* Vyšší sérové koncentrace TNF- α jsou v našem souboru nepříznivým ukazatelem, naopak vyšší koncentrace TGF- β 1 značí prognózu příznivou. Další výzkum TNF- α a TGF- β 1 je cenný také z léčebného hlediska, neboť signální dráhy těchto cytokinů by se mohly stát terapeutickým cílem u nemocných s CLL. Nízká exprese TGF β R2 by u pokročilých stádií mohla přispívat k odolnosti na anti-proliferační působení TGF- β a horší prognóze. Masivní lymfadenopatie je negativním ukazatelem, k její detekci je vhodné zavedení UZ vyšetření do rutinní praxe.

2. Summary

Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia

Introduction: Search for new prognostic markers in order to improve prognostic accuracy and predict clinical outcome at the time of diagnosis has recently become one of the major trends in chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Aims of the project:* Assessment of selected markers of apoptosis and angiogenesis and their potential as new prognostic factors and correlation with conventional and modern prognostic factors and clinical course. *Patients and Methods:* We evaluated serum levels of tumor necrosis factor alpha (TNF- α), transforming growth factor beta-1 (TGF- β 1) and fibroblast growth factor-2 (FGF-2) using commercially available enzyme-linked immunosorbent assay; furthermore, we quantified expression of type II receptor for transforming growth factor beta (TGF β RII) and type 2 receptor for FGF-2 (FGFR2) on CLL cells using flow cytometry analysis in 75 previously untreated patients with CLL (47 males and 28 females, median age, 65 years, range, 38-82) and healthy donors. *Results:* We found significantly elevated TNF- α in patients with CLL compared to the control group ($p < 0.0001$); high expression of TNF- α was associated with unfavourable prognosis: significantly higher TNF- α was present in patients with Rai high-risk group compared to low- and intermediate-risk groups ($p = 0.0008$ and $p = 0.0097$), with high serum beta 2-microglobulin ($p = 0.045$), massive lymphadenopathy ($p = 0.0083$), unmutated genes for variable region of immunoglobulin heavy chain (IgVH) ($p = 0.041$) and unfavourable cytogenetic aberrations ($p = 0.0014$). In addition, patients with progressive CLL had significantly higher TNF- α than those with stable clinical course ($p = 0.0009$); time to treatment (TTT) was significantly shorter in patients with higher TNF- α ($p = 0.0049$). Higher TGF- β 1 concentrations were associated with favourable prognosis, i.e. with Rai low-risk group compared to high-risk group ($p = 0.011$), patients without massive lymphadenopathy ($p = 0.041$), patients with mutated IgVH ($p = 0.012$) and ZAP-70 negativity (zeta-associated protein of 70 kilodaltons) ($p = 0.044$). Patients with progressive CLL had significantly lower TGF- β 1 levels than those with stable course ($p = 0.0014$) and TTT was significantly longer in patients with higher TGF- β 1 ($p = 0.016$). Patients with Rai high-risk group had significantly lower TGF β RII expression than those with low-risk group ($p = 0.022$). Serum concentrations of FGF-2 were significantly higher in patients with CLL compared to the control group ($p < 0.0001$). FGFR2 expression was significantly lower in CLL compared to the control group ($p = 0.042$). The prognostic significance of FGF-2 and FGFR2 was not found. Significant and independent prognostic factors for overall survival were high serum concentrations of TNF- α and massive lymphadenopathy (evaluated by ultrasound) ($p = 0.036$ and $p = 0.047$). *Conclusions:* Based on our results, TNF- α and TGF- β 1 possess prognostic significance in CLL; further research in this direction may also be important therapeutically, because these signal pathways could serve as possible treatment targets. Low TGF β RII expression in advanced stages could contribute to resistance to anti-proliferative effect of TGF- β and worse prognosis. Massive lymphadenopathy proved to be a negative prognostic feature; therefore detection by ultrasound could be useful in daily clinical practice.

3. Úvod do problematiky

Chronická lymfocytární leukemie je nejčastějším typem leukemie v západní populaci s extrémně variabilním klinickým průběhem (1, 2, 3, 4). Velká pozornost je v několika posledních letech věnována problematice stanovení a zpřesnění prognózy u pacientů s CLL.

Dnes již víme, že použití klasických prognostických faktorů, zejména systémů klinické klasifikace dle Raie a Bineta, je ke stanovení individuální prognózy nemocných s CLL nedostatečné, což platí zejména pro pacienty v časných klinických stádiích. I tito nemocní mohou totiž velmi rychle progredovat a mít agresivní průběh onemocnění (2, 4, 5, 6). Objevem některých nových ukazatelů bylo umožněno rozdělit nemocné s CLL do skupin významně se lišících prognózou již v době stanovení diagnózy, a předpovědět tak klinický průběh onemocnění. Z tohoto hlediska mají největší význam vysoce nepříznivé cytogenetické aberace, a to delece krátkého ramene 17. chromozomu (del 17p13) a delece části dlouhého ramene 11. chromozomu (del 11q) a nemutované IgVH geny. Dalšími důležitými nepříznivými ukazateli spojenými s agresivnějším průběhem CLL jsou vysoká exprese ZAP-70 a vysoká exprese CD38 na CLL lymfocytech (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16). Otázkou do budoucna také zůstává, jak co nejlépe načasovat a přizpůsobit intenzitu léčby individuálnímu riziku nemocného právě na základě znalosti těchto nových prognostických faktorů (tzv. risk-adapted strategies) (1, 2, 17). Z tohoto hlediska má zatím dominantní postavení delece 17p13, jejíž přítomnost může v některých případech ovlivnit výběr cíleného léčebného postupu (9, 10, 16, 18, 19). Nález ostatních nepříznivých ukazatelů tvoří důležité doplňující informace o prognóze nemocných, přítomnost žádného z nich však není důvodem k zahájení léčby. Pro zahájení léčby u pacientů s CLL je nadále rozhodující aktivita choroby (20).

Studium prognostických faktorů také přináší nový pohled na biologii CLL, neboť vypovídají mnohé o patogenezi onemocnění. Z cirkulujících cytokinů, které sehrávají důležitou roli v patogenezi a biologickém chování maligního klonu a jsou často zmiňovány v souvislosti s poruchou apoptických drah, proliferací a angiogenezí u CLL, a u nichž lze na základě literárních údajů předpokládat prognostický význam, je třeba jmenovat zejména TNF- α , TGF- β a jeho receptory a FGF-2 a jeho receptory (21, 22, 23, 24, 25, 26). Právě těmito ukazatelům je v disertační práci věnována pozornost.

Tumor nekrotizující faktor-alfa je cytokin, který je konstitutivně produkován CLL lymfocyty a jehož zvýšené hladiny lze u pacientů s CLL v séru/plazmě detekovat (21, 27, 28, 29, 30, 31). U CLL je TNF- α pozitivně transkripčně regulován signální dráhou nukleárního faktoru kappa B (NF- κ B) a působí anti-apopticky a jako autokrinní růstový faktor pro maligní B-lymfocyty (21, 31, 32, 33). Vyšší sérové/plazmatické koncentrace TNF- α jsou u CLL spojovány s nepříznivou prognózou (21, 34, 35, 36).

Transformující růstový faktor je protein, jehož funkcí je zejména kontrola buněčné proliferace, diferenciace, migrace a apoptózy. Má také imunosupresivní a pro-angiogenní účinky. Funkce TGF- β se uplatňuje po vazbě na vysokoafinní receptory, stěžejní jsou typ I a typ II (TGF β RI a TGF β RII) (22, 31, 37, 38, 39, 40, 41). Úloha TGF- β v patogenezi CLL je kontroverzní - u většiny pacientů přispívá autokrinní produkce TGF- β k útlumu proliferace maligních B-lymfocytů (zejména v časnějších stádiích), pomalejší progresi a indolentnímu průběhu onemocnění. Některé práce potvrdily tuto teorii nálezem významně nižších hladin TGF- β u pacientů v pokročilých stádiích (23, 24, 42). Asi 1/3 pacientů s CLL je však vůči anti-proliferativnímu a pro-apoptickému působení TGF- β

odolná (31, 43, 44). Hlavní mechanismus odolnosti spočívá v patologii receptorů TGF β R na leukemických buňkách (snížení či ztráta exprese, či funkční poruchy), což může přispívat k progresi a agresivnějšímu průběhu CLL (22, 40, 43, 44, 45, 46).

Fibroblastový růstový faktor-2 je protein, jehož hlavní funkcí je úloha mitogenní, která není specifická pouze pro endotelie (jedná se o jeden z nejdůležitějších aktivátorů angiogeneze), ale působí také na fibroblasty nebo epiteliální buňky. Na maligní lymfocyty CLL působí anti-apopticky (47, 48, 49, 50, 51, 52). V séru či plazmě pacientů s CLL byly nalezeny zvýšené koncentrace FGF-2 (24, 26, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60) a v některých studiích jsou spojeny s nepříznivým průběhem onemocnění (24, 47, 61). Funkce FGF-2 se uplatňuje po vazbě na vysokoafinní transmembránové receptory - FGFR1-4 (51, 62). U CLL je ale dosud k dispozici jen velmi omezené množství prací zkoumajících expresi FGFR na leukemických lymfocytech, i když je jeho autokrinní funkce více než pravděpodobná (47, 48, 49, 57, 63).

4. Cíle disertační práce

Cílem naší práce bylo:

1. Stanovit vybrané ukazatele apoptózy a angiogeneze, které by dle dosavadních znalostí mohly sloužit jako další nové prognostické faktory u CLL. K hodnocení jsme zvolili stanovení sérových koncentrací TNF- α , TGF- β 1 a FGF-2 a stanovení exprese TGF β RII a FGFR2 na lymfocytech u pacientů s CLL v porovnání se zdravými dobrovolníky;
2. Zhodnotit vztah vybraných ukazatelů apoptózy a angiogeneze k prognostickým faktorům (klasickým jako je pohlaví, klinické stádium dle Raije, absolutní počet lymfocytů v periferní krvi [ALC], sérová laktátdehydrogenáza [LDH], sérový beta 2-mikroglobulin [B2M] a novým - cytogenetické aberace, IgVH mutační stav, exprese ZAP-70, exprese CD38 a k přítomnosti masivní lymfadenopatie);
3. Zhodnotit vzájemný vztah ukazatelů apoptózy a angiogeneze;
4. Zhodnotit souvislost ukazatelů apoptózy a angiogeneze s klinickým průběhem onemocnění – progresí choroby, celkovým přežitím (overall survival, OS) a obdobím do zahájení léčby 1. linie (time to treatment, TTT).

5. Pacienti a metodiky

Do studie bylo zařazeno 75 nemocných s CLL diagnostikovaných na IV. interní hematologické klinice Fakultní nemocnice v Hradci Králové od ledna 2007 do srpna 2010. Před vstupem do studie podepsali všichni nemocní informovaný souhlas a studie byla provedena dle zásad Helsinské deklarace. Žádný z nemocných nebyl v době odběru zjišťovaných ukazatelů léčen. Diagnóza CLL vyžadovala splnění diagnostických kritérií dle mezinárodních doporučení NCI-WG z roku 2008. Dle těchto doporučení byla v našem souboru také definována progredující (aktivní) choroba (s nutností zahájení léčby) (20). Základní charakteristiky nemocných jsou uvedeny v Tabulce 1.

Stratifikace do rizikových skupin byla provedena dle modifikovaného Raiova stagingu (5). Přítomnost cytogenetických aberací byla stanovena pomocí fluorescenční hybridizace *in situ* (FISH) a hodnocena dle Döhnerovy hierarchické klasifikace (8). Nemocní byli dle cytogenetického nálezu rozděleni do dvou rizikových skupin. Ve skupině s nízkým rizikem a příznivější prognózou byli nemocní s normálním nálezem, izolovanou delecí dlouhého ramene 13. chromozomu a trisomií 12, do skupiny s nepříznivou prognózou patřili nemocní s nálezem del 11q a del 17p13. U 36/75 (48 %) pacientů bylo provedeno ultrasonografické vyšetření (UZ) uzlin a/nebo břicha. Paket uzlin v průměru 5 a více cm (masivní lymfadenopatie; tzv. bulk) byl diagnostikován u 16 nemocných (16/75, 21 %), u 14 z nich (85 %) byl lokalizován nitrobřišně a zjištěn dle UZ vyšetření.

Tab. 1. Deskriptivní charakteristiky nemocných.

Celkový počet nemocných	75
Muži/ženy	47/28 (63 %/37 %)
Medián věku (rozmezí)	65 let (38-82)
Nízké riziko (Rai 0)	30/75 (40 %)
Střední riziko (Rai I, II)	31/75 (41 %)
Vysoké riziko (Rai III/IV)	14/75 (19 %)
Progredující onemocnění	36/75 (48 %)
Sérová LDH zvýšená	46/71 (65 %)
Sérový B2M zvýšený	36/45 (80 %)
Medián ALC (rozmezí)	38,79.10 ⁹ /l (rozmezí 5.10 ⁹ -620,7.10 ⁹ /l)
Masivní lymfadenopatie (nad 5 cm)	16/75 (21 %)
Nemutované IgVH geny	39/65 (60 %)
Nepříznivé cytogenetické aberace dle FISH	21/68 (31 %)
Expres ZAP-70 pozitivní	18/72 (25 %)
Expres CD38 pozitivní	19/72 (26 %)

Odběry krve ke zhodnocení vybraných ukazatelů byly provedeny buď v době stanovení diagnózy CLL, nebo kdykoliv v průběhu onemocnění, které vykazovalo v době odběru stabilní průběh bez známek progresu. Medián od data stanovení diagnózy do data provedení odběru byl 16,4 měsíce (rozmezí 0,3 – 132 měsíců). Hodnocení klasických prognostických faktorů (Rai stádia, ALC, LDH, B2M) a přítomnosti masivní lymfadenopatie bylo provedeno v době odběru zkoumaných ukazatelů. Data týkající se vybraných ukazatelů apoptózy a angiogeneze byla dostupná u všech nemocných v souboru (n = 75), pouze sérové koncentrace FGF-2 byly zhodnoceny u 72/75 (96 %) nemocných.

Vyšetření sérových koncentrací TNF- α a TGF- β 1 bylo pro srovnání provedeno u skupiny 57 dobrovolných zdravých dárců krve (26 mužů a 31 žen, medián 35 let; rozmezí 19-51 let) a vyšetření sérových koncentrací FGF-2 u skupiny 40 dobrovolných zdravých dárců krve (24 mužů a 16 žen, medián 39,5 let; rozmezí 24-69 let). Stanovení exprese TGF β RII a FGFR2 poté u 10 dobrovolných zdravých dárců krve (6 mužů a 4 ženy, věkový medián 34 let, rozmezí 25-65 let).

Pro stanovení sérových koncentrací TNF- α , TGF- β 1 a FGF-2 (ze srážlivé periferní krve) byly všechny vzorky séra po centrifugaci zamraženy při teplotě – 70 stupňů Celsia až do měření.

Stanovení koncentrací bylo provedeno standardními postupy metodiky ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) a dle firemních doporučení. Použity byly komerční ELISA soupravy od firmy R&D Systems (USA), a to Quantikine Human TNF- α , Quantikine Human TGF- β 1 a Quantikine HS Human FGF basic. Pro měření barevné změny (absorbance) byl použit u všech měřených parametrů ELISA reader Multiskan a software Genesis od firmy Thermo Fisher Scientific. Koncentrace měřených cytokinů byly vypočteny z kalibračních křivek.

K hodnocení lymfocytární exprese TGF β R2 a FGFR2 byly použity vzorky nesrážlivé periferní krve, které byly měřeny na průtokovém cytometru EPICS XL (Beckman Coulter, USA) se softwarem EPICS XL verze 3.0. K hodnocení exprese TGF β R2 byla použita myší monoklonální protilátka proti lidskému TGF β R2 konjugovaná s karboxyfluoresceinem (R&D Systems, USA). K hodnocení exprese FGFR2 byla použita lyofilizovaná neznačená protilátka FGFR2 (IIIc) (R&D Systems, USA) a sekundární protilátka značená FITC (Fluorescein Isothiocyanate) (Beckman Coulter, USA).

Statistická analýza byla provedena pomocí softwaru Analyse-it (Analyse-it Software Ltd, Velká Británie). Všechna data byla testována na normalitu Shapirovým-Wilkovým testem. Pokud bylo rozdělení dat normální, byl k testování rozdílů vůči kontrolní skupině použit parametrický t-test. Pokud neměla data normální rozdělení, byl užit neparametrický Mannův-Whitneyův U test. Korelace byla stanovena pomocí Spearmanova korelačního koeficientu (r). Celkové přežití bylo definováno jako období od data odběru vybraných ukazatelů do úmrtí na jakoukoliv, i nenádorovou příčinu. Období do zahájení léčby bylo hodnoceno od data provedení odběru do data zahájení léčby 1. linie. K hodnocení OS a TTT byly zkonstruovány Kaplan-Meierovy křivky přežití a jednotlivé podskupiny porovnány pomocí log rank testu. P-hodnoty nižší než 0,05 byly považovány za statisticky významné.

6. Výsledky

V době analýzy v prosinci 2012 byl medián sledování žijících nemocných 48 měsíců (rozmezí 1-111 měsíců) a stav souboru byl následující: 10 nemocných (13 %) zemřelo, z toho 5 z důvodu progresu CLL. Třicet šest nemocných (48 %) progredovalo a vyžadovalo zahájení léčby. Medián TTT celého souboru byl 44 měsíců. Pravděpodobnost 5-letého OS celého souboru byla 84 %, medián OS nebyl dosažen.

6.1 Hodnocení sérových koncentrací TNF- α a jejich souvislost s prognostickými faktory a klinickým průběhem CLL

Sérový TNF- α byl detekovatelný ve všech vzorcích. Koncentrace TNF- α byly statisticky významně vyšší u pacientů s CLL (medián 2,83 pg/ml; průměrná sérová koncentrace 5,79 pg/ml) oproti kontrolní skupině (medián 1,37 pg/ml; průměrná sérová koncentrace 1,32 pg/ml) [$p < 0,0001$]). Nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl v koncentracích TNF- α a mezi muži a ženami ($p = 0,78$). Významně vyšší TNF- α měli nemocní ve skupině s vysokým rizikem dle Raie v porovnání se skupinou s nízkým rizikem (medián 7,52 vs. 1,69 pg/ml; $p = 0,0008$) i v porovnání se skupinou se středním rizikem (medián 7,52 vs. 2,83 pg/ml; $p = 0,0097$). Při srovnání skupiny s nízkým a středním rizikem dle Raie nebyl v koncentracích TNF- α rozdíl ($p = 0,13$). Významný rozdíl nebyl ani mezi skupinami nemocných s rozdílnou koncentrací LDH ($p = 0,14$). U nemocných se

zvýšeným B2M byl TNF- α významně vyšší (medián 3,70 vs. 1,54 pg/ml; $p = 0,045$). S TNF- α slabě pozitivně koreloval ALC ($p = 0,018$; $r = 0,27$). Nemocní s masivní lymfadenopatií měli významně vyšší TNF- α než nemocní bez masivní lymfadenopatie (medián 7,0 vs. 1,88 pg/ml; $p = 0,0083$). Statisticky významně vyšší koncentrace TNF- α měli pacienti s nemutovanými IgVH geny v porovnání s mutovanými (medián 4,88 vs. 1,86 pg/ml; $p = 0,041$) a nemocní s nepříznivými cytogenetickými aberacemi v porovnání s prognosticky příznivými (medián 7,17 vs. 1,83 pg/ml; $p = 0,0014$). Expres ZAP-70 ani exprese CD38 s TNF- α nekorelovaly ($p = 0,35$, resp. $p = 0,44$). Nemocní, kteří v průběhu onemocnění progredovali ($n = 36$), měli významně vyšší TNF- α než nemocní se stabilním onemocněním (medián 5,48 vs. 1,68 pg/ml; $p = 0,0009$). Pacienti s koncentracemi TNF- α vyššími než medián ($n = 37$) měli významně kratší TTT než nemocní s nižšími koncentracemi ($n = 38$) (medián 2 vs. 100 měsíců; $p = 0,0049$). Mezi těmito dvěma skupinami nebyl rozdíl v OS ($p = 0,085$).

6.2 Hodnocení sérových koncentrací TGF- β 1 a exprese receptoru typu II pro TGF- β a jejich souvislost s prognostickými faktory a klinickým průběhem CLL

Sérový TGF- β 1 byl detekovatelný ve všech vzorcích. Nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi koncentracemi TGF- β 1 u pacientů s CLL (medián 44280 pg/ml; průměrná sérová koncentrace 47734 pg/ml) a kontrolní skupinou (medián 48700 pg/ml; průměrná sérová koncentrace 48068 pg/ml) ($p = 0,26$). Mezi muži a ženami nebyly koncentrace TGF- β 1 významně rozdílné ($p = 0,088$). Nemocní ve skupině s nízkým rizikem dle Raie měli významně vyšší TGF- β 1 v porovnání se skupinou s vysokým rizikem (medián 48735 vs. 19450 pg/ml; $p = 0,011$), nebyl ale rozdíl mezi skupinou nemocných s nízkým a středním rizikem ($p = 0,11$) a skupinou se středním a vysokým rizikem dle Raie ($p = 0,10$). Koncentrace TGF- β 1 slabě negativně korelovala s ALC ($p = 0,0037$; $r = -0,33$). Významně vyšší TGF- β 1 měli nemocní bez masivní lymfadenopatie v porovnání s nemocnými s masivní lymfadenopatií (medián 46170 vs. 30116 pg/ml; $p = 0,041$). Nebyl zaznamenán rozdíl v koncentracích TGF- β 1 u nemocných se zvýšeným LDH ($p = 0,35$) a B2M ($p = 0,36$), ani u nemocných s nepříznivými cytogenetickými aberacemi ($p = 0,081$) či expresí CD38 ($p = 0,091$). Statisticky významně vyšší TGF- β 1 měli pacienti s mutovanými IgVH geny (vs. nemutované) (medián 51350 vs. 39100 pg/ml; $p = 0,012$) a pacienti ZAP-70 negativní (vs. ZAP-70 pozitivní) (medián 47115 vs. 33960 pg/ml; $p = 0,044$). Nemocní s progredující chorobou měli významně nižší TGF- β 1 než nemocní se stabilním onemocněním (medián 31860 vs. 49140 pg/ml; $p = 0,0014$). TTT bylo významně delší u pacientů, kteří měli koncentrace TGF- β 1 vyšší než medián ($n = 37$) v porovnání s nemocnými s koncentracemi nižšími ($n = 38$) (medián nedosažen vs. medián 2 měsíce; $p = 0,016$). V OS nebyl mezi těmito dvěma skupinami rozdíl ($p = 0,44$). Nebyla nalezena korelace mezi TGF- β 1 a TNF- α ($p = 0,059$; $r = -0,22$).

Expres TGF β RII byla měřitelná ve všech vzorcích, nemocní s CLL neměli v porovnání s kontrolami významně rozdílnou expresi TGF β RII (medián 1,32 vs. 1,09; $p = 0,22$). Statisticky významně nižší expresi TGF β RII byla zaznamenána u nemocných s vysokým rizikem dle Raie v porovnání s nemocnými s nízkým rizikem (medián 0,83 vs. 2,69; $p = 0,022$). Nebyl ale rozdíl v expresi TGF β RII mezi skupinou nemocných s nízkým a středním ($p = 0,53$) a středním a vysokým rizikem dle Raie ($p = 0,076$). Expres TGF β RII nebyla rozdílná v závislosti na pohlaví ($p = 0,17$), LDH a B2M ($p = 0,11$, resp. $0,78$), mutačním stavu, cytogenetických aberacích ($p = 0,97$, resp. $p = 0,29$), ani expresi ZAP-70 a CD38 ($p = 0,39$, resp. $p = 0,94$), či přítomnosti masivní lymfadenopatie ($p = 0,31$). Nebyl rozdíl v expresi TGF β RII mezi nemocnými se stabilní a progredující chorobou ($p = 0,29$).

TTT ani OS nebyly rozdílné u pacientů, kteří měli expresi TGFβRII vyšší než medián (n = 37) v porovnání s nemocnými s expresí TGFβRII nižší (n = 38) (p = 0,46, resp. p = 0,81). Nebyla nalezena souvislost mezi TGFβRII a TGF-β1 (p = 0,69, r = - 0,05) ani ALC (p = 0,79; r = - 0,03).

6.3 Hodnocení sérových koncentrací FGF-2 a exprese receptoru typu 2 pro FGF-2 a jejich souvislost s prognostickými faktory a klinickým průběhem CLL

Sérový FGF-2 byl měřitelný ve všech vzorcích. Koncentrace FGF-2 byly statisticky významně vyšší u pacientů s CLL (medián 22,85 pg/ml; průměrná sérová koncentrace 26,9 pg/ml) oproti kontrolní skupině (medián 5,85 pg/ml; průměrná sérová koncentrace 7,27 pg/ml) (p < 0,0001). Nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl v koncentracích FGF-2 a pohlavím (p = 0,44). Nemocní se středním rizikem dle Raie měli významně vyšší FGF-2 než nemocní s nízkým rizikem (medián 33,65 vs. 17,2 pg/ml; p = 0,003) i než nemocní s vysokým rizikem (medián 33,65 vs. 14,9 pg/ml; p = 0,021). Mezi nemocnými s nízkým a vysokým rizikem nebyl v koncentracích FGF-2 rozdíl (p = 0,97). Nebyl zaznamenán rozdíl v koncentracích FGF-2 mezi skupinami s rozdílnou LDH (p = 0,98) a B2M (p = 0,58). S FGF-2 pozitivně koreloval ALC (p = 0,0047; r = 0,33). Nemocní s masivní lymfadenopatií neměli rozdílné koncentrace FGF-2 než nemocní bez bulků (p = 0,14). Nebyl také rozdíl v koncentracích FGF-2 a IgVH mutačním stavem (p = 0,79), cytogenetickými aberacemi (p = 0,5), expresí ZAP-70 (p = 0,97) a expresí CD38 (p = 0,37). Koncentrace FGF-2 nebyly rozdílné mezi nemocnými se stabilní a progredující chorobou (p = 0,18). TTT ani OS nebyly významně rozdílné u pacientů, kteří měli koncentrace FGF-2 vyšší než medián (n = 36) v porovnání s nemocnými s koncentracemi FGF-2 nižšími (n = 36) (p = 0,30, resp. p = 0,82). Nebyla zaznamenána souvislost mezi koncentracemi FGF-2, TNF-α (p = 0,22) a TGF-β1 (p = 0,087), ani s expresí TGFβRII (p = 0,97) a FGFR2 (p = 0,49).

Exprese FGFR2 byla zjištělná ve všech vyšetřovaných vzorcích. Byla zjištěna statisticky významně vyšší exprese FGFR2 v kontrolní skupině v porovnání s CLL pacienty (medián 6,48 vs. 1,46, p = 0,042). Nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl v expresi FGFR2 mezi muži a ženami (p = 0,35) a mezi rizikovými skupinami dle Raie (nízké vs. střední riziko, p = 0,77; nízké vs. vysoké, p = 0,12; střední vs. vysoké riziko, p = 0,11). Nemocní s normálním LDH i B2M v séru měli statisticky významně vyšší expresi FGFR2 (medián 2,97; p = 0,0032, resp. medián 3,57; p = 0,031). Nebyla nalezena souvislost mezi expresí FGFR2 a mutačním stavem a výskytem cytogenetických aberací (p = 0,88, resp. p = 0,18), ani expresí ZAP-70 a CD38 (p = 0,12, resp. p = 0,89), ani masivní lymfadenopatií (p = 0,42). S expresí FGFR2 slabě negativně koreloval ALC (p = 0,033; r = - 0,25). Nebyl rozdíl v expresi FGFR2 mezi nemocnými se stabilní a progredující chorobou (p = 0,15). TTT ani OS nebyly významně rozdílné u pacientů, kteří měli expresi FGFR2 vyšší než medián (n = 36) v porovnání s nemocnými s expresí FGFR2 nižší než medián (n = 39) (p = 0,27; resp. p = 0,11).

Při provedení **multivariantní analýzy pro celkové přežití** byly identifikovány jako statisticky významné a nezávislé dva prognostické faktory, a to sérová koncentrace TNF-α a masivní lymfadenopatie (p = 0,036, resp. p = 0,047).

7. Diskuze

Stanovení a zpřesnění prognózy u pacientů s CLL je v několika posledních letech věnována velká pozornost. V naší práci jsme ověřovali prognostický význam TNF- α , TGF- β 1, TGF β RII, FGF-2 a FGFR2.

Zvýšené sérové/plazmatické koncentrace TNF- α byly u nemocných s CLL opakovaně prokázány a ve většině prací jsou spojovány s méně příznivou prognózou (21, 27, 28, 29, 30, 34, 64, 65). Významně vyšší TNF- α v séru/plazmě měli ve studiích nemocní v pokročilých stádiích, s vyšším B2M a ALC, pozitivitou CD38 a ZAP-70, s del 11q a del 17p13, s nemutovanými IgVH geny, se závažnějším stupněm anémie a trombocytopenie a kratším TTT i OS (21, 34, 35, 36). I v našem souboru byly sérové koncentrace TNF- α u CLL významně vyšší v porovnání s kontrolní skupinou a značily nepříznivou prognózu: významně vyšší TNF- α měli nemocní ve skupině s vysokým rizikem dle Raie, s nemutovanými IgVH geny a nepříznivými cytogenetickými aberacemi. Právě IgVH a cytogenetické nálezy jsou v současné době u CLL považovány za nejdůležitější prognostické faktory ve vztahu k celkovému přežití (1, 8, 12). Významně vyšší koncentrace TNF- α byly také zjištěny u nemocných s vyšším B2M, který je u CLL spojován s pokročilým klinickým stavem, objemnou lymfadenopatií, významnou infiltrací kostní dřeně, pozitivitou ZAP-70 a CD38 (2, 66). V několika studiích byl B2M nezávislým faktorem predikujícím celkové přežití (67, 68, 69). Významně vyšší koncentrace TNF- α měli i nemocní s masivní lymfadenopatií. Na rozdíl od literárních dat jsme neprokázali souvislost mezi TNF- α a CD38 a ZAP-70. S koncentrací TNF- α pozitivně koreloval ALC, šlo však o slabou korelaci, z čehož vyplývá, že hodnota TNF- α není lineárním ukazatelem velikosti nádorové masy. Nemocní s progresí CLL měli významně vyšší hodnoty TNF- α než nemocní se stabilním onemocněním. Také TTT bylo významně kratší u pacientů s vyšším TNF- α .

TGF- β je cytokin, který hraje v patogenezi CLL významnou roli (22, 31). Jednoznačný prognostický význam TGF- β u CLL je ale obtížné interpretovat, a to z několika důvodů: roli sehrává kromě výše hladin TGF- β také stav TGF- β receptorů a fakt, že signální dráha TGF- β je regulována na různých úrovních (22). Dalším problémem je skutečnost, že dosavadní práce (navíc s velmi omezenými počty nemocných) hodnotily prognostický význam TGF- β pouze v souvislosti s klinickými stádii, chybí však systematické porovnání s ostatními ukazateli a klinickým průběhem. V práci Romana et al. měli nemocní citliví na pro-apoptické působení TGF- β významně delší zdvojevací čas lymfocytů (70). Friedenberga et al. nenalezli korelaci mezi TGF- β a ALC a klinickým průběhem (23). Gora-Tybor et al. popsali významně vyšší TGF- β 1 u nemocných s progredující CLL (24). V rozporu s literárními daty jsme nepotvrdili zvýšení sérových koncentrací TGF- β 1 u nemocných s CLL v porovnání s kontrolami, pravděpodobně v důsledku relativně omezeného rozsahu souboru. Při analýze jednotlivých podskupin a zcela v souladu s dosud publikovanými pracemi (23, 24, 42) měli nemocní ve skupině s nízkým rizikem dle Raie významně vyšší hladiny TGF- β 1 v porovnání se skupinou s vysokým rizikem. Významně vyšší koncentrace TGF- β 1 byly také spojeny s výskytem dalších příznivých prognostických ukazatelů, jako jsou mutované IgVH geny a negativita ZAP-70 i příznivějším klinickým průběhem - stabilním onemocněním a delším TTT. Také nemocní bez masivní lymfadenopatie měli významně vyšší TGF- β 1 než nemocní s bulkem. Dále koncentrace TGF- β 1 negativně korelovala s ALC.

V našem souboru nekorelovala koncentrace TGF- β 1 s expresí receptoru TGF β RII. Exprese TGF β RII nebyla rozdílná mezi nemocnými s CLL a kontrolní skupinou. Statisticky významně nižší exprese TGF β RII byla zaznamenána u nemocných s vysokým rizikem dle Raie v porovnání

s nemocnými s nízkým rizikem. Nízká exprese TGF β RII by u nemocných v pokročilých klinických stádiích mohla přispívat k rezistenci na anti-proliferační působení TGF- β a horší prognóze. Práce Ho, DeCoteau ani Lagneaux et al. souvislost exprese receptorů pro TGF- β s klinickými stádii neprokázaly (42, 43, 44). Další významné souvislosti pro expresi TGF β RII nebyly v našem souboru nalezeny. Důležitým aspektem znesnadňujícím interpretaci našich nálezů je fakt, že hladiny TGF β RI a TGF β RII jsou také regulovány na několika úrovních a také to, že necitlivost na TGF- β může být způsobena i kvalitativními (strukturálními) změnami receptorů (40). My jsme však v naší práci hodnotili pouze změny kvantitativní.

V souladu s mnoha pracemi byly i v našem souboru sérové koncentrace FGF-2 významně vyšší u nemocných s CLL v porovnání s kontrolami (29, 34, 36, 59, 63, 64, 65, 66, 67, 70, 81). Nemocní se středním rizikem dle Raie měli významně vyšší FGF-2 než nemocní s nízkým rizikem, ale i než nemocní s vysokým rizikem dle Raie. Koncentrace FGF-2 pozitivně korelovala s ALC, který byl v několika studiích nezávislým negativním prognostickým faktorem se vztahem k OS i TTT první linie (67, 71, 72). Jiné významné souvislosti pro FGF-2 nebyly prokázány. Z hlediska prognostického významu FGF-2 se výsledky mnohých studií také velmi rozcházejí, i když ve většině prací jsou vyšší sérové/plazmatické koncentrace spojeny spíše s nepříznivým průběhem CLL (vyšší ALC, pokročilá stádia a progresse CLL) (24, 47, 49, 61). V Shanafeltově studii byl u nemocných ve stádiích 0-II dle Raie zvýšený poměr FGF-2/trombospondin (inhibitor angiogeneze) spojen s významně kratším TTT (60). Menzel et al. prokázali souvislost zvýšených hladin intracelulárního FGF-2 v CLL buňkách a pokročilým klinickým stádiem (49). Molica et al. opakovaně prokázali signifikantně vyšší sérový FGF-2 i u nemocných v časných stádiích CLL (A dle Bineta), ale bez dalšího prognostického významu (54). Žádnou souvislost mezi FGF-2 a klinickými stádii nepotvrdili Ho et al., Bairey et al. ani Smolej et al. (42, 47, 56, 59). Kromě Smoleje et al. (vyšší FGF-2 u mutovaných IgVH) (59) nebyla prokázána souvislost FGF-2 s novými prognostickými ukazateli (55, 60, 73).

Zjistili jsme statisticky významně vyšší expresi FGFR2 v kontrolní skupině v porovnání s CLL pacienti. Expese FGFR2 slabě negativně korelovala s ALC. Další souvislosti pro FGFR2 nebyly prokázány. Důvodem nízké exprese FGFR2 v našem souboru mohou být zvýšené sérové koncentrace FGF-2, které v důsledku zpětné vazby mohou vést k poklesu FGFR2.

Při provedení **multivariantní analýzy pro celkové přežití** vyšly jako statisticky významné a nezávislé dva prognostické faktory, a to sérová koncentrace TNF- α a masivní lymfadenopatie. Některé práce prokázaly, že nemocní s masivní lymfadenopatií mají horší prognózu (nižší procento kompletních remisí, kratší období do progresse, naznačen i trend směrem ke kratšímu OS, vysoké riziko relapsu po alogenní transplantaci) (74, 75, 76, 77). I naše práce potvrzuje, že nález masivní lymfadenopatie (v 85 % retroperitoneální uzliny) má negativní prognostický význam s dopadem na OS. Diagnóza retroperitoneální lymfadenopatie byla ve všech případech založena na UZ vyšetření. Naše nálezy tedy také podporují význam použití zobrazovacích metod (resp. UZ) u CLL.

Další výzkum námi vybraných cytokinů a jejich signálních drah je cenný nejen z prognostického, ale také léčebného hlediska. V rámci preklinických studií byly u CLL použity inhibitory transkripční aktivity NF- κ B (78, 79). Zkušenosti u CLL jsou již i s léčivy antagonizujícími účinek TNF- α (80, 81). Léčiva brzdící kancerogenní efekt TGF- β jsou předmětem zájmu zejména u solidních nádorů (40). K dispozici jsou nadějná data využívajících u CLL antiangiogenní léky, jako jsou

thalidomid či lenalidomid (82, 83). I některá klasická cytostatika mají antiangiogenní účinek (62). Gora-Tybor prokázala, že podání kladribinu vede k významného snížení FGF-2 i TGF- β (53). Smolej et al. zaznamenali významný pokles FGF-2 po léčbě CLL založené na fludarabinovém režimu (56).

8. Závěry

Dosud nebyla publikována práce, ve které by bylo provedeno tak rozsáhlé hodnocení souvislosti TNF- α , TGF- β 1, TGF β RII, FGF-2 a FGFR2 s prognostickými faktory, klinickým průběhem CLL i souvislostí vzájemných. V tomto jsou naše výsledky prioritní. Cíle naší studie byly splněny s těmito nejdůležitějšími nálezy:

1. Sérové koncentrace TNF- α , TGF- β 1, FGF-2 a lymfocytární exprese TGF β RII a FGFR2 byly detekovatelné ve všech vzorcích.

Sérové koncentrace TNF- α a FGF-2 byly významně vyšší u nemocných s CLL v porovnání s kontrolní skupinou.

Expres FGFR2 byla významně nižší na CLL lymfocytech oproti kontrolní skupině, což mohlo být způsobeno negativní zpětnou vazbou při zvýšených sérových koncentracích důležitého angiogenního aktivátoru FGF-2. Naše práce přispěla k rozšíření dosavadních znalostí o expresi FGFR u CLL; v této oblasti bylo dosud k dispozici naprosté minimum dat.

Nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl v sérových koncentracích TGF- β 1 a expresi TGF β RII u nemocných s CLL a kontrolní skupinou.

2. Ověřili jsme negativní prognostický význam zvýšených sérových koncentrací TNF- α , které vedle klasických prognostických ukazatelů (pokročilá Rai stádia, vysoký B2M, masivní lymfadenopatie) korelovaly také s nejdůležitějšími novými ukazateli ve vztahu k celkovému přežití, a to s nemutovanými IgVH geny a nepříznivými cytogenetickými aberacemi; byla též prokázána souvislost s nepříznivým klinickým průběhem CLL (viz. dále).

Druhým ukazatelem s prokázaným prognostickým významem byla zvýšená sérová koncentrace TGF- β 1, která byla naopak spojena s příznivými nálezy (nízkým rizikem dle Raie, nižším ALC, nepřítomností masivní lymfadenopatie, mutovanými IgVH geny a negativitou ZAP-70) i příznivým klinickým průběhem CLL (viz. dále).

U nemocných s vysokým rizikem dle Raie byla zjištěna významně nižší exprese TGF β RII, která by mohla přispívat k oslabení signalizace TGF- β , zejména ke snížení jeho anti-proliferativního působení na lymfocyty CLL, a tedy k horší prognóze u této skupiny pacientů.

Signifikantně vyšší sérové koncentrace FGF-2 měli nemocní se středním rizikem dle Raie v porovnání s nemocnými s nízkým i vysokým rizikem, vyšší FGF-2 koreloval s ALC.

Statisticky významnými a nezávislými prognostickými faktory pro celkové přežití byly v našem souboru zvýšené sérové koncentrace TNF- α a přítomnost masivní lymfadenopatie.

3. Nebyla zjištěna vzájemná souvislost mezi jednotlivými hodnocenými ukazateli.

4. Zvýšené sérové koncentrace TNF- α korelovaly s nepříznivým průběhem onemocnění - progresí choroby a kratším TTT. Zvýšené sérové koncentrace TGF- β 1 byly naopak spojeny s příznivým klinickým průběhem CLL – stabilní chorobou a delším TTT. Souvislost ostatních ukazatelů s klinickým průběhem nebyla prokázána.

Výstupy pro klinickou praxi a výhledy do budoucna:

U nově diagnostikovaných nemocných s CLL by mohlo být vhodné k zpřesnění individuální míry rizika progresu a odhadu nutnosti zahájení léčby vyšetření sérové koncentrace TNF- α . Negativní prognostický význam TNF- α včetně vlivu na celkové přežití byl již opakovaně prokázán. Dalším z důvodů je fakt, že v současné době jsou ve vývoji léčiva antagonizující proliferační a prozánětlivý potenciál TNF- α , která by mohla najít uplatnění i u CLL. Zavedení vyšetření sérových koncentrací TGF- β 1 brání fakt, že naše studie je zatím jedinou, v níž byl příznivý vliv TGF- β 1 potvrzen v souvislosti s novými prognostickými ukazateli. V tomto směru je třeba dalších studií na rozsáhlejší souboru nemocných. Jednoznačnou interpretaci prognostického významu TGF- β u CLL také znesnadňuje vliv změn exprese TGF β R.

Dalším důležitým výstupem naší práce pro klinickou praxi je potvrzení negativního prognostického významu masivní lymfadenopatie. V našem souboru šlo téměř ve všech případech o uzliny retroperitoneální, které byly zjištěny pomocí UZ vyšetření. Ultrasonografické vyšetření je tedy vhodné zavést do rutinní praxe v rámci vstupních diagnostických vyšetření a před zahájením léčby. Pomocí UZ lze jednoduše sledovat dynamiku onemocnění ve smyslu objektivního hodnocení nárůstu velikosti uzlin a určit/zpřesnit léčebnou odpověď.

Velkou pozornost do budoucna zaslouží další studie týkající se prognostické hodnoty FGF-2 a jeho receptorů u CLL, neboť do praxe jsou zaváděna nová léčiva s antiangiogenním působením.

9. Použitá literatura

1. MOTYČKOVÁ, M., ŽÁK, P., VROBLOVÁ, V., ANDRÝS, C., BELADA, D., SMOLEJ, L., MALÝ, J. Prognostické faktory u chronické lymfocytární leukemie. *Vnitř Lék*, 2011, vol. 57, no. 10, s. 847-857.
2. VAN BOCKSTAELE, F., VERHASSELT, B., PHILIPPE, J. Prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia: a comprehensive review. *Blood Rev*, 2009, vol. 23, no. 1, s. 25-47.
3. MORENO, C., MONTSERRAT, E. New prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. *Blood Rev*, 2008, vol. 22, no. 4, s. 211-219.
4. GENTILE, M., MAURO, F. R., GUARINI, A., FOA, R. New developments in the diagnosis, prognosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Curr Opin Oncol*, 2005, vol. 17, no. 6, s. 597-604.
5. RAI, K. R. A critical analysis of staging in CLL. In: GALE, RP., RAI, K.R. (editors). *Chronic Lymphocytic Leukemia: Recent Progress and Future Direction*. 1st Edition. New York (NY): Alan R Liss, 1987. 432 p. ISBN 10 084512658X, s. 253-264.
6. BINET, J. L., AUQUIER, A., DIGHIRO, G., CHASTANG, C., PIGUET, H., GOASGUEN, J., VAUGIER, G., POTRON, G., COLONA, P., OBERLING, F., THOMAS, M., TCHERNIA, G., JACQUILLAT, C., BOIVIN, P., LESTY, C., DUAULT, M. T., MONCONDUIT, M., BELABBES, S., GREMY, F. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*, 1981, vol. 48, no. 1, s. 198-206.
7. WAGNER, S. D., CWYNARSKI, K. Chronic lymphocytic leukaemia: new biological markers for assessing prognosis. *Hematol J*, 2004, vol. 5, no. 3, s. 197-201.
8. DÖHNER, H., STILGENBAUER, S., BENNER, A., LEUPOLT, E., KRÖBER, A., BULLINGER, L., DOHNER, K., BENTZ, M., LICHTER, P. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*, 2000, vol. 343, no. 26, s. 1910-1916.
9. MALČÍKOVÁ, J., POSPÍŠILOVÁ, Š., MAYER, J., TRBUŠEK, M. Význam nádorového supresoru p53 u chronické lymfocytární leukemie. *Transfuze Hematol Dnes*, 2010, vol. 16, no. 1, s. 29-32.
10. HAMBLIN, T. J. Prognostic markers in chronic lymphocytic leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2007, vol. 20, no. 3, s. 455-468.
11. HAMBLIN, T. J., DAVIS, Z., GARDINER, A., OSCIER, D. G., STEVENSON, F. K. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 1999, vol. 94, no. 6, s. 1848-1854.
12. DAMLE, R. N., WASIL, T., FAIS, F., GHIOTTO, F., VALETTO, A., ALLEN, S. L., BUCHBINDER, A., BUDMAN, D., DITTMAR, K., KOLITZ, J., LICHTMAN, S. M., SCHULMAN, P., VINCIGUERRA, V. P., RAI, K. R., FERRARINI, M., CHIORAZZI, N. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 1999, vol. 94, no. 6, s. 1840-1847.
13. HAMBLIN, T. J., ORCHARD, J. A., IBBOTSON, R. E., DAVIS, Z., THOMAS, P. W., STEVENSON, F. K., OSCIER, D. G. CD38 expression and immunoglobulin variable region mutations are independent prognostic variables in chronic lymphocytic leukemia, but CD38 expression may vary during the course of the disease. *Blood*, 2002, vol. 99, no. 3, s. 1023-1029.
14. MONTSERRAT, E. New prognostic markers in CLL. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2006, s. 279-284.
15. HUS, I., PODHORECKA, M., BOJARSKA-JUNAK, A., ROLINSKI, J., SCHMITT, M., SIEKLUCKA, M., WASIK-SZCZEPANEK, E., DMOSZYNSKA, A. The clinical significance of ZAP-70 and CD38 expression in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Ann Oncol*, 2006, vol. 17, no. 4, s. 683-690.

16. DOUBEK, M., MAYER, J., OBRTLÍKOVÁ, P., SMOLEJ, L., CMUNT, E., SCHWARZ, J., BREJCHA, M., KOZMON, P., POSPISILOVÁ, S., BRYCHTOVÁ, Y., POSPISIL, Z., TRNENÝ, M. Modern and conventional prognostic markers of chronic lymphocytic leukaemia in the everyday haematological practice. *Eur J Haematol*, 2011, vol. 87, no. 2, s. 130-137.
17. MONTILLO, M., HAMBLIN, T., HALLEK, M., MONTSERRAT, E., MORRA, E. Chronic lymphocytic leukemia: novel prognostic factors and their relevance for risk-adapted therapeutic strategies. *Haematologica*, 2005, vol. 90, no. 3, s. 391-399.
18. KOZÁK, T. Prognostické faktory chronické lymfocytární leukemie. *Transfuze Hematol Dnes*, 2010, vol. 16, no. 1, s. 56-61.
19. HALLEK, M., PFLUG, N. State of the art treatment of chronic lymphocytic leukaemia. *Blood Rev*, 2011, vol. 25, no. 1, s. 1-9.
20. HALLEK, M., CHESON, B. D., CATOVSKY, D., CALIGARIS-CAPPIO, F., DIGHIERO, G., DÖHNER, H., HILLMEN, P., KEATING, M. J., MONTSERRAT, E., RAI, K. R., KIPPS, T. J. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*, 2008, vol. 111, no. 12, s. 5446-5456.
21. FERRAJOLI, A., KEATING, M. J., MANSOURI, T., GILES, F. J., DEY, A., ESTROV, Z., KOLLER, C. A., KURZROCK, R., THOMAS, D. A., FADERL, S., LERNER, S., O'BRIEN, S., ALBITAR, M. The clinical significance of tumor necrosis factor-alpha plasma level in patients having chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 2002, vol. 100, no. 4, s. 1215-1219.
22. DONG, M., BLOBE, G. C. Role of transforming growth factor-beta in hematologic malignancies. *Blood*, 2006, vol. 107, no. 12, s. 4589-4596.
23. FRIEDENBERG, W. R., SALZMAN, S. A., PHAN, S. M., BURMESTER, J. K. Transforming growth factor-beta and multidrug resistance in chronic lymphocytic leukemia. *Med Oncol*, 1999, vol. 16, no. 2, s. 110-118.
24. GORA-TYBOR, J., BLONSKI, J. Z., ROBAK, T. Circulating proangiogenic cytokines and angiogenesis inhibitor endostatin in untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Mediators Inflamm*, 2003, vol. 12, no. 3, s. 167-171.
25. BAGUMA-NIBASHEKA, M., LI, A. W., OSMAN, M. S., GELDENHUYS, L., CASSON, A. G., TOO, C. K., MURPHY, P. R. Coexpression and regulation of the FGF-2 and FGF antisense genes in leukemic cells. *Leuk Res*, 2005, vol. 29, no. 4, s. 423-433.
26. SMOLEJ, L., ANDRYS, C., MAISNAR, V., POUR, L., MALÝ, J. Plasma concentrations of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in lymphoproliferative disorders. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 2005, vol. 48, no. 1, s. 57-58.
27. DIGEL, W., PORZSOLT, F., SCHMID, M., HERRMANN, F., LESSLAUER, W., BROCKHAUS, M. High levels of circulating soluble receptors for tumor necrosis factor in hairy cell leukemia and type B chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Invest*, 1992, vol. 89, no. 5, s. 1690-1693.
28. ROSATI, E., SABATINI, R., TABILIO, A., DI IANNI, M., BARTOLI, A., MARCONI, P. B-chronic lymphocytic leukemia cells exert an in vitro cytotoxicity mediated by tumor necrosis factor alpha. *Leuk Res*, 2005, vol. 29, no. 7, s. 829-839.
29. KAST, R. E., ALTSCHULER, E. L. Anti-apoptosis function of TNF-alpha in chronic lymphocytic leukemia: lessons from Crohn's disease and the therapeutic potential of bupropion to lower TNF-alpha. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2005, vol. 53, no. 2, s. 143-147.
30. TRENTIN, L., ZAMBELLO, R., AGOSTINI, C., ENTHAMMER, C., CERUTTI, A., ADAMI, F., ZAMBONI, S., SEMENZATO, G. Expression and regulation of tumor necrosis factor, interleukin-2, and hematopoietic growth factor receptors in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 1994, vol. 84, no. 12, s. 4249-4256.

31. CHESON, B. D. *Chronic Lymphoid Leukemias: Second Edition, Revised and Expanded*. 2nd Edition. New York: Marcel Dekker, Inc., 2001. 625 p. ISBN 0-8247-0543-2. Chapter 7, Cytokines and Regulatory Molecules in the Pathogenesis and Clinical Course of B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia, s. 127-159.
32. WAAGE, A., ESPEVIK, T. TNF receptors in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*, 1994, vol. 13, no. 1-2, s. 41-46.
33. MUNZERT, G., KIRCHNER, D., STOBBE, H., BERGMANN, L., SCHMID, R. M., DÖHNER, H., HEIMPEL, H. Tumor necrosis factor receptor-associated factor 1 gene overexpression in B-cell chronic lymphocytic leukemia: analysis of NF-kappa B/Rel-regulated inhibitors of apoptosis. *Blood*, 2002, vol. 100, no. 10, s. 3749-3756.
34. BOJARSKA-JUNAK, A., HUS, I., SZCZEPANEK, E. W., DMOSZYNSKA, A., ROLINSKI, J. Peripheral blood and bone marrow TNF and TNF receptors in early and advanced stages of B-CLL in correlation with ZAP-70 protein and CD38 antigen. *Leuk Res*, 2008, vol. 32, no. 2, s. 225-233.
35. SINGER, M. K., ASSEM, M., ABDEL GHAFAR, A. B., MORCOS, N. Y. Role of TNF-alpha as a survival prognostic marker in chronic lymphocytic leukemia patients. *Egypt J Immunol*, 2011, vol. 18, no. 1, s. 51-60.
36. LECH-MARANDA, E., GRZYBOWSKA-IZYDORCZYK, O., WYKA, K., MLYNARSKI, W., BOROWIEC, M., ANTOSIK, K., CEBULA-OBZUT, B., MAKUCH-LASICA, H., NOWAK, G., KLIMKIEWICZ-WOJCIECHOWSKA, G., WAWRZYNIAK, E., BILINSKI, P., ROBAK, T., WARZOCHA, K. Serum tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 levels as markers to predict outcome of patients with chronic lymphocytic leukemia in different risk groups defined by the IGHV mutation status. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2012, vol. 60, no. 6, s. 477-486.
37. HUANG, S. S., HUANG, J. S. TGF-beta control of cell proliferation. *J Cell Biochem*, 2005, vol. 96, no. 3, s. 447-462.
38. BUSKE, C., BECKER, D., FEURING-BUSKE, M., HANNIG, H., GRIESINGER, F., HIDDEMANN, W., WORMANN, B. TGF-beta and its receptor complex in leukemic B-cell precursors. *Exp Hematol*, 1998, vol. 26, no. 12, s. 1155-1161.
39. VON BERGWELT-BAILDON, M., MAECKER, B., SCHULTZE, J., GRIBBEN, J. G. CD40 activation: potential for specific immunotherapy in B-CLL. *Ann Oncol*, 2004, vol. 15, no. 6, s. 853-857.
40. FUCHS, O. Úloha signální dráhy indukované transformačním růstovým faktorem beta při vzniku nádoru. *Klin Onkol*, 2002, vol. 15, no. 1, s. 7 – 16.
41. PERTOVAARA, L., KAIPAINEN, A., MUSTONEN, T., ORPANA, A., FERRARA, N., SAKSELA, O., ALITALO, K. Vascular endothelial growth factor is induced in response to transforming growth factor-beta in fibroblastic and epithelial cells. *J Biol Chem*, 1994, vol. 269, no. 9, s. 6271-6274.
42. HO, C. L., PHYLIKY, R. L., LI, C. Y. B-cell chronic lymphocytic leukemia: correlation of clinical stages with angiogenic cytokine expression. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2006, vol. 14, no. 2, s. 154-160.
43. DECOTEAU, J. F., KNAUS, P. I., YANKELEV, H., REIS, M. D., LOWSKY, R., LODISH, H. F., KADIN, M. E. Loss of functional cell surface transforming growth factor beta (TGF-beta) type 1 receptor correlates with insensitivity to TGF-beta in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, vol. 94, no. 11, s. 5877-5881.
44. LAGNEAUX, L., DELFORGE, A., BERNIER, M., STRYCKMANS, P., BRON, D. TGF-beta activity and expression of its receptors in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*, 1998, vol. 31, no. 1-2, s. 99-106.
45. LAGNEAUX, L., DELFORGE, A., BRON, D., MASSY, M., BERNIER, M., STRYCKMANS, P. Heterogenous response of B lymphocytes to transforming growth factor-beta in B-cell chronic lymphocytic leukaemia: correlation with the expression of TGF-beta receptors. *Br J Haematol*, 1997, vol. 97, no. 3, s. 612-620.

46. SCHIEMANN, W. P., ROTZER, D., PFEIFER, W. M., LEVI, E., RAI, K. R., KNAUS, P., KADIN, M. E. Transforming growth factor-beta (TGF-beta)-resistant B cells from chronic lymphocytic leukemia patients contain recurrent mutations in the signal sequence of the type I TGF-beta receptor. *Cancer Detect Prev*, 2004, vol. 28, no. 1, s. 57-64.
47. 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, vol. 113, no. 2, s. 400-406.
48. KÖNIG, A., MENZEL, T., LYNEN, S., WRAZEL, L., ROSEN, A., AL-KATIB, A., RAVECHE, E., GABRILOVE, J. L. 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, vol. 11, no. 2, s. 258-265.
49. MENZEL, T., RAHMAN, Z., CALLEJA, E., WHITE, K., WILSON, E. L., WIEDER, R., GABRILOVE, J. Elevated intracellular level of basic fibroblast growth factor correlates with stage of chronic lymphocytic leukemia and is associated with resistance to fludarabine. *Blood*, 1996, vol. 87, no. 3, s. 1056-1063.
50. ROMANOV, V. V., JAMES, C. H., SHERRINGTON, P. D., PETTITT, A. R. Basic fibroblast growth factor suppresses p53 activation in the neoplastic cells of a proportion of patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Oncogene*, 2005, vol. 24, no. 45, s. 6855-6860.
51. OKADA-BAN, M., THIERY, J. P., JOUANNEAU, J. Fibroblast growth factor-2. *Int J Biochem Cell Biol*, 2000, vol. 32, no. 3, s. 263-267.
52. GABRILOVE, J. L. Angiogenic growth factors: autocrine and paracrine regulation of survival in hematologic malignancies. *Oncologist*, 2001, vol. 6, no. 5, s. 4-7.
53. GORA-TYBOR, J., BLONSKI, J. Z., ROBAK, T. Cladribine decreases the level of angiogenic factors in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Neoplasma*, 2002, vol. 49, no. 3, s. 145-148.
54. MOLICA, S., VITELLI, G., LEVATO, D., RICCIOTTI, A., DIGIESI, G. 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, vol. 86, no. 1, s. 31-35.
55. MOLICA, S., CUTRONA, G., VITELLI, G., MIRABELLI, R., MOLICA, M., DIGIESI, G., RIBATTI, D., FERRARINI, M., VACCA, A. Markers of increased angiogenesis and their correlation with biological parameters identifying high-risk patients in early B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res*, 2007, vol. 31, no. 11, s. 1575-1578.
56. SMOLEJ, L., ANDRÝS, 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 leukemií a klesají po intenzivní léčbě obsahující fludarabin. *Vnitř Lék*, 2007, vol. 53, no. 11, s. 1171-1176.
57. KREJCI, P., DVORAKOVA, D., KRAHULCOVA, E., PACHERNIK, J., MAYER, J., HAMPL, A., DVORAK, P. FGF-2 abnormalities in B cell chronic lymphocytic and chronic myeloid leukemias. *Leukemia*, 2001, vol. 15, no. 2, s. 228-237.
58. AGUAYO, A., KANTARJIAN, H., MANSOURI, T., GIDEL, C., ESTEY, E., THOMAS, D., KOLLER, C., ESTROV, Z., O'BRIEN, S., KEATING, M., FREIREICH, E., ALBITAR, M. Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes. *Blood*, 2000, vol. 96, no. 6, s. 2240-2245.
59. SMOLEJ, L., ANDRYS, C., PEKOVA, S., SCHWARZ, J., BELADA, D., ZAK, P. 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, vol. 91, no. 10, s. 1432-1433.
60. SHANAFELT, T. D., GEYER, S. M., BONE, N. D., SCHWAGER, S., LEE, Y. K., NOWAKOWSKI, G., CALL, T. G., ZENT, C. S., KAY, N. E. Evaluation of the prognostic implications of pro- and anti-angiogenic cytokines in 311 patients with untreated chronic

- lymphocytic leukemia. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, 2005, vol. 106, no. 11, abstract 712. Print ISSN: 0006-4971. Online ISSN: 1528-0020.
61. DUENSING, S., ATZPODIEN, J. Increased intracellular and plasma levels of basic fibroblast growth factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 1995, vol. 85, no. 7, s. 1978-1980.
 62. SMOLEJ, L., BENEŠOVÁ, P. Význam angiogeneze u maligních nádorů. *Acta Medica (Hradec Kralove) Suppl*, 2005, vol. 48, no. 2, s. 69-72.
 63. ALLOUCHE, M., BAYARD, F., CLAMENS, S., FILLOLA, G., SIE, P., AMALRIC, F. Expression of basic fibroblast growth factor (bFGF) and FGF-receptors in human leukemic cells. *Leukemia*, 1995, vol. 9, no. 1, s. 77-86.
 64. YAN, X. J., DOZMOROV, I., LI, W., YANCOPOULOS, S., SISON, C., CENTOLA, M., JAIN, P., ALLEN, S. L., KOLITZ, J. E., RAI, K. R., CHIORAZZI, N., SHERRY, B. Identification of outcome-correlated cytokine clusters in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 2011, vol. 118, no. 19, s. 5201-5210.
 65. ADAMI, F., GUARINI, A., PINI, M., SIVIERO, F., SANCETTA, R., MASSAIA, M., TRENTIN, L., FOA, R., SEMENZATO, G. Serum levels of tumour necrosis factor-alpha in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Eur J Cancer*, 1994, vol. 30A, no. 9, s. 1259-1263.
 66. GENTILE, M., CUTRONA, G., NERI, A., MOLICA, S., FERRARINI, M., MORABITO, F. Predictive value of beta2-microglobulin (beta2-m) levels in chronic lymphocytic leukemia since Binet A stages. *Haematologica*, 2009, vol. 94, no. 6, s. 887-888.
 67. WIERDA, W. G., O'BRIEN, S., WANG, X., FADERL, S., FERRAJOLI, A., DO, K. A., CORTES, J., THOMAS, D., GARCIA-MANERO, G., KOLLER, C., BERAN, M., GILES, F., RAVANDI, F., LERNER, S., KANTARJIAN, H., KEATING, M. Prognostic nomogram and index for overall survival in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 2007, vol. 109, no. 11, s. 4679-4685.
 68. SHANAFELT, T. D., JENKINS, G., CALL, T. G., ZENT, C. S., SLAGER, S., BOWEN, D. A., SCHWAGER, S., HANSON, C. A., JELINEK, D. F., KAY, N. E. Validation of a new prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*, 2009, vol. 115, no. 2, s. 363-372.
 69. BULIAN, P., TARNANI, M., ROSSI, D., FORCONI, F., DEL POETA, G., BERTONI, F., ZUCCA, E., MONTILLO, M., POZZATO, G., DEAGLIO, S., D'ARENA, G., EFREMOV, D., MARASCA, R., LAURIA, F., GATTEI, V., GAIDANO, G., LAURENTI, L. Multicentre validation of a prognostic index for overall survival in chronic lymphocytic leukaemia. *Hematol Oncol*, 2011, vol. 29, no. 2, s. 91-99.
 70. ROMANO, S., MALLARDO, M., CHIURAZZI, F., BISOGNI, R., D'ANGELILLO, A., LIUZZI, R., COMPARE, G., ROMANO, M. F. The effect of FK506 on transforming growth factor beta signaling and apoptosis in chronic lymphocytic leukemia B cells. *Haematologica*, 2008, vol. 93, no. 7, s. 1039-1048.
 71. D'ARENA, G., D'AURIA, F., SIMEON, V., LAURENTI, L., DEAGLIO, S., MANSUETO, G., DEL PRINCIPE, M. I., STATUTO, T., PIETRANTUONO, G., GUARIGLIA, R., INNOCENTI, I., MARTORELLI, M. C., VILLANI, O., DE FEO, V., DEL POETA, G., MUSTO, P. A shorter time to the first treatment may be predicted by the absolute number of regulatory T-cells in patients with Rai stage 0 chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol*, 2012, vol. 87, no. 6, s. 628-631.
 72. MOLICA, S., MAURO, F. R., CALLEA, V., GIANNARELLI, D., LAURIA, F., ROTOLI, B., CORTELEZZI, A., LISO, V., FOA, R. The utility of a prognostic index for predicting time to first treatment in early chronic lymphocytic leukemia: the GIMEMA experience. *Haematologica*, 2010, vol. 95, no. 3, s. 464-469.
 73. SMOLEJ, L., ANDRYS, C., VROBLOVA, V. Modern prognostic factors and angiogenesis in chronic lymphocytic leukemia: more data needed. *Leuk Res*, 2007, vol. 31, no. 12, s. 1763-1764.

74. EICHHORST, B. F., FISCHER, K., FINK, A. M., ELTER, T., WENDTNER, C. M., GOEDE, V., BERGMANN, M., STILGENBAUER, S., HOPFINGER, G., RITGEN, M., BAHLO, J., BUSCH, R., HALLEK, M. Limited clinical relevance of imaging techniques in the follow-up of patients with advanced chronic lymphocytic leukemia: results of a meta-analysis. *Blood*, 2011, vol. 117, no. 6, s. 1817-1821.
75. NORIN, S., KIMBY, E., LUNDIN, J. Tumor burden status evaluated by computed tomography scan is of prognostic importance in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Med Oncol*, 2010, vol. 27, no. 3, s. 820-825.
76. SMOLEJ, L., BACHH, A., VODÁREK, P., MOTYČKOVÁ, M., ŠIMKOVIČ, M. The role of imaging methods in chronic lymphocytic leukemia: significant internal lymphadenopathy is frequent and associated with shorter overall survival. *Haematologica*, 2012, vol. 97, no. 1, s. 302.
77. SORROR, M. L., STORER, B. E., SANDMAIER, B. M., MARIS, M., SHIZURU, J., MAZIARZ, R., AGURA, E., CHAUNCEY, T. R., PULSIPHER, M. A., MCSWEENEY, P. A., WADE, J. C., BRUNO, B., LANGSTON, A., RADICH, J., NIEDERWIESER, D., BLUME, K. G., STORB, R., MALONEY, D. G. Five-year follow-up of patients with advanced chronic lymphocytic leukemia treated with allogeneic hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning. *J Clin Oncol*, 2008, vol. 26, no. 30, s. 4912-4920.
78. HERTLEIN, E., WAGNER, A. J., JONES, J., LIN, T. S., MADDOCKS, K. J., TOWNS, W. H., 3RD, GOETTL, V. M., ZHANG, X., JARJOURA, D., RAYMOND, C. A., WEST, D. A., CROCE, C. M., BYRD, J. C., JOHNSON, A. J. 17-DMAG targets the nuclear factor-kappaB family of proteins to induce apoptosis in chronic lymphocytic leukemia: clinical implications of HSP90 inhibition. *Blood*, 2010, vol. 116, no. 1, s. 45-53.
79. BHALLA, S., BALASUBRAMANIAN, S., DAVID, K., SIRISAWAD, M., BUGGY, J., MAURO, L., PRACHAND, S., MILLER, R., GORDON, L. I., EVENS, A. M. PCI-24781 induces caspase and reactive oxygen species-dependent apoptosis through NF-kappaB mechanisms and is synergistic with bortezomib in lymphoma cells. *Clin Cancer Res*, 2009, vol. 15, no. 10, s. 3354-3365.
80. WOYACH, J. A., LIN, T. S., LUCAS, M. S., HEEREMA, N., MORAN, M. E., CHENEY, C., LUCAS, D. M., WEI, L., CALIGIURI, M. A., BYRD, J. C. A phase I/II study of rituximab and etanercept in patients with chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma. *Leukemia*, 2009, vol. 23, no. 5, s. 912-918.
81. BALATO, A., LEMBO, S., CIRILLO, T., MEGNA, M., RAIMONDO, A., DI COSTANZO, L. Anti-Tumor Necrosis Factor-alpha Therapy in the Management of Psoriasis and B-Chronic Lymphocytic Leukemia. *Case Rep Dermatol*, 2011, vol. 3, no. 1, s. 60-63.
82. XIA, Y., LU, R. N., LI, J. Angiogenic factors in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res*, 2012, vol. 36, no. 10, s. 1211-1217.
83. AWAN, F. T., JOHNSON, A. J., LAPALOMBELLA, R., HU, W., LUCAS, M., FISCHER, B., BYRD, J. C. Thalidomide and lenalidomide as new therapeutics for the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*, 2010, vol. 51, no. 1, s. 27-38.

10. Přehled publikační činnosti autora

10.1 Monografie a kapitoly v monografiích

Autor zatím žádnou monografii ani kapitolu v monografii do tisku neodeslal.

10.2 Původní články

MOTYČKOVÁ, M., SMOLEJ, L., ANDRÝS, C., ŘEZÁČOVÁ, V., ŘEHÁČEK, V., ŠIMKOVIČ, M., BELADA, D., ŽÁK, P. Hodnocení vybraných ukazatelů apoptózy a angiogeneze u chronické lymfocytární leukemie. Práce byla 23.4.2013 přijata do Vnitřního lékařství, zatím neotištěna.

MOTYČKOVÁ, M., SMOLEJ, L., BELADA, D., MALÝ, J., ŽÁK, P. Naše zkušenosti s léčbou primárních lymfomů centrálního nervového systému. *Vnitř Léč*, 2012, vol. 54, no. 12, s. 915-921.

SMOLEJ, L., DOUBEK, M., PANOVSKÁ, A., ŠIMKOVIČ, M., BRYCHTOVÁ, Y., BELADA, D., **MOTYČKOVÁ, M.**, MAYER, J. Rituximab in combination with high-dose dexamethasone for the treatment of relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res*, 2012, vol. 36, no. 10, s. 1278-1282. **IF 2.923**

SMOLEJ, L., VROBLOVA, V., **MOTYCKOVA, M.**, JANKOVICOVA, K., SCHMITZOVA, D., KREJSEK, J., MALY, J. Quantification of ZAP-70 expression in chronic lymphocytic leukemia: T/B-cell ratio of mean fluorescence intensity provides stronger prognostic value than percentage of positive cells. *Neoplasma*, 2011, vol. 58, no. 2, s. 140-145. **IF 1.449**

VROBLOVA, V., VRBACKY, F., **HRUDKOVA, M.**, JANKOVICOVA, K., SCHMITZOVA, D., MALY, J., KREJSEK, J., SMOLEJ, L. Significant change in ZAP-70 expression during the course of chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol*, 2010, vol. 84, no. 6, s. 513-517. **IF 2,345**

VRBACKY, F., SMOLEJ, L., VROBLOVA, V., PEKOVA, S., **HRUDKOVA, M.**, CERVINKA, M., PECKA, M., KREJSEK, J., MALY, J. Angiopoietin-2 mRNA expression is increased in chronic lymphocytic leukemia patients with poor prognostic features. *Hematology*, 2010, vol. 15, no. 4, s. 210-214. **IF 1.333**

VALIŠ, M., BELADA, D., TALÁB, R., **HRUDKOVÁ, M.**, MASOPUST, J., HORNYCHOVÁ, H., KLZO, L., KANTA, M., MALÝ, J. Progresivní multifokální leukoencefalopatie jako komplikace léčby lymfomu – kazuistika. *Cesk Slov Neurol N*, 2009, vol. 72/105, no. 2, s. 159-161.

SMOLEJ, L., ANDRÝS, C., BELADA, D., **HRUDKOVÁ, M.**, KREJSEK, J., MALÝ, J. Plazmatické koncentrace solubilního endoglinu mají prognostický význam u nemocných s chronickou lymfocytární leukemií. *Transfuzie Hematol Dnes*, 2008, vol. 14, no. 1, s. 24-27.

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, vol. 52, no. 3, s. 157–166.

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, vol. 50, no. 2, s. 113-118.

HRUDKOVÁ, M., DULÍČEK, P.: Léčba esenciální trombocytémie v těhotenství. Popis případu. *Lék Zpr LF UK Hradec Králové*, 2006, vol. 51, no. 2, s. 180-183.

10.3 Statě ve sbornících

SMOLEJ, L., BACHH, A., VODÁREK, P., **MOTYČKOVÁ, M.**, ŠIMKOVIČ, M. The role of imaging methods in chronic lymphocytic leukemia: significant internal lymphadenopathy is frequent and associated with shorter overall survival. 17th Congress of the European Hematology Association, Amsterdam, 14.-17.6.2012. *Haematologica*, 2012, vol. 97, S1, s. 302. **IF 6,424**

SIMKOVIC, M., **MOTYCKOVA, M.**, BELADA, D., MALY, J., SMOLEJ, L. Rituximab Infusion-Related Toxicity In Patients With CLL. 17th Congress of the European Hematology Association, Amsterdam, 14.-17.6.2012. *Haematologica*, 2012, vol. 97, S1, s. 525. **IF 6,424**

SIMKOVIC, M., **MOTYCKOVA, M.**, BELADA, D., MALY, J., SMOLEJ, L. Rituximab Infusion-Related Toxicity In Patients With CLL. 14th International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia, Houston, 28.-30.10.2011. *Clin Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 2011, vol. 11, S2 , s. 275. **IF 1.880**

ŠIMKOVIČ, M., **MOTYČKOVÁ, M.**, BELADA, D., MALÝ, J., SMOLEJ, L. Infúzní toxicita rituximabu v léčbě 1. line u nemocných s chronickou lymfocytární leukemií. XXV. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XV. Konference ošetřovatelských profesí v hematologii, XIV. Konference zdravotních laborantů v hematologii, Olomouc, 22.-25.6.2011. *Transfuzie Hematol Dnes*, 2011, vol. 17, S1, s. 62.

BACHH, A., VODAREK, P., SIMKOVIC, M., **MOTYCKOVA, M.**, SMOLEJ, L. The role of Imaging Methods in CLL: Significant Internal Lymphadenopathy is Frequent and Associated with Shorter Overall Survival. 14th International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia, Houston, 28.-30.10.2011. *Clin Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 2011, vol. 11, S2, s. 199-S200. **IF 1.880**

DOUBEK, M., ŠIMKOVIČ, M., PANOVSÁ, A., **HRUDKOVÁ, M.**, BELADA, D., BRYCHTOVÁ, Y., MAYER, J., SMOLEJ, L. Rituximab In Combination with High-Dose Dexamethasone: An Effective Treatment Option for Patients with Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. 52nd ASH Annual Meeting, Orlando, FL, US, 4.-7.12.2010. *Blood*, 2010, vol. 116, S21. Abstract: 4629. **IF 10.555**

SMOLEJ, L., SPACEK, M., BRYCHTOVA, Y., BELADA, D., SCHWARZ, J., DOUBEK, M., **MOTYCKOVA, M.**, CMUNT, E., ROHON, P., KLASKOVA, K., KOZAK, T. Low-Dose Fludarabine and Cyclophosphamide

Combined with Rituximab In the Treatment of Elderly/Comorbid Patients with chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma (CLL/SLL): Preliminary Results of Project Q-Lite by Czech CLL Study Group 52nd ASH Annual Meeting, Orlando, FL, US, 4.-7.12.2010. *Blood*, 2010, vol. 116, S21. Abstract: 2466. **IF 10.555**

PANOVSKÁ, A., ŠIMKOVIČ, M., BELADA, D., **HRUDKOVÁ, M.**, SMOLEJ, L., MAYER, J., DOUBEK, M. Rituximab v kombinaci s vysokodávkovaným dexamethasonem: efektivní léčebná modalita u pacientů s relabující/refrakterní chronickou lymfocytární leukémií. XXIV. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XIV. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XIII. Konference zdravotních laborantů v hematologii, 3nd Symposium on Advances in Molecular Hematology, Olomouc, 24.-26.6.2010. *Transfuze Hematol Dnes*, 2010, vol. 16, S2, s. 17.

SMOLEJ, L., ŠPAČEK, M., **HRUDKOVÁ, M.**, BRYCHTOVÁ, Y., DOUBEK, M., SCHWARZ, J., CMUNT, E., ROHOŇ, P., KLÁSKOVÁ, K., KOZÁK, T. Nízkodávkovaný fludarabin a cyklofosamid v kombinaci s rituximabem v léčbě starších a komorbidních nemocných s chronickou lymfocytární leukémií/lymfomem z malých lymfocytů (CLL/SLL): projekt Q-lite České skupiny pro CLL. XXIV. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XIV. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XIII. Konference zdravotních laborantů v hematologii, 3nd Symposium on Advances in Molecular Hematology, Olomouc, 24.-26.6.2010. *Transfuze Hematol Dnes*, 2010, vol. 16, S2, s. 10.

VROBLOVÁ, V., SCHMITZOVÁ, D., JANKOVIČOVÁ, K., **HRUDKOVÁ, M.**, PEKOVÁ, S., VRBACKÝ, F., KUČEROVÁ, L., KREJSEK, J., MALÝ, J., SMOLEJ, L. Prognostický význam stanovení proteinu ZAP-70 průtokovou cytometrií metodou střední fluorescenční intenzity (MFI) u nemocných s chronickou lymfocytární leukémií. XXIV. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XIV. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XIII. Konference zdravotních laborantů v hematologii, 3nd Symposium on Advances in Molecular Hematology, Olomouc, 24.-26.6.2010. *Transfuze Hematol Dnes*, 2010, vol. 16, S2, s. 19.

ŠIMKOVIČ, M., PANOVSKÁ, A., BELADA, D., **HRUDKOVÁ, M.**, BRYCHTOVÁ, Y., MAYER, J., SMOLEJ, L., DOUBEK, M. Rituximab in combination with high-dose dexamethasone: an effective treatment option for patients with relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. 15th Congress of the European Hematology Association, Barcelona, 10.-13.6.2010. *Haematologica*, 2010, vol. 95, S2, s. 326. **IF 6.416**

HRUDKOVÁ, M., ŠIMKOVIČ, M., BELADA, D., SMOLEJ, L., MALÝ, J. Úspěšná léčba intravaskulárního velkobuněčného lymfomu rituximabem v monoterapii. XXIV. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XIV. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XIII. Konference zdravotních laborantů v hematologii, 3nd Symposium on Advances in Molecular Hematology, Olomouc, 24.-26.6.2010. *Transfuze Hematol Dnes*, 2010, vol. 16, S2, s. 114-115.

HRUDKOVÁ, M., BELADA, D., DULÍČEK, P., SMOLEJ, L., MALÝ, J. Dlouhodobá remise leukemizovaného folikulárního lymfomu se získanou von Willebrandovou chorobou a sekundární paraproteinémií IgM kappa po chemoterapii CHOP s konsolidací rituximabem. XXIII. Olomoucké

hematologické dny s mezinárodní účastí, XIII. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XII. Konference zdravotních laborantů v hematologii, 2nd Symposium on Advances in Molecular Hematology, Olomouc, 24.6.- 26.6.2009. *Transfuzie Hematol Dnes*, 2009, vol. 15, S1, s. 62-63.

BELADA, D., SÝKOROVÁ, A., ŠTĚPÁNKOVÁ, P., **HRUDKOVÁ, M.**, ŠIMKOVIČ, M., SMOLEJ, L., MALÝ, J. Vyšší věk není kontraindikací kurativní terapie u pacientů s difúzním B velkobuněčným lymfomem. XXIII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XIII. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XII. Konference zdravotních laborantů v hematologii, 2nd Symposium on Advances in Molecular Hematology, Olomouc, 24.6.- 26.6.2009. *Transfuzie Hematol Dnes*, 2009, vol. 15, S1, s. 11.

SMOLEJ, L., VROBLOVÁ, V., **HRUDKOVÁ, M.**, KREJSEK, J., MALÝ, J. Expres ZAP-70 u nemocných s chronickou lymfocytární leukémií se může významně měnit v čase. XXIII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XIII. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XII. Konference zdravotních laborantů v hematologii, 2nd Symposium on Advances in Molecular Hematology, Olomouc, 24.6.- 26.6.2009. *Transfuzie Hematol Dnes*, 2009, vol. 15, S1, s. 26.

SMOLEJ, L., LYSÁK, D., ŠÁLKOVÁ, J., PAPAJÍK, T., BREJCHA, M., VOZOBULOVÁ, V., KARBAN, J., **HRUDKOVÁ, M.**, CMUNT, E., TURCSANYI, P., JUNGOVÁ, A., KREJČOVÁ, H., TRNĚNÝ, M. Fludarabin, cyklofosamid a rituximab (FCR) v 1. linii léčby chronické lymfocytární leukémie (CLL): retrospektivní analýza České CLL skupiny. XXIII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XIII. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XII. Konference zdravotních laborantů v hematologii, 2nd Symposium on Advances in Molecular Hematology, Olomouc, 24.6.- 26.6.2009. *Transfuzie Hematol Dnes*, 2009, vol. 15, S1, s. 46.

SMOLEJ, L., BELADA, D., RUSÍNOVÁ, M., KUČEROVÁ, L., PEKOVÁ, S., KREJSEK, J., NOVÁ, M., SOUKUP, J., KODET, R., **HRUDKOVÁ, M.**, LÁNSKÁ, M., ZAVŘELOVÁ, A., ŽÁK, P. Úspěšná léčba alemtuzumabem s následnou alogenní transplantací u nemocné s refrakterním CD5-negativním lymfomem z plášťových buněk a delecí 17p13. XXIII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XIII. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XII. Konference zdravotních laborantů v hematologii, 2nd Symposium on Advances in Molecular Hematology, Olomouc, 24.6.- 26.6.2009. *Transfuzie Hematol Dnes*, 2009, vol. 15, S1, s. 64-65.

SMOLEJ, L., ANDRÝS, C., **HRUDKOVÁ, M.**, BELADA, D., VROBLOVÁ, V., KUČEROVÁ, L., PEKOVÁ, S., MALÝ, J. Elevated soluble endoglin (sCD105) is a novel adverse prognostic factor in chronic lymphocytic leukaemia. 49th Annual Scientific Meeting of the British Society for Haematology, Brighton, UK, 27.-29.4.2009. *Br J Haematol*, 2009, vol. 145, S1, s. 9. **IF 4.941**

SMOLEJ, L., ANDRÝS, C., VRBACKÝ, F., VROBLOVÁ, V., **HRUDKOVÁ, M.**, KREJSEK, J., MALÝ, J. Complex activation of angiogenic signaling in chronic lymphocytic leukaemia: evidence from circulating angiogenic cytokines, association with prognostic markers and impact on clinical course. 49th Annual Scientific Meeting of the British Society for Haematology, Brighton, UK, 27.-29.4.2009. *Br J Haematol*, 2009, vol. 145, S1, s. 8. **IF 4.941**

VROBLOVÁ, V., SMOLEJ, L., **HRUDKOVÁ, M.**, VRBACKÝ, F., KREJSEK, J., MALÝ, J. ZAP-70 expression may change significantly during the course of chronic lymphocytic leukemia. XIII International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia, Barcelona, 16.-18.10.2009. *Haematologica*, 2009, vol. 94, S3, s. 55. **IF 5.978**

SMOLEJ, L., **HRUDKOVÁ, M.**, PEKOVÁK, S., KUČEROVÁ, L., ŽÁK P., BELADA, D., SCHWARZ, J., SOBOTKA, L., HOLUBOVÁ, V., MALÝ, J. Combination of IgVH mutational status and genetic abnormalities detected by FISH may further refine prognostic stratification in patients with chronic lymphocytic leukaemia. 48th Annual Scientific Meeting, incorporating the 6th Bi-Annual I-BFM Leukaemia Symposium, Glasgow, UK, 7.- 9.4.2008. *Br J Haematol*, 2008, vol. 141, S1, s. 37. **IF 4.498**

SMOLEJ, L., ANDRÝS, C., VROBLOVÁ, V., BELADA, D., **HRUDKOVÁ, M.**, MALÝ, J., KREJSEK, J. Markers of angiogenesis and their correlation prognostic factors and clinical course of chronic lymphocytic leukaemia. 48th Annual Scientific Meeting, incorporating the 6th Bi-Annual I-BFM Leukaemia Symposium, Glasgow, UK, 7.- 9.4.2008. *Br J Haematol*, 2008, vol. 141, S1, s. 26. **IF 4.498**

SMOLEJ, L., KREJSEK, J., ANDRÝS, C., KAŠPAROVÁ, P., ŽÁK, P., **HRUDKOVÁ, M.**, NOVOSAD, J., VROBLOVÁ, V. Markers of angiogenesis and their correlation with ZAP-70 expression and clinical course of chronic lymphocytic leukaemia. The Twelfth Scientific Conference of the Charles University, Faculty of Medicine and University Hospital, Hradec Králové, 22.1.2008. *Acta Med*, 2008, vol. 51, S1, s. 87-88.

SMOLEJ, L., ANDRÝS, C., KUČEROVÁ, L., PEKOVÁ, S., BELADA, D., **HRUDKOVÁ, M.**, ŽÁK, P., KREJSEK, J., ŠIROKÝ, O., MALÝ, J. Soluble endoglin in chronic lymphocytic leukemia: correlation with prognostic factors and impact on clinical course. XV. Česko-Slovenský hematologický a transfuziologický kongres s mezinárodní účastí, IX. Česko-Slovenská konference laboratorní hematologie s mezinárodní účastí, Špindlerův Mlýn, 5.-9.9.2008. *Transfuzie Hematol Dnes*, 2008, vol. 14, S2, s. 102.

SMOLEJ, L., ANDRÝS, C., BELADA, D., **HRUDKOVÁ, M.**, ŽÁK, P., KREJSEK, J., MALÝ, J. Plasma levels of soluble endoglin have prognostic significance in patients with chronic lymphocytic leukemia. 13th Congress of the European Hematology Association, Copenhagen, 12.-15.6.2008. *Haematologica*, 2008, vol. 93, S1, s. 459. **IF 5.516**

SMOLEJ, L., ANDRÝS, C., PEKOVÁ, S., KUČEROVÁ, L., **HRUDKOVÁ, M.**, BELADA, D., MALÝ, J. Circulating angiogenic cytokines in chronic lymphocytic leukemia: relationship to modern prognostic factors and effect of fludarabine-based treatment. 50th ASH Annual Meeting, San Francisco, 6.-9.12.2008. *Blood*, 2008, vol. 112, S10. Abstract: 4186. **IF 10.432**

VRBACKY, F., SMOLEJ, L., VROBLOVA, V., PEKOVA, S., **HRUDKOVA, M.**, PECKA, M., MALY, J. Angiopoietin-2 mRNA Expression Is Elevated in Chronic Lymphocytic Leukemia Patients with Poor Prognostic Features. 50th ASH Annual Meeting, San Francisco, 6.-9.12.2008. *Blood*, 2008, vol. 112, S10. Abstract: 4182. **IF 10.432**

SMOLEJ, L., ANDRÝS, C., VRBACKÝ, F., PEKOVÁ, S., KUČEROVÁ, L., VROBLOVÁ, V., **HRUDKOVÁ, M.**, BELADA, D., MALÝ, J. Complex activation of angiogenic signaling in chronic lymphocytic leukemia: association with prognostic factors and impact on clinical course. Pražský hematologický den, Praha, 23.10.2008. *Sborník abstrakt. Praha: Karolinum, 2008, nestr.*

VRBACKÝ, F., SMOLEJ, L., VROBLOVÁ, V., PEKOVÁ, S., ŠAROUNOVÁ, K., **HRUDKOVÁ, M.**, PECKA, M., MALÝ, J. Vztah mezi expresí angiopoetinu-2 a prognózou u nemocných s chronickou lymfocytární leukémií. XV. Česko-Slovenský hematologický a transfuziologický kongres s mezinárodní účastí, IX. Česko-Slovenská konference laboratorní hematologie s mezinárodní účastí, Špindlerův Mlýn, 5.-9.9.2008. *Transfuze Hematol Dnes, 2008, vol. 14, S2, s. 25.*

HRUDKOVÁ, M., ANDRÝS, C., VROBLOVÁ, V., SMOLEJ, L., ŽÁK, P., BELADA, D., KREJSEK, J., MALÝ, J. Zvýšené sérové koncentrace tumor necrosis faktoru alfa (TNF- α) u chronické lymfocytární leukémie. XV. Česko-Slovenský hematologický a transfuziologický kongres s mezinárodní účastí, IX. Česko-Slovenská konference laboratorní hematologie s mezinárodní účastí, Špindlerův Mlýn, 5.-9.9.2008. *Transfuze Hematol Dnes, 2008, vol. 14, S2, s. 102.*

SMOLEJ, L., ANDRÝS, C., BELADA, D., **HRUDKOVÁ, M.**, ŽÁK, P., KREJSEK, J., MALÝ, J. Plazmatické koncentrace solubilního endoglinu mají prognostický význam u nemocných s chronickou lymfocytární leukémií. XXII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XII. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XI. Konference zdravotních laborantů v hematologii, Olomouc, 28.-30.5.2008. *Vnitř Lék, 2008, vol. 54, S5, s. 86-87.*

HRUDKOVÁ, M., BELADA, D., SMOLEJ, L., MALÝ, J. Primární CNS lymfomy – zkušenosti centra. XXII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XII. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XI. Konference zdravotních laborantů v hematologii, Olomouc, 28.-30.5.2008. *Vnitř Lék, 2008, vol. 54, S5, s. 43-44.*

HRUDKOVÁ, M., BELADA, D., VALIŠ, M., HORNYCHOVÁ, H., ABUHAJAR, M., MALÝ, J.: Progresivní multifokální leukoencefalopatie – vzácná komplikace po podání chemoterapie a rituximabu u nemocného s lymfomem. XXII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XII. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XI. Konference zdravotních laborantů v hematologii, Olomouc, 28.-30.5.2008. *Vnitř Lék, 2008, vol. 54, S5, s. 77-78.*

HRUDKOVÁ, M., SMOLEJ, L., BELADA, D., ŽÁK, P., PEKOVÁ, S., SCHWARZ, J., KUČEROVÁ, L., HOLUBOVÁ, L., SOBOTKA, J., MALÝ, J.: Kombinace mutačního stavu IgVH a cytogenetických odchylek může zpřesnit prognózu u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií. XXI. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XI. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, X. Konference zdravotních laborantů v hematologii, Olomouc, 16.-19.6.2007. *Sborník abstrakt, Rubico, 2007, s. 84-85.*

HRUDKOVÁ, M., SMOLEJ, L., BELADA, D., ŽÁK, P., MALÝ, J.: Léčba chronické lymfocytární leukémie režimem FCR (perorální fludarabin a cyklofosfamid + rituximab) – zkušenosti jednoho centra.

cyklofosfamid + rituximab). XXI. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XI. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, X. Konference zdravotních laborantů v hematologii, Olomouc, 16.-19.6.2007. *Sborník abstrakt, Rubico*, 2007, s. 85-86.

HRUDKOVÁ, M., SMOLEJ, L., BELADA, D., ŽÁK, P., MALÝ, J. Oral fludarabine and cyclophosphamide in combination with rituximab (FCR) is safe and effective in chronic lymphocytic leukemia patients with unfavourable prognostic factors. XII International Workshop on CLL, London, 14.-16.9.2007. *Leuk Lymphoma*, 2007, vol. 48, S1, s. 180-181. **IF 1.559**

HRUDKOVÁ, M., SMOLEJ, L., PEKOVÁ, S., SCHWARZ, J., KUČEROVÁ, L., BELADA, D., ŽÁK, P., MALÝ, J. Combination of IgVH mutational status and genetic abnormalities may further refine prognostic stratification in patients with chronic lymphocytic leukemia. XII International Workshop on CLL, London, 14.-16.9.2007. *Leuk Lymphoma*, 2007, vol. 48, S1, s. 83. **IF 1.559**

HRUDKOVÁ, M., BELADA, D., VALIŠ, M., HORNYCHOVÁ, H., ABUHAJAR, M., MALÝ, J. Progresivní multifokální leukoencefalopatie – vzácná komplikace po podání chemoterapie a rituximabu u nemocného s lymfomem. XIV. Jihočeské onkologické dny, Český Krumlov, 11.-13.10.2007. *Sborník přednášek: Diagnostika a léčba maligních lymfomů*, 2007, s. 126-127.

SMOLEJ, L., ANDRÝS, C., VROBLOVÁ, V., 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 s mezinárodní účastí, XI. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, X. Konference zdravotních laborantů v hematologii, Olomouc, 16.-19. 6. 2007. *Sborník abstrakt, Rubico*, 2007, s. 86.

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. 12th Congress of the European Hematology Association, Vienna, 7.-10.6.2007. *Haematologica*, 2007, vol. 92, S1, s. 250. **IF=5,032**

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. 12th Congress of the European Hematology Association, Vienna, 7.-10.6.2007. *Haematologica*, 2007, vol. 92, S1, s. 45. **IF=5,032**

SMOLEJ, L., ANDRÝS, C., BENEŠOVÁ, P., **HRUDKOVÁ, M.**, KREJSEK, J., MALÝ, J. Angiogeneze u chronické lymfocytární leukémie. XXXI. Brněnské onkologické dny s XXI. Konferencí pro sestry a laboranty, Brno, 23.-25.4.2007. *Edukační sborník, Masarykův onkologický ústav*, 2007, s. 185.

SMOLEJ, L., ANDRYS, C., **HRUDKOVA, M.** Clinical Significance of Plasma Endostatin in Patients With Chronic Lymphocytic Leukaemia. 47th Annual Scientific Meeting of the British Society for Haematology, Bournemouth, UK, 30.4.-2.5.2007. *Br J Haematol*, 2007, vol. 137, S1, s. 59. **IF=4,498**

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. The Eleventh Scientific Conference of the Charles University, Faculty of Medicine and University Hospital, Hradec Králové, 23.1.2007. *Acta Medica (Hradec Králové)*, 2007, vol. 50, S1, s. 85.

SMOLEJ, L., KREJSEK, J., ANDRÝS, C., KAŠPAROVÁ-BENEŠOVÁ, P., ŽÁK, P., **HRUDKOVÁ, M.**, NOVOSAD, J. Angiogenesis in chronic lymphocytic leukemia: association with modern prognostic factors. The tenth scientific conference of the Charles University, Faculty of Medicine and University Hospital, Hradec Králové, 24.1.2006. *Acta Medica (Hradec Králové)*, 2006, vol. 49, S2, s. 152.

HRUDKOVÁ, M., ŽÁK, P., MALÝ, J., SMOLEJ, L. Alemtuzumab v léčbě B- chronické lymfocytární leukemie – zkušenosti jednoho centra. XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 31.5.-3.6.2006. *Sborník abstrakt, Rubico*, 2006, s. 76.

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. 11th Congress of the European Hematology Association, Amsterdam, 15.-18.6.2006. *Haematologica*, 2006, vol. 91, S1, s. 498. **IF=4,192**

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. 11th Congress of the European Hematology Association, Amsterdam, 15.-18.6.2006. *Haematologica*, 2006, vol. 91, S1, s. 91. **IF=4,192**

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. 46th Annual Scientific Meeting of the British Society for Haematology Incorporating the Netherlands and British Haemostasis and Thrombosis Societies, Edinburgh, UK, 3.-5.4.2006. *Br J Haem*, 2006, vol. 133; S1, s. 102. **IF=4,080**

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. 46th Annual Scientific Meeting of the British Society for Haematology Incorporating the Netherlands and British Haemostasis and Thrombosis Societies, Edinburgh, UK, 3.-5.4.2006. *Br J Haem*, 2006, vol. 133; S1, s. 104. **IF=4,080**

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 leukemia: significantly higher bFGF but not VEGF in IgVH mutated patients. II.ročník Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, Olomouc, 7.-9.12.2006. *Abstrakta, Solen*, 2006, s. 48.

SMOLEJ ,L., **HRUDKOVÁ, M.**, ANDRÝS,C., BELADA, D., POUR, L., ŽÁK, P., KREJSEK, J., NOVOSAD, J., MALÝ, J. Plasma soluble endoglin (CD105) concentrations in patients with lymphoid malignancies - a pilot study. II.ročník Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, Olomouc, 7.-9.12.2006. *Abstrakta, Solen*, 2006, s. 48.

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. XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 31.5.-3.6.2006. *Sborník abstrakt, Rubico*, 2006, s. 78.

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 s XX. Konferencí pro sestry a laboranty, Brno, 11.-13.5.2006. *Edukační sborník, Masarykův onkologický ústav*, 2007, s. 298-299.

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. II.ročník Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, Olomouc, 7.-9.12.2006. *Abstrakta, Solen*, 2006, s. 48-49.

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, Olomouc, 9.-10.12.2005. *Abstrakta, Solen*, 2005, s. 47-48..

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. Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, Olomouc, 9.-10.12.2005. *Abstrakta, Solen*, 2005, P007.

SMOLEJ, L., ANDRYS, C., SIROKY, O., BELADA, D., ZAK, P., **HRUDKOVA, M.**, KREJSEK, J., MALY, J. Angiogenic cytokines in Bcell chronic lymphocytic leukemia: association with IGVH mutation status and genetic abnormalities. 11th Congress of the European Hematology Association, Amsterdam, 15.-18.6.2006. *Haematologica*, 2006, vol. 91, S1, s. 498. **IF=4,575**

SMOLEJ, L., ŽÁK, P., KAŠPAROVÁ-BENEŠOVÁ, P., BELADA, D., **HRUDKOVÁ, M.**, MALÝ, J. Bone marrow angiogenesis in chronic lymphocytic leukemia : Relationship to classical and modern prognostic factor. 48th ASH Annual Meeting, Orlando, Florida, 9.-12.12.2006. *Blood*, 2006, vol. 108, S11, s. 323. **IF 10.131**

HRUDKOVÁ, M., BELADA, D., MAISNAR, V., MALÝ, J. Kazuistika – Burkitt-like lymfom. XIX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, 15.-18.6.2005. *Sborník abstrakt, Rubico*, 2005, s. 89.

HRUDKOVÁ, M., ŽÁK, P., MAISNAR, V., MALÝ, J. Úspěšná léčba MabCampathem u nemocné se Sézaryho syndromem při profylaktické terapii valganciklovirem. XIV. Slovensko-český hematologický a transfuziologický zjazd s mezinárodní účastí, Vysoké Tatry, Štrbské Pleso, 29.9-2.10.2005. *Abstrakty, Bratislava: TGT s.r.o.*, 2005, vol. 1, s. 49.

10.4 Přehledové články:

MOTYČKOVÁ, M., ŽÁK, P., VROBLOVÁ, V., ANDRÝS, C., BELADA, D., MALÝ, J., SMOLEJ, L. Prognostické faktory u chronické lymfocytární leukemie. *Vnitř Léč*, 2011, vol. 57, no. 10, s. 847-857.

HRUDKOVÁ, M., BELADA, D., SMOLEJ, L., MALÝ, J.: Primární lymfomy centrálního nervového systému. *Vnitř Léč*, 2010, vol. 56, no. 8, s. 795-800.

SMOLEJ, L., **HRUDKOVÁ, M.** Chronická lymfocytární leukémie. *Semináře z vnitřního lékařství, Katedra interních oborů, LF UK v Hradci Králové*. Hradec Králové: Olga Čermáková, grafické a reklamní studio, nakladatelství, 2010, s. 14-21.

VROBLOVÁ, V., SMOLEJ, L., VRBACKÝ, F., JANKOVICOVÁ, K., **HRUDKOVÁ, M.**, MALÝ, J., KREJSEK, J.: Biological prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 2009, vol. 52, no. 1, s. 3-8.

HRUDKOVÁ, M., BELADA, D., SMOLEJ, L., ŽÁK, P., MALÝ, J. Primární lymfomy centrálního nervového systému. *Seminář z vnitřního lékařství LV, LVI, LVII, LVIII*. Hradec Králové: HK CREDIT spol. s.r.o., 2009, s. 25-27.

BELADA, D., SMOLEJ, L., **HRUDKOVÁ, M.**, ŠTĚPÁNKOVÁ, P., MALÝ, J. Richterův syndrom – současný pohled na diagnostiku a léčbu. *Vnitř Léč*, 2008, vol. 54, no. 5, s. 56-57.

HRUDKOVÁ, M., FIALA, Z., BORSKÁ, L., NOVOSAD, J., SMOLEJ, L. Účinky polycyklických aromatických uhlovodíků na kostní dřeň. *Acta Medica Suppl*, 2004, vol. 47, no. 2, s. 75–81.

10.5 Přednášky na odborných setkáních, které přednesl autor DP:

HRUDKOVÁ, M., SMOLEJ, L. Chronická lymfocytární leukemie. *94. kurz projektu soustavného vzdělávání ve vnitřním lékařství*, Hradec Králové 13.5.2010.

HRUDKOVÁ, M. A case of refractory chronic lymphocytic leukemia. *LyFE Meeting*, Lyon 10.-11.9.2009.

HRUDKOVÁ, M., BELADA, D., SMOLEJ, L., MALÝ, J. Primární lymfomy centrálního nervového systému. *81. kurz projektu soustavného vzdělávání ve vnitřním lékařství*, Hradec Králové 15.1.2009.

HRUDKOVÁ, M., BELADA, D., SMOLEJ, L., MALÝ, J. Hodnocení CNS lymfomů léčených na OKH FN HK (10 let). *Provozní seminář II. interní kliniky, oddělení klinické hematologie LF UK a FN Hradec Králové*, Hradec Králové 26.11.2008.

HRUDKOVÁ, M., **SMOLEJ, L.** Chronická lymfocytární leukemie. *Setkání lékařů pracovního lékařství*, Kutná Hora 16.10.2008.

HRUDKOVÁ, M., BELADA, D., SMOLEJ, L., MALÝ, J. Primární CNS lymfomy – zkušenosti centra. *XXII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, XII. Konference ošetrovatelských profesí v hematologii, XI. Konference zdravotních laborantů v hematologii, 1st Symposium on Advances in molecular hematology*, Olomouc 28.-30.5.2008.

HRUDKOVÁ, M. Diagnostika a prognostické faktory u chronické lymfocytární leukemie. *Regionální hematologický seminář firmy Roche*, Hradec Králové 12.12.2007.

HRUDKOVÁ, M. Diagnostika a prognostické faktory u chronické lymfocytární leukemie. *Regionální hematologický seminář firmy Roche*, Hradec Králové 31.10.2007.

HRUDKOVÁ, M. Přehled nových poznatků z kongresů (12th Congress of the European Hematology Association 2007, XIIth International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia 2007). *Seminář II. interní kliniky, oddělení klinické hematologie LF UK a FN Hradec Králové*, Hradec Králové 26.10.2007.

HRUDKOVÁ, M., DULÍČEK, P. Léčba esenciální trombocytémie v těhotenství. *Regionální hematologický seminář*, Albeřice 21.4.2006.

HRUDKOVÁ, M. Prediktivní faktory progresu a rezistence na intenzivní léčbu u chronické lymfocytární leukemie. *Cyklus odborných seminářů (v rámci 2. ročníku PGS studia)*, Hradec Králové 5.6.2006.

HRUDKOVÁ, M., BELADA, D., MAISNAR, V., MALÝ, J. Kazuistiky: Burkitt-like lymfom; Folikulární lymfom. *Regionální hematologický seminář, Špindlerův Mlýn* 4.-5.2.2005.