

Univerzita Karlova
3. lékařská fakulta

Druh studia: Doktorské studium
Studijní program: Preventivní medicína a epidemiologie

Autoreferát k dizertační práci

MUDr. Klaudia Grafnetter

Preventivní a prediktivní faktory u gynekologických malignit
Preventive and prognostic factors in gynecological malignancies

Školitel: doc. MUDr. Martina Kubecová, PhD.

Praha, 2024

Doktorské studijní programy v biomedicíně

Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor: Preventivní medicína a epidemiologie

Školící pracoviště: Ústav epidemiologie a statistiky

Předseda oborové rady: doc. MUDr. Jan Polák, PhD.

Autor: MUDr. Klaudia Grafnetter

Školitel: doc. MUDr. Martina Kubecová, PhD.

Školitel konzultant (byl-li):

Oponenti:

Autoreferát byl rozeslán dne

Obhajoba se koná dne

S disertací je možno se seznámit na děkanáte 3.lékařské fakulty Univerzity Karlovy.

Souhrn

Preventivní a prediktivní faktory se stávají důležitým tématem v medicíně se snahou o personalizaci terapie. V naší práci jsme se zaměřili na karcinom hrdla děložního a pacientky léčeny radikální chemoradioterapií. Cílem zkoumání bylo najít vhodné preventivní a prediktivní faktory, které bychom mohli použít při léčbě i sledování pacientek. Zaměřili jsme se na tekutou biopsii – cirkulující nádorové buňky (CTC). V našem souboru se jedná o prospektivní analýzu se zaměřením na CTC v korelaci s charakteristikou nádorového onemocnění, stagingem onemocnění, odpovědí na léčbu a dispenzarizaci pacientek.

Náš výzkum probíhal v letech 2018 až 2021 na Onkologické klinice 3.LF UK a FNKV v Praze. Bylo zařazeno celkem 30 pacientek s diagnózou karcinomu hrdla děložního. Pacientky nepodstoupily chirurgickou léčbu, ale byly primárně indikovány k radikální chemoradioterapii a dále sledovány. U všech pacientek byl proveden staging onemocnění a byly odebrány CTC před zahájením léčby, během léčby a při dalším sledování pacientek.

Naše práce potvrdila, že CTC mohou být při stanovení diagnózy CTC ukazatelem agresivity onemocnění. Monitorování CTC během léčby a sledování může pomoci odhalit dřívější relaps onemocnění a ovlivnit prognózu pacientky. Pozorovali jsme pokles CTC i nádorového markeru během léčby i po léčbě a jejich elevaci při relapsu onemocnění. Elevace CTC dokonce předcházela elevaci SCC i potvrzení progresu dle zobrazovacích vyšetření i klinického obrazu. Změny v morfologii a buněčném metabolismu vitálních CTC poukázovaly na nádorovou nálož a agresivitu onemocnění. Jejich analýzou můžeme také poznat citlivost a rezistenci k onkologické terapii.

CTC, jejich analýza a získané informace mohou pomoci k individualizaci diagnostického postupu, zvýšení efektivity terapie a zkvalitnění léčebné strategie.

Výsledky našeho výzkumného šetření by mohly sloužit jako návrh na zlepšení komplexní péče o pacientky s inoperabilním karcinomem hrdla děložního a v neposlední řadě i jako prevence relapsu, a diseminace onemocnění.

Summary

Preventive and predictive factors are becoming an important topic in medicine with an effort to personalize therapy. In our research, we focused on cervical cancer and patients treated with radical chemoradiotherapy. The goal of the investigation was to find suitable preventive and prognostic factors that could be used in the treatment and monitoring during follow-up. We focused on liquid biopsy – circulating tumor cells (CTC). It is a prospective analysis focused on CTC in correlation with the characteristics of the tumor, staging, response to treatment, and follow-up.

Our research took place between the years 2018 and 2021 at the Department of Oncology 3. LF UK and FNKV in Prague. 30 patients diagnosed with cervical cancer were enrolled. The patients did not undergo any surgical treatment, but they were primarily indicated to radical chemoradiotherapy and then follow-up. All patients underwent appropriate staging and CTC were collected before the treatment, during the treatment, and follow-up.

Our research confirmed that CTC can be an indicator of the aggressiveness of the disease at the time of diagnosis. Monitoring CTC during the treatment and follow-up can help detect a possible relapse of the disease sooner and thus influence the patient's prognosis. We observed a decrease in CTC and tumor markers during and after the treatment and their elevation at the time of relapse. Elevation of CTC even preceded an elevation of SCC and confirmation of relapse based on imaging examinations and clinical picture. Changes in the morphology and cellular metabolism of vital CTC indicated the tumor burden and aggressiveness of the disease. By analyzing them, we can also determine the sensitivity and resistance to oncological therapy.

The analysis of CTC can help individualize the diagnostic process, increase the effectiveness of therapy, and improve the quality of the treatment strategy.

The results of our research could serve as a proposal for improving the comprehensive care of patients with inoperable cervical cancer and as a prevention of relapse and dissemination of the disease.

Obsah

1	Úvod.....	6
2	Hypotézy a cíle práce.....	7
3	Materiál a metodika	8
4	Výsledky.....	10
5	Diskuse	12
6	Závěr	15
7	Použitá literatura.....	16
8	Publikační činnost doktoranda.....	18

1 Úvod

Gynekologické nádory jsou z hlediska incidence častým onkologickým onemocněním hned po karcinomu prsu, kolorekta a plic. K nejčastějším gynekologickým malignitám patří karcinom endometria, ovaria a hrdla děložního. (1) V naší práci jsme se zaměřili na karcinom hrdla děložního, který patří k onemocněním s vysokou incidencí i mortalitou a často je onemocněním mladších žen. Více než 40 % pacientek je diagnostikováno v pokročilejším stadiu onemocnění, kdy není možné indikovat primární chirurgický výkon. Léčebnou volbou se stává kombinovaná chemoradioterapie.

Po dosažení remise onemocnění onkologickou terapií zůstává riziko relapsu – lokálního nebo vzdáleného. Nabízí se proto otázka, jak co nejdříve odhalit relaps onemocnění, ještě předtím, než se ukáže na zobrazovacích vyšetřeních nebo se projeví klinicky. Pochopením biologických rysů karcinogeneze se také prohlubuje potřeba individualizace terapie v čase diagnózy. K tomu by nám mohla pomoci tekutá biopsie (vyšetření periferní krve). V naší práci jsme se zaměřili na cirkulující nádorové buňky (CTC). CTC byly považovány za projev agresivity nádorů a schopnosti vzdáleně metastazovat. Jejich poznáním a monitorováním se mohou stát důležitým obrazem samotného nádoru.

Práci zabývající se radioterapií u karcinomu hrdla děložního a CTC není mnoho. Naším cílem bylo zjistit, jestli jsou CTC vhodným pomocným nástrojem v léčbě a sledování onemocnění karcinomu hrdla děložního léčeného chemoradioterapií.

2 Hypotézy a cíle práce

Cílem naší práce bylo najít nový marker, který by nám pomohl identifikovat rizikové pacientky s karcinomem hrdla děložního, které byly léčeny radikální chemoradioterapií. Tenhle marker by nám také pomohl odhalit dřívější relaps onemocnění. V naší práci jsme se zaměřili na tekutou biopsii – CTC. Cílem projektu bylo přinést nové informace, které by nám pomohly zlepšit celkové přežití pacientek. Sledovali jsme jejich výskyt při diagnóze onemocnění, během léčby a dále jejich dynamiku během dalšího sledování pacientek. Zároveň probíhal standardní staging onemocnění a onkologická terapie a následné sledování pacientek na naší klinice.

Hledali jsme souvislost mezi výskytem CTC a stádiem onemocnění, dále CTC a nádorovým markerem SCC. Sledovali jsme četnost výskytu CTC před léčbou, po skončení léčby a při dispenzárním sledování pacientek jako důležitého prognostického a prediktivního faktoru, který nám může pomoci zefektivnit a zkvalitnit léčebnou strategii k dosažení co nejlepšího výsledku léčby. Předpokládali jsme, že monitorování CTC je citlivý a včasný ukazatel agresivního onemocnění u pacientek v riziku.

Hypotézy:

Koreluje počet a dynamika CTC před léčbou a po léčbě s prognózou onemocnění?

Existuje vztah hladiny CTC a stadia onemocnění při zahájení léčby?

Existuje vztah mezi CTC a nádorovým markerem SCC?

Jsou CTC prognostickým markerem?

Jsou CTC prediktivním markerem?

3 Materiál a metodika

3.1 Metodologie

Náš výzkum probíhal na Onkologické klinice FNKV v letech 2018 až 2021. Bylo do něj zařazeno 30 pacientek naší kliniky, které byly diagnostikovány s karcinomem hrdla děložního. Všechny pacientky byly diagnostikovány s inoperabilním stadiem onemocnění, všechny pacientky byly léčeny radikální radioterapií s potencionální konkomitantní chemoterapií a dále byly sledovány na naší klinice.

3.2 Organizace výzkumného šetření

Pacientky byly o probíhajícím výzkumu informovány ústně při návštěvě naší kliniky. Všechny pacientky podepsaly informovaný souhlas ve výzkumném šetření o ochraně osobních údajů. Zpracování dat bylo schváleno Etickou komisí FNKV (EK-VP/67/0/2019).

Klinická data byla získávána ze zdravotnické dokumentace, pomocí UNIS FNKV a odběrem periferní krve u každé zařazené pacientky.

V našem souboru jde o prospektivní analýzu se zaměřením na CTC v korelaci s charakteristikou nádorového onemocnění, stagingem onemocnění, odpovědí na léčbu a dispenzarizaci pacientek. U všech pacientek byly odebrány CTC před zahájením léčby, během léčby a při dalším sledování pacientek. Dále byl proveden staging onemocnění a základní vstupní vyšetření včetně laboratorních odběrů a nádorových markerů.

Pacientky podstoupily radikální radioterapii na oblast malé pánve, i.d. 45,0 Gy aplikovanou v 25 frakcích. Před dokončením zevního ozáření byly pacientky gynekologicky vyšetřeny k průběžnému zhodnocení efektu léčby a následně podstoupily 2 D, nebo častěji 3 D uterovaginální brachyterapii pomocí Ir 192 HDR. Byly provedeny celkem 4 aplikace brachyterapie, dávka na frakci 6,5 nebo 7,0 Gy, aplikace 2xtýdně. Konkomitantní chemoterapie byla aplikována 1xtýdně, ve většině případů cisplatina v dávce 40mg/m², nejvýše absolutně 70mg/dávka. Aplikováno bylo celkem 5 dávek konkomitantní chemoterapie. U pacientek většinou léčba nepřesáhla 52 dnů.

CTC byly získány odběrem periferní krve 2x8ml z kubity do EDTA zkumavky a byly izolovány pomocí metody Metacell (Metacell, Metacell s.r.o., Ostrava, Czech Republic). Tato metoda je založená na separování buněk na základě jejich velikosti. Dále byly CTC zpracovány, kultivovány in vitro 3-5 dnů a následně bylo provedeno jejich cytomorfologické hodnocení založeno na vitálním fluorescenčním barvení jádra a cytoplazmy. Po identifikaci

CTC může dojít k jejich další specifikaci pomocí profilování genové exprese a funkčních testů. V našem souboru byla provedena qPCR analýza RNA izolovaná z CTC. qPCR analýza zahrnovala tumor-asociované (TA) a chemorezistentně-asociované (CA) geny.

Zhodnocení efektu léčby proběhlo za 3 měsíce – předpokladem byla makroskopická kompletní remise onemocnění. Po skončení léčby byly pacientky sledovány každé 3 měsíce. Při každém vyšetření byla pacientka gynekologicky vyšetřena a byl proveden odběr CTC. Dále byla fakultativně doplněna laboratoř (krevní obraz, základní biochemie) včetně nádorových markerů, zobrazovací vyšetření – ultrazvuk, MRI nebo CT.

Všechny výsledky byly zadány do naší databáze.

3.3 Statistická analýza

Ke statistické analýze jsme použili program STATISTIKA statistické testy – t-test, párové testy, ANNOVA. Za statisticky významnou p-hodnotu jsme uvažovali hodnotu p menší než 0,05. U všech kvantitativních proměnných byly vyhodnoceny, spočteny základní deskriptivní parametry jako směrodatná odchylka, průměr, medián, minimum i maximum a u kvalitativních proměnných procentuální zastoupení i absolutní počty. Kvalitativní i kvantitativní proměnné byly hodnoceny celkově i v jednotlivých skupinách.

Data byla také porovnána standardními testy použitím GraphPad Prism software v. 9.1.0 (GraphPadPrism, U.S.).

Vyhodnocení qPCR dat bylo na základě standardu ddCT metody (Livak et al., 2001). qPCR výsledky byly analyzovány použitím GenEx Professional software (MultiD, SE). Rozdíly mezi vzorky byly srovnány U Mann-Whitney testem (signifikance level při $p < 0,05$, když nenastaveno automaticky GenEx).

4 Výsledky

Zpracováním dat a jejich zhodnocením jsme získali výstupy, které jsme zařadili dle zkoumaných parametrů u naší skupiny pacientek. Při hodnocení jsme se zaměřili hlavně na prvních 9 měsících sledování, protože dále byl sběr dat ovlivněn covidovou pandemií a odběr vzorků neprobíhal dle původního plánu.

Během výzkumu bylo provedeno celkem 167 odběrů periferní krve k analýze CTC.

V našem souboru všech pacientek byla vstupní hodnota SCC průměrně 17,52 a CTC 227, tj. u většiny pacientek zvýšená hodnota. Za 3 měsíce od skončení léčby byl patrný jejich pokles a následně mírný vzestup. U stadia T2b tento pokles trval i 6 měsíců od skončení léčby. Průměrné přežití pacientek bylo více než 27 měsíců. U dlaždicobuněčných karcinomů byl pozorován největší pokles CTC ve 3.měsíci po skončení léčby a u nádorového markeru SCC trvala až do 6.měsíce, poté jsme pozorovali mírný vzestup.

Při srovnání pacientek, které zprogredovaly a nezprogredovaly, jsme pozorovali rozdíl v počtu CTC 3 měsíce po skončení léčby. Při další analýze dynamiky CTC před léčbou a během sledování u progredujících a neprogredujících pacientek, jsme pozorovali největší rozdíl 3 až 6 měsíců po skončení chemoradioterapie. V této skupině pacientek jsme pozorovali zvýšení SCC 6 až 9 měsíců po skončení chemoradioterapie. Pokles CTC a SCC po léčbě korelovalo s klinickým obrazem a pozorováním regrese onemocnění. To souhlasí s doporučením evaluace výsledku léčby až s časovým odstupem po skončení chemoradioterapie.

V naší práci jsme doplňovali také profilování genové exprese. Zvýšená exprese genů spojených s chemorezistencí značila horší výsledky léčby. Před zahájením léčby byla pozorována vyšší hladina exprimovaných genů kmenových buněk SOX2, POU5F u relabujících pacientek. Při rozdělení pacientek do dvou skupin na základě DFS – období bez nemoci (méně nebo více 12 měsíců), pacientky s krátkým DFS vykazovaly větší expresi SOX2 a POU5F ($p < 0,02$) a malou expresi VEGF a FLT1. Při zaměření se na expresi SOX2 a rozdělení vzorků do dvou skupin – vysoké a nízké hladiny exprese SOX2 a dále i na základě DFS, ve skupině s vysokou expresí SOX2 a dlouhým DFS exprimují signifikantně více VEGF a FLT1. Skupina s nízkou hladinou exprese SOX2 exponuje více VEGF a FLT1 expresi, co může být indikátorem citlivost anti-VEGF terapie. CTC s vysokou expresí SOX2 a POU5F exprimovaly signifikantně méně VEGF a FLT1. Na základě toho předpokládáme, že nádorové buňky jsou u těchto vzorků méně diferencované. Ve skupině s nízkou expresí SOX2 se ukázala vysoká exprese VEGF a FLT1, která by mohla pomoci k poukázání na efektivní léčbu – anti VEGF

terapii. Dalším pomocným ukazatelem by mohla být vyšší exprese PDL1, která by mohla poukázat na efekt imunoterapie.

Morfologie CTC se měnila během léčby i po léčbě a během sledování. Pozorovali jsme také změny v buněčném metabolismu – mitochondriální aktivitě, na základě, čeho jsme mohli identifikovat méně a více aktivní buňky.

Ze souboru jsme doplnili i výpočet NLR (neutrophile to lymphocyte ratio) za předpokladu, že pacientky s vysokým NLR a CTC budou více rizikové. Pacientky, které zrelabovaly, měly NLR v rozmezí 1,7-4,9. Pacientky zprogredovaly nejdéle za 14 měsíců. Z našeho souboru ale zrelabovaly pacientky, které měly NLR a CTC nízké ve srovnání s ostatními sledovanými pacientkami. To může souviset s horší odpovědí na chemoradoterapii, která se projeví dřívejším relapsem onemocnění.

5 Diskuse

Práci o karcinomu hrdla děložního léčeného chemoradioterapií a vztahu k CTC zatím mnoho není. Snaha o nalezení vhodných preventivních a prediktivních faktorů je velká. Tato snaha je dána i tím, že často karcinom hrdla děložního se řadí stran mortality k malignitám s horší prognózou onemocnění. (2)

U všech malignit je stadium onemocnění silný prognostický faktor. S pokročilostí onemocnění, a tedy vyšším stadiem onemocnění se zhoršuje prognóza a klesá přežití pacientek. K dalším negativním prognostickým znakům patří hloubka invaze, velikost primárního nádoru, nádorový grade, šíření do lymfatických cév, přítomnost lymfadenopatie a v neposlední řadě i histologie. (3)

CTC nesou vlastnosti a znaky, které jsou charakteristické pro nádorovou tkáň, ze které se uvolňují (primární nádor i jeho metastázy). Vyšší počet CTC při zahájení léčby nebo jejím průběhu se jeví jako ukazatel horší prognózy onemocnění. Přetrvávající vyšší počet CTC i po ukončení léčby může poukazovat na agresivnější onemocnění a být ukazatelem nedostatečnosti léčby. Naopak nižší hladina CTC v průběhu léčby je ukazatelem odpovědi na probíhající léčbu a příznivější prognózu onemocnění. Analýzou CTC a dalším profilováním můžeme získat cenné informace nejenom o CTC samotných, ale i o jejich odpovědi na léčbu profilováním nádorových genů a genů spojených s rezistencí k zefektivnění aplikace léčby. (4) (5) (6)

Stadium onemocnění a přítomnost CTC mohou mít blízký vztah. U pacientek bez vzdálených metastáz (stadium M0), které mají pozitivní CTC při diagnóze onemocnění, dochází k časnějšímu výskytu hematogenních metastáz než u pacientů bez detekovaných CTC. (7)

Vyšší hladina CTC je asociovaná s horší prognózou u karcinomu prsu (8), prostaty a kolorektálního karcinomu. (9) U nádoru plic mohou CTC předcházet manifestaci relapsu onemocnění na CT vyšetření o několik let. (10)

V metaanalýze u diagnózy karcinomu prsu se z 21 studií ukazuje, že vyšší CTC u neoadjuvantní léčby je asociovaná s kratším obdobím bez nemoci a celkovým přežitím. Ukazuje se, že pacientky, které dosáhly patologickou kompletní remisi po neoadjuvantní léčbě, měly o něco častěji nízkou hladinu CTC při zahájení léčby. CTC jsou prediktivním markerem u karcinomu prsu léčeného radioterapií. Detekce CTC po mastektomii upozorňuje na okultní nemoc a poukazuje na nutnost použití adjuvantní radioterapie k lepší lokální kontrole

onemocnění. Radioterapie spádových lymfatických uzlin také stimuluje systémovou imunitní odpověď ke zlepšení kontroly onemocnění. (11)

Význam CTC jako prediktivního faktoru relapsu onemocnění poukazuje práce japonských vědců. Tuto souvislost pozorovali u pacientek s karcinomem cervixu stadia IIB – IVA léčených definitivní radioterapií. (12)

U pacientek s diagnózou karcinomu hrdla děložního léčených chemoradioterapií svědčí přítomnost CTC před zahájením léčby kratší PFS na rozdíl od pacientek, u kterých CTC nebyly přítomny. Přítomnost CTC je nezávislým prognostickým faktorem. Počet CTC je asociován se stadiem onemocnění, probíhající léčbou a metodou izolace CTC. (13)

Dále se nabízí otázka, jestli je SCC vhodným nástrojem k dřívějšímu zjištění relapsu onemocnění. V našem souboru jsme pozorovali elevaci CTC ještě před elevací SCC u pacientek s relapsem onemocnění a jeho klinickou manifestací.

Zajímavé jsou výsledky studie GOG Study 240, která jako jedna z prvních prováděla rozbor CTC buněk ve velké skupině 452 pacientek s diseminovaným onemocněním. Pacientkám byla aplikována chemoterapie cisplatina, paclitaxel s bevacizumabem/placebo. Na základě výsledků studie byl bevacizumab registrován do klinické praxe u karcinomu hrdla děložního. Pacientky, u kterých byl vysoký počet CTC před zahájením léčby, měly v rameni s bevacizumabem lepší léčebnou odpověď a delší PFS na rozdíl od pacientek, u kterých byly CTC nízké. Je to dáno i tím, že CTC se šíří hematogenně a v nádoru je zvýšená neovaskularizace a zranitelnost VEGF inhibice. (14)

Pacientky s CTC měly signifikantně kratší PFS než pacientky, u kterých byly CTC negativní v retrospektivní studii u pacientek s karcinomem hrdla děložního všech stadií léčených radioterapií nebo chemoradioterapií. (15)

Nádorový marker SCC je vysoce specifický pro dlaždicobuněčné karcinomy. Vyšší hladina při diagnóze může značit agresivnější typ nádoru a větší nádorovou nálož v čase diagnózy. Dynamika hladiny SCC během léčby a po léčbě koreluje s efektem léčby a jeho opětovná elevace může značit relaps onemocnění. Některé práce udávají, že jeho vyšší hladina může předcházet relapsu onemocnění až o 5 měsíců. (16)

Přetrvávající vyšší hladiny SCC predikují horší prognózu onemocnění. Ve skupině pacientek s elevací SCC před léčbou, u nichž došlo k normalizaci hodnoty po 27.dnu léčby, byla

pozorována lepší prognóza onemocnění. Poléčebné hodnocení SCC může odhalit dříve relaps onemocnění, v této skupině pacientek to bylo o více než rok před klinickými symptomy. (17)

Kombinace CTC a SCC je lepším prediktivním markerem ve srovnání s jejich samostatnou hodnotou, co ukazuje práce u pacientek stadia IIB až IVA léčených chemoradioterapií. Tento vztah potvrdila také další studie autorů, kdy elevace CTC a SCC svědčí pro horší prognózu lokálně pokročilého karcinomu hrdla děložního léčeného radioterapií. (18)

6 Závěr

Karcinom hrdla děložního patří k častým malignitám a je často onemocnění mladších žen. Se zlepšujícími se možnostmi diagnostiky a léčby se prodlužuje celkové přežití pacientek. Pokroky dosahujeme i v podpůrné léčbě. I díky tomu si pacientky při relabujícím, metastatickém onemocnění zachovávají dobrou kvalitu života. Nejdůležitější však stále zůstává primární léčba onemocnění. Naší snahou je najít co nejcitlivější ukazatel, který by nám pomohl odhalit pacientky s agresivnějším onemocněním. Zdá se, že tekutá biopsie může být významným přínosem. Její stanovení v době diagnózy a v průběhu sledování onemocnění se stává cenným nástrojem. Předpokládáme, že tato dynamika nás povede k poznání nových prognostických a prediktivních markerů.

Při stanovení diagnózy mohou být CTC ukazatelem agresivity onemocnění. Na druhé straně monitorování CTC během léčby a sledování může pomoci odhalit dřívější relaps onemocnění a ovlivnit prognózu pacientky. Morfologie vitálních CTC a její změny mohou být velmi nápomocné. Významnou roli hrají nádorové kmenové buňky. Tyto nové poznatky si zaslouží další zkoumání, neboť mohou ovlivnit aplikovanou léčbu a být vhodným nástrojem v personalizované medicíně. Velkou výhodou je i jednoduchost získání CTC z periferní krve. Během léčby a sledování nemoci CTC mění morfologií a dochází ke změnám v buněčném metabolismu. Mohou se tedy stát ukazatelem nádorové nálože a agresivity nemoci.

CTC, jejich analýza a získané informace mohou pomoci k individualizaci diagnostického postupu, zvýšení efektivity terapie a zkvalitnění léčebné strategie. Tím jsme krůček blíže k personalizované medicíně.

Výsledky našeho výzkumného šetření by mohly sloužit jako návrh na zlepšení komplexní péče o pacientky s inoperabilním karcinomem hrdla děložního a v neposlední řadě i jako prevence relapsu, a diseminace onemocnění.

7 Použitá literatura

1. SVOD. [Online] <https://www.svod.cz>.
2. *Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries*. Sung, Hyuna, et al. United States : s.n., 2021, CA: a cancer journal for clinicians, Vol. 71, pp. 209-249. ISSN: 0007-9235.
3. *Cervical cancer*. Cohen, Paul A., et al. England : Elsevier Ltd, 2019, The Lancet (British edition), Vol. 393, pp. 169-182. ISSN: 0140-6736.
4. *Biology, detection, and clinical implications of circulating tumor cells*. Joosse, Simon A., Gorges, Tobias M. a Pantel, Klaus. 2015, EMBO molecular medicine, Sv. 7, stránky 1–11.
5. *Circulating tumor cells: detection, molecular profiling and future prospects*. Jacob, Karine, Sollier, Caroline and Jabado, Nada. England : Taylor & Francis, 2007, Expert review of proteomics, Vol. 4, pp. 741-756. ISSN: 1478-9450.
6. *Clinical utility of circulating tumor cells: an update*. Vasseur, Antoine, et al. United States : John Wiley & Sons, Inc, 2021, Molecular oncology, Vol. 15, pp. 1647-1666. ISSN: 1574-7891.
7. *Isolation, primary culture, morphological and molecular characterization of circulating tumor cells in gynecological cancers*. Kolostova, Katarina, a další. místo neznámé : e-Century Publishing Corporation, 2015, American journal of translational research, Sv. 7, str. 1203.
8. *Meta-analysis of the prognostic value of circulating tumor cells in breast cancer*. Zhang, Liling, a další. místo neznámé : AACR, 2012, Clinical cancer research, Sv. 18, stránky 5701–5710.
9. *Significance of circulating tumor cells detected by the CellSearch system in patients with metastatic breast colorectal and prostate cancer*. Miller, M. Craig, Doyle, Gerald V. a Terstappen, Leon W. M. M. místo neznámé : Hindawi, 2010, Journal of oncology, Sv. 2010.
10. *The prognostic role of circulating tumor cells (CTCs) in lung cancer*. Kapeleris, Joanna, a další. místo neznámé : Frontiers, 2018, Frontiers in oncology, Sv. 8, str. 311.
11. *The Role of Circulating Tumor Cells in Breast Cancer and Implications for Radiation Treatment Decisions*. Goodman, Chelain R. and Speers, Corey W. United States : Elsevier Inc, 2021, International journal of radiation oncology, biology, physics, Vol. 109, pp. 44-59. ISSN: 0360-3016.

12. *Predictors of distant relapse in patients with FIGO stage IIB–IVA cervical cancer treated with definitive radiotherapy.* Okazawa-Sakai, Mika, et al. Australia : Wiley Subscription Services, Inc, 2017, *The journal of obstetrics and gynaecology research*, Vol. 43, pp. 1743-1750. ISSN: 1341-8076.
13. *Circulating Tumor Cells Counting Act as a Potential Prognostic Factor in Cervical Cancer.* Du, Kunpeng, et al. Los : SAGE Publications, 2020, *Technology in cancer research & treatment*, Vol. 19. ISSN: 1533-0346.
14. *Circulating Tumor Cells In Advanced Cervical Cancer: NRG Oncology-Gynecologic Oncology Group Study 240 (NCT 00803062).* Tewari, Krishnansu S., et al. United States : s.n., 2020, *Molecular cancer therapeutics*, Vol. 19, pp. 2363-2370. ISSN: 1535-7163.
15. *Liquid Biopsy in Cervical Cancer: Hopes and Pitfalls.* Cafforio, Paola, a další. místo neznámé : MDPI AG, August 2021, *Cancers*, Sv. 13, str. 3968. ISSN: 2072-6694.
16. *The Complementary Role of Imaging and Tumor Biomarkers in Gynecological Cancers: An Update of the Literature.* Anastasi, Emanuela, et al. Iran : West Asia Organization for Cancer Prevention, 2018, *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, Vol. 19, pp. 309-317. ISSN: 1513-7368.
17. *Serum squamous cell carcinoma antigen as an early indicator of response during therapy of cervical cancer.* Markovina, Stephanie, a další. místo neznámé : Springer Science and Business Media LLC, November 2017, *British Journal of Cancer*, Sv. 118, stránky 72–78. ISSN: 1532-1827.
18. *Elevated circulating tumor cells and squamous cell carcinoma antigen levels predict poor survival for patients with locally advanced cervical cancer treated with radiotherapy.* Wen, Yue-Feng, et al. United States : Public Library of Science, 2018, *PloS one*, Vol. 13, pp. e0204334-e0204334. ISSN: 1932-6203.

8 Publikační činnost doktoranda

8.1 Publikace in extendo, které jsou podkladem disertace

a) S IF

Reginacova K., Pospisilova E., Kubecova M., Svobodova P, Bobek V., Kolostova K. Circulating tumor cells in patients with cervical cancer undergoing chemoradiotherapy combined with brachytherapy, *Am J Cancer Res* 2024, 2024, 14(5), ISSN: 2156-6976 (článek přijat k publikaci), IF 5,3

Nadřova K., Burghardtová M., Fejfarová K., Regináčová K., Malíková H. Late Radiation-Related Toxicities in Patients Treated for Early-Stage Cervical Carcinoma by Surgery and Adjuvant Radiotherapy: A Retrospective Imaging Study. *Pathology &*

Oncology Research, 2021, vol. 27. ISSN 1219-4956, IF 2,8

8.2 Publikace in extendo, bez vztahu k disertační práci

a) S IF

Gkekas I., Novotny J., Fabian P., Němeček R., Palmqvist R., Strigard K., John S., Pecen L., Reginacova K et al. Mismatch repair status predicts survival after adjuvant treatment in stage II colon cancer patients. *Journal of Surgical Oncology*, 2020, vol. 121, s. 392-401. ISSN 0022-4790, IF 4,9

Vergote, I., Pérez-Fidalgo, J.A., Hamilton, E.P., Valabrega, G., Van Gorp, T., Sehouli, J., Cibula, D., Levy, T., Welch, S., Richardson, D.L. and Guerra, E.M., 2023. Oral selinexor as maintenance therapy after first-line chemotherapy for advanced or recurrent endometrial cancer. *Journal of Clinical oncology*, 41(35), pp.5400-5410. IF 45,3

Malikova, H., Nadova, K., Reginacova, K., Kremenova, K. and Rob, L., 2024. Radiation-Related Fractures after Radical Radiotherapy for Cervical and Endometrial Cancers: Are There Any Differences? *Diagnostics*, 14(8), p.810. IF 3,6

Makker V, Perez-Fidalgo JA, Valabrega G, Hamilton E, Van Gorp T, Sehouli J, Regináčová K, Richardson DL, Perri T, Oza AM, Miller DS, Alía EMG, De Giorgi U, Henry S, Spitz DL, Wimberger P, Bednaříková M, Chon HS, Martínez-García J, Pisano C, Berek JS, Romero I, Scambia G, Fariñas-Madrid L, Buscema J, Schochter F, Li K, Kalyanapu P, Walker CJ, Vergote I. Long-term follow-up of efficacy and safety of selinexor maintenance treatment in patients with TP53wt advanced or recurrent endometrial cancer: A subgroup analysis of the

ENGOT-EN5/GOG-3055/SIENDO study. Gynecol Oncol. 2024 Jun 3:S0090-8258(24)00234-8., IF 5,48

Monk, B.J., Colombo, N., Tewari, K.S., Dubot, C., Caceres, M.V., Hasegawa, K., Shapira-Frommer, R., Salman, P., Yañez, E., Gümüş, M. and Olivera Hurtado de Mendoza, M., 2023. First-line pembrolizumab+ chemotherapy versus placebo+ chemotherapy for persistent, recurrent, or metastatic cervical cancer: final overall survival results of KEYNOTE-826. Journal of clinical oncology, 41(36), pp.5505-5511. IF 45,3 (uvedena v seznamu investigátorů jako PI)

b) Bez IF

Kubecová M., Regináčová K. Význam multidisciplinárního přístupu k terapii ovariálního karcinomu a jeho vliv na prodloužení celkového přežití – kazuistiky. Onkologická Revue 6/2020;36-40

Regináčová K., Kubecová M. BRCA pozitivní karcinom ovária – kazuistika, Onkologická Revue, 6/2020, ISSN 2464-7195

Regináčová K., Kubecová M. Význam multioborového týmu a individuální přístup při léčbě ovariálního karcinomu. Medicína (Speciál) 3/2021;31-32

Regináčová K., Kubecová M. BRCA pozitivní karcinom ovária – kazuistika, Onkologická Revue, 5/2021, ISSN 2464-7195

Regináčová K., Kubecová M. Olaparib jako udržovací léčba nově diagnostikovaných patientek s karcinomem ovarií – výsledky studie SOLO1. Onkologická revue, 2022, vol. 9, s. 53-57. ISSN 2464-7195

Regináčová K., Soumarová R., Kubecová M. Zkušenosti s léčbou niraparibem u patientek s pokročilým karcinomem ovaria. Remedia 2022; 33

Regináčová K., Kubecová M. Přínos olaparibu v léčbě karcinomu ovária, Onkologická Revue, 5/2021, ISSN 2464-7195

Regináčová K., Kubecová M. Niraparib – nová naděje v léčbě ovariálního karcinomu. Farmakoterapie, 2023, vol. 19, s. 358-360. ISSN 1801-1209

Regináčová K., Kubecová M. Karcinom endometria – nové léčebné možnosti. Medicína (příloha novin Ze Zdravotnoctví), 2024

Regináčová K., Kubecová M. Olaparib v léčbě karcinomu ovaria – kazuistika, Onkologická revue, 2024, vol. 3, s. 246-248. ISSN 2464-7195

Borek Sehnal, Martina Kubecová, Martin Hruša, Jana Droženová, Michael J. Halaška, Jiří Havlík, Helena Robová, Tomáš Pichlík, Klaudia Regináčová Grafnetter, Lukáš Rob: Staging karcinomu endometria FIGO 2023 a jeho význam pro klinickou praxi, Klinická onkologie (článek přijat k publikaci)

8.3 Postery na odborných konferencích

4th ACTC meeting: Liquid Biopsy: Latest Advances and Future Challenges, Korfu, 2.-5.10.2019 – prezentován poster „Circulating tumor cells examination during renal cancer surgery follow-up“

A Phase 3 Study of Pembrolizumab Plus Chemoradiotherapy for High-Risk Locally Advanced cervical Cancer: Results From ENGOT-cx11/GOG-3047/Keynote A18 – poster byl prezentován na konferenci ESTRO, AIRO, ASCO