

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni

Studijní program: Gynekologie a porodnictví



MUDr. Alena Bartáková

**Název: Biologické vlastnosti karcinomu vaječníku a jejich
vztah k terapii**

**Title: Biological behavior of ovarian carcinoma and its relation to
therapy**

Typ závěrečné práce: **Disertační**

Školitel: **doc. MUDr. Jiří Bouda, Ph.D.**

Plzeň 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto disertační práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi system meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací

V Plzni dne

MUDr. Alena Bartáková

Identifikační záznam:

BARTÁKOVÁ, Alena *Biologické vlastnosti karcinomu ovaria a jejich vztah k terapii. (Biological features of ovarian carcinoma and their relation to the therapy.)* Plzeň, 2017. Počet stran 94, příloh 16. Disertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Plzni, Gynekologicko-porodnická klinika. Školitel doc. MUDr. Jiří Bouda, Ph.D.

OBSAH

Seznam zkratk	7
1. PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU PROBLEMATIKY	9
1.1. Karcinom ovaria	9
1.1.1. Úvod	9
1.1.2. Histopatologická klasifikace.....	10
1.1.3. Etiopatogeneze.....	11
1.1.4. Rizikové a protektivní faktory.....	14
1.1.5. Prognostické faktory.....	15
1.1.6. Klinické projevy	16
1.1.7. Screening	16
1.1.8. Diagnostika.....	18
1.1.9. Nádorové markery	21
1.1.10. Staging.....	23
1.1.11. Léčba	27
1.2. Nádorové kmenové buňky	33
1.2.1. Přehled současné problematiky	33
1.2.2. Identifikace nádorových kmenových buněk	34
1.2.3. CD44.....	35
2. CÍL PRÁCE	37
3. METODIKA	39
3.1. Soubor pacientek.....	39
3.2. Imunohistochemie.....	40
3.3. Statistické hodnocení	40
3.4. Vymezení pojmů.....	41
4. VÝSLEDKY	43
4.1. Klinicko – patologická charakteristika souboru	43
4.2. Hodnocení celkového přežití a intervalu bez nemoci na jednotlivých prognostických faktorech.....	45
4.2.1. Stádium onemocnění.....	45
4.2.2. Pooperační nádorové reziduum	46
4.2.3. Histologický typ nádoru.....	50
4.2.4. Grade.....	51

4.2.5. Věk.....	52
4.2.6. Neoadjuvantní chemoterapie versus primární operační léčba.....	52
4.2.7. CA125.....	52
4.3. Hodnocení exprese CD44 v primárním tumoru a v metastázách a její vzájemné závislosti v obou tkáních.	53
4.4. Hodnocení vztahu exprese CD44 k zavedeným prognostickým faktorům.	55
4.4.1. Stádium.....	55
4.4.2. Pooperační nádorové reziduum	56
4.4.3. Histologický typ nádoru	56
4.4.4. Grade	57
4.4.5. CA125.....	58
4.5. Hodnocení exprese CD44 a její vztah k celkovému přežití, intervalu bez nemoci a chemorezistenci.	59
4.5.1. Multivariační analýza	59
5. DISKUSE.....	61
6. ZÁVĚR.....	67
6.1. Summary.....	69
7. LITERATURA.....	73
8. PODĚKOVÁNÍ.....	87
9. PŘEHLED VLASTNÍ PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI.....	89
9.1. Publikace týkající se tématu dizertační práce.....	89
9.1.1. Články publikované v časopisech s IF	89
9.1.2. Články publikované v recenzovaných časopisech bez IF	89
9.1.3. Publikované abstrakty.....	90
9.2. Publikace přímo nesouvisející s tématem dizertační práce	91
9.2.1. Články publikované v recenzovaných časopisech bez IF	91
9.2.2. Publikované abstrakty.....	91
10. PŘÍLOHY.....	93

Seznam zkratek

AFP	alfa fetoprotein
CA19-9	cancer antigen 19-9
CA125	cancer antigen 125
CD24	Cluster of Differentiation 24
CD133	Cluster of Differentiation 133
CD44	Cluster of Differentiation 44
CD44s	standardní forma glykoproteinu CD44
CD44v	variantní forma glykoproteinu CD44
CEA	karcinoembryonální antigen
CSCs	Cancer Stem Cells
CT	vyšetření počítačovou tomografií
DFI	disease-free interval
DNA	kyselina deoxyribonukleová
EOC	epithelial ovarian cancer
EMT	epitelo-mesenchymová transmise
FIGO	The International Federation of Gynecology and Obstetrics
GCIG	Gynecologic Cancer InterGroup
GIT	gastrointestinální trakt
GOG	Gynecologic Oncology Group
HA	kyselina hyaluronová
HE4	human epididymal protein 4
HBOC	hereditární karcinom prsu a vaječnicků
HGSC	high grade serous carcinoma
HNPCC	syndrom hereditárního nonpolypózního kolorektálního karcinomu
IOTA	International Ovarian Trial Analysis
IF	impact faktor
MET	mesenchymo-epitelová transmise
MMR systém	missmatch repair systém
MR	vyšetření magnetickou rezonancí
NACHT	neoadjuvantní chemoterapie
OS	overall survival

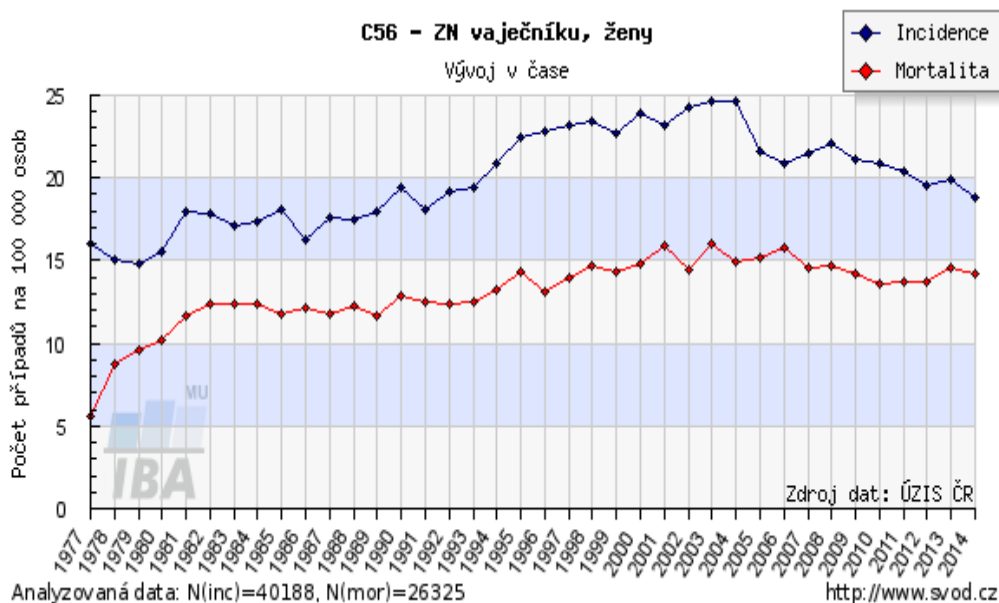
p	hladina významnosti
PARP inhibitory	inhibitory poly(ADP-ribose)polymeráz
PET-CT	vyšetření pozitronovou emisní tomografií-počítačovou tomografií
PFS	progression free survival
PS	performance status
ROMA	risk of ovarian malignancy algorithm
RR	risk ratio
RRBSO	risk reducing bilateral salpingoophorectomy
RTG	rentgenologické vyšetření
SEE-FIM	sectioning and extensively examining the fimbria
STIC	serózní tubální intraepiteliální karcinom
TNM	primary Tumor, regional lymph Nodes, distant Metastasis
UKCTOCS	United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening
UKFOCSS	United Kingdom Familial Ovarian Cancer Screening Study
USG	ultrasonografické vyšetření

1. PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU PROBLEMATIKY

1.1. Karcinom ovaria

1.1.1. Úvod

V České republice byla incidence zhoubných nádorů vaječníků v roce 2014 18,8/100 000 žen, mortalita 14,17/100 000 žen (Národní onkologický registr). Vyšší incidence je obecně v ekonomicky vyvinutých zemích - zde je karcinom ovaria (EOC – epithelial ovarian cancer) druhý nejčastější zhoubný nádor z gynekologických nádorů [1]. Srovnáme-li gynekologická onemocnění, jedná se o tumor s nejvyšší mortalitou. I přes velké úsilí věnované karcinomu ovaria se za poslední dekádu přežití pacientů příliš nezměnilo (v ČR v roce 2002 incidence 24,29/100 000 žen, mortalita 13,77/100 000 žen – Národní onkologický registr).



Obrázek 1 - Zhoubné nádory vaječníku – incidence a mortalita v letech 1977 - 2014

Diagnostiku karcinomu ovaria i jeho terapii provází řada obtíží. Karcinom ovaria je typicky diagnostikován v období kolem 60 let věku, nicméně je stále častěji diagnostikován i u mladých žen do třiceti let. Bohužel, karcinom ovaria je často diagnostikován až v pokročilém stádiu onemocnění. V současnosti neexistuje celoplošný screening, klinické symptomy jsou zcela nespecifické (gastrointestinální obtíže, zvětšení

objemu břicha, apod.) a vyskytují se až v pokročilém stadiu onemocnění. Vezmeme-li v úvahu všechna stadia onemocnění, pětileté přežití se pohybuje kolem 42 % [2], pro stádium III 35 % a pro stádium IV jen 22 % [3].

Léčba je založena na chirurgickém odstranění tumoru a chemoterapii. Většinou je použita kombinace platinových derivátů (karboplatina, cisplatina) a taxanů. Chemoterapie je ale velmi často komplikována vznikem rezistence, především u recidiv. Není znám prognostický faktor vzniku rezistence, stejně tak nevíme, jak rezistence vzniká.

Proto je věnována pozornost hledání nových prognostických faktorů, individualizaci terapie a možnosti cílené terapie. Dále jsou hledány screeningové metody, které by se mohly uplatnit především u hereditárních syndromů.

1.1.2. Histopatologická klasifikace

Karcinom ovaria je heterogenní skupina nádorů, do které patří high-grade a low-grade serózní karcinom, dále endometroidní, mucinózní a světlebuněčný karcinom. Karcinom z přechodných buněk je brán jako morfologická varianta high-grade serózního karcinomu. Maligní Brennerův tumor [4] je považován za low-grade karcinom a jeho výskyt je extrémně vzácný [5].

Nejčastějším typem je serózní papilární karcinom, který představuje cca 70 % maligních nádorů vaječníků [6]. Velmi často se jedná o oboustranný nález, makroskopicky solidního vzhledu, především u málo diferencovaných karcinomů. Dobře diferencované karcinomy bývají tvořené složkou cystickou a papilární, mohou se vyskytovat psamomatózní tělíška. Diferenciace karcinomu a tedy určení gradingu je důležité pro stanovení prognózy. Při určování gradingu se hodnotí uspořádání (glandulární, papilární nebo solidní), stupeň jaderných atypií a mitotický index. V poslední době jsou serózní karcinomy ovaria děleny spíše na 2 stupně – low-grade a high-grade. Toto schéma je založeno na hodnocení mitotického indexu a nukleárních atypií. Nádory s uniformním jádrem a méně než 12 mitózami na 10 zorných polí jsou klasifikovány jako low-grade karcinomy. Nádory s jadernými atypiemi nebo 12 a více mitózami jsou zařazeny do skupiny high-grade. Podle multivariační analýzy bylo toto schéma signifikantním prognostickým faktorem celkového přežití [7].

Endometroidní karcinom ovaria tvoří zhruba 15 – 20 % epiteliálních nádorů ovaria. Má podobnou histologickou strukturu jako karcinom endometria, makroskopicky se jedná

o solidní či cysticko – solidní karcinomy, mohou být s hemoragickým obsahem. Často se jedná o dobře diferencované nádory. Zhruba ve 30 – 40% je diagnostikována endometrióza [8]. Atypická endometrióza by mohla být prekurzorem endometroidního (i clear cell) karcinomu [9].

Mucinozní karcinom představuje asi 10 % karcinomů ovaria. Pro tento karcinom je charakteristická produkce hlenu. Často je diagnostikován v časném stadiu, neboť tvoří velké unilokulární či multilokulární cystické tumory, částečně se solidním obsahem. Asi v 5 % nacházíme bilaterální lézi. Pacientky s pokročilým nálezem mají horší odpověď na chemoterapii s relativní chemorezistencí [10]. Histologicky může být obtížné odlišení od metastáz mucinózního adenokarcinomu gastrointestinálního origa, k rozlišení je důležitá korelace s klinickým nálezem a popřípadě užití imunohistochemických markerů. Grading se u mucinózních karcinomů nevyužívá.

Pro světlebuněčný karcinom neboli karcinom z jasných buněk (clear cell) je typický histologický nález buněk s vodojasnou cytoplazmou. Grading se ani u tohoto karcinomu nestanovuje, ale vždy jej považujeme za high–grade karcinom. Výskyt se udává cca 5- 10 % karcinomů, bohužel je obvykle zjištěn v pokročilém stadiu. Zajímavé je současné zjištění endometriózy, popřípadě může vyrůstat přímo z ložiska endometriózy.

Méně častý histologický nález je maligní Brennerův nádor. Tento karcinom je histologicky podobný uroteliálnímu karcinomu, obsahuje benigní či borderline část a část se stromální invazí.

1.1.3. Etiopatogeneze

Původ buněk a mechanismus vzniku ovariálního karcinomu je dlouhodobě studován. Ovariální karcinomy se dělí na sporadické a hereditární. Pro vznik sporadického karcinomu existuje mnoho hypotéz.

Podle ovulační hypotézy jsou příčinou vzniku nádoru mikrotraumata povrchového epitelu ovaria při ovulaci. Po ovulaci epitel proliferuje. S četnější proliferací je vyšší riziko chybné replikace a nádorové transformace.

Teorie inkluzních cyst předpokládá, že ke vzniku karcinomu dochází vlivem gonadotropinů. Gonadotropiny stimulují tvorbu estrogenů a jejich prekurzorů, což vede ke vzniku inkluzních cyst. Zde dochází k proliferaci epitelu a nádorové transformaci.

Podle androgen-progesteronové teorie mají androgeny vliv na vznik nádoru, progesteron by měl mít protektivní vliv. Tuto teorii podporuje vyšší produkce androgenů v postmenopauze, ve které je epidemiologicky vyšší incidence karcinomu.

Všechny tyto teorie podporují protektivní účinek hormonální antikoncepce a těhotenství.

Teorie retrográdní menstruace a zánětu se snaží vysvětlit vznik endometroidního karcinomu.

V současné době je věnována také pozornost nádorovým kmenovým buňkám. Podle této hypotézy by se nádorové kmenové buňky mohly podílet na růstu nádoru, metastazování a vzniku chemorezistence. Nádorové kmenové buňky jsou subpopulací buněk s typickými vlastnostmi kmenových buněk – to je schopností sebeobnovy a diferenciací v různé buněčné typy, dále schopností propagace tumoru in vivo a exprese povrchových markerů. Přítomnost nádorových kmenových buněk byla prokázána u mnoha solidních tumorů. [11]

Etiopatogeneze není přesně známa a čím dál tím větší pozornost je věnována genové, molekulární a imunohistochemické diagnostice. Studie ukazují, že ovariální karcinom není jednotné onemocnění. Jedná se o skupinu karcinomů, ty mohou být klasifikovány podle morfologických a molekulárně genetických znaků. Část karcinomů pravděpodobně vzniká z prekursorů (typ I) a část de novo (typ II) [12].

K typu I patří low-grade serózní karcinom, endometroidní, mucinozní, světlebuněčný karcinom a maligní Brennerův nádor. Tyto nádory jsou asociovány především s mutacemi v genu KRAS, BRAF, ERBB2, PTEN. Pravděpodobně vznikají z benigních cyst přes borderline tumory, ze kterých se formují histologicky odpovídající maligní tumory.

K typu II řadíme high-grade serózní karcinom, nediferencovaný karcinom a karcinosarkom, neboť jeho epitelová složka odpovídá high-grade karcinomu. Tyto nádory jsou velmi agresivní, obvykle jsou diagnostikovány v pokročilém stadiu. Ve více než 80% zde nacházíme mutaci TP53. Dále byly popsány amplifikace či delece – mezi nejčastější homozygotní delece patří Rb1, CDKN2A/B, CSMD1, and DOCK4 [13]. Kromě homozygotní delece CDKN2A/B nebyly tyto delece nalezeny v serózních borderline tumorech ani v low-grade serózních karcinomech. Mutace typické pro typ I karcinomy zde zjištěny nebyly. Tato zjištění podporují teorii, že obě skupiny vznikají různými molekulárními cestami.

Zhruba 75 % karcinomu typ II je klasifikováno jako high-grade serózní karcinom (HGSC) [14]. Během posledních let se množí důkazy, že HGSC vzniká ve fimbriích vejcovodu. Tyto prekursorové léze se nazývají serózní tubální intraepiteliální karcinomy (STICs) [15] a jsou charakterizovány overexpresí p53 a mají vysoký proliferační index Ki-67. Ve více než 90 % STICs nese mutaci TP53 tumor supresorového genu [16].

Byla publikována studie CONCORD [17], která studovala celosvětový výskyt karcinomu ovaria podle histologických skupin. Do studie bylo zahrnuto více než 680 000 žen s karcinomem vaječníku, vejcovodu nebo peritonea, který byl diagnostikován v letech 1995 – 2009. V letech 2005 – 2009 byly nejčastější karcinomy skupiny II (hlavně high-grade serózní karcinom) a to především v Oceánii (73,1%), severní Americe (73 %) a v Evropě (72,6 %). V centrální a jižní Americe (65,7%) a v Asii (56 %) byl výskyt nižší. Oproti tomu zde byl vyšší výskyt typ I karcinomu. Celkově během sledování došlo k postupnému nárůstu high-grade serózního karcinomu oproti ostatním histologickým typům.

Karcinom ovaria se také může vyskytovat v rámci hereditárních onemocnění. Nejčastěji se jedná o syndrom hereditárního karcinomu prsu a vaječníků (HBOC) a Lynchův syndrom.

Za většinu HBOC jsou zodpovědné mutace BRCA 1 (70%) a BRCA 2 (20%), dále pak mutace jiných genů s nižší penetrací, které jsou relativně vzácné. Geny BRCA 1 a 2 byly zjištěny v jaderných komplexech a jsou důležité pro zachování genomové integrity a řízení transkripce a buněčného cyklu. Celoživotní riziko BRCA1 nosiček pro vznik karcinomu ovaria je 35 – 46%, pro BRCA2 13 - 23%. [18]. Jedná se o autosomálně dominantní typ dědičnosti. U BRCA mutací dochází k přenosu zárodečné mutace, která inaktivuje jednu z alel odpovědného genu. V cílové tkáni při následné genetické změně druhé alely dojde ke kompletní inaktivaci genu. Genomová nestabilita způsobí tumorogenezi.

Karcinom vaječníku může vzniknout také v rámci Lynchova syndromu. Ten je také označován jako HNPCC (hereditary non-polyposis colorectal cancer). U pacientek s Lynchovým syndromem byla zjištěna mutace v některém z genů tzv. mismatch repair systému – MMR (geny MLH1, MSH2, MSH6, PMS2). Jedná se také o autosomálně dominantní typ dědičnosti. Pacientky s Lynchovým syndromem mají nejvyšší celoživotní riziko pro kolorektální karcinom (30 – 70%), druhý nejčastější je karcinom endometria (40 – 60%). Riziko karcinomu vaječníku se udává 4 – 12%, dále se mohou vyskytnout i další

zhoubné nádory – např. žaludku, uropoetického traktu, žlučových cest, žlučníku a tenkého střeva.

1.1.4. Rizikové a protektivní faktory

Rizikové faktory podporují etiologické hypotézy. Podle ovulační hypotézy je vyšší počet ovulací rizikovým faktorem. Další často popisovanou hypotézou je gonadotropinová hypotéza (viz výše). Mezi známé rizikové faktory zařazujeme nulliparitu nebo první dítě po 30. roku věku. Dále sem patří časná menarche (před dvanáctým rokem věku) a pozdní menopauza (po 50 letech). Epidemiologické studie ukázaly, že protektivním faktorem je anovulace – tedy těhotenství a hormonální kontracepce [19]. S každým porodem se snižuje riziko o 10 – 15 %. Protektivním faktorem je také celková doba kojení. RR (risk ratio – celoživotní riziko vzniku karcinomu) po 5 letech užívání hormonální antikoncepce se snižuje na 0,5 (o 10 - 12% za rok užívání). Po skončení užívání je snížené riziko ještě 15 – 20 let. Naproti tomu užívání hormonální substituční terapie může mírně zvyšovat RR, ale data jsou především pro estrogenní substituci. Pro kombinovanou estrogen–gestagenní terapii jsou data nejednoznačná.

Riziko karcinomu vaječníku stoupá s věkem, nejčastěji je diagnostikován v 63 letech [20]. U BRCA pozitivních žen je nejvyšší incidence o 10 - 15 let dříve. Vyšší výskyt je u kavkazské rasy než u černé a žluté rasy.

Endometrióza je spojena s vyšším rizikem endometroidního a clear-cell karcinomu [21].

Obezita, kouření a alkohol jsou jako rizikové faktory jen podle některých studií a zřejmě platí jen pro mucinózní karcinom.

Z operačních výkonů působí protektivně bilaterální salpingooforektomie, ale nesnižuje riziko primárního peritoneálního karcinomu. Bilaterální salpingektomie snižuje riziko vzniku serózního tubálního intraepiteliálního karcinomu - STIC [22]. Proto je u pacientek podstupujících hysterektomii pro benigní nález vhodná i bilaterální salpingektomie.

1.1.5. Prognostické faktory

Mezi hlavní prognostické faktory zahrnujeme stádium onemocnění, histologický typ nádoru, postoperační nádorové reziduum, věk a celkový stav pacientky (performance status – PS).

Většina pacientek bohužel přichází v pokročilém stádiu (FIGO III, IV). Jednotlivé histologické typy mají různou prognózu. Mezi karcinomy s relativně dobrou prognózou patří mucinózní, endometroidní a low-grade serózní karcinom. Karcinom s relativně špatnou prognózou je například high-grade serózní karcinom, clear cell a nediferencovaný karcinom. Musíme brát v úvahu, že mucinózní karcinom má lepší prognózu, především proto, že je často diagnostikován v nižším stádiu.

Nulové pooperační nádorové reziduum je významný pozitivní prognostický faktor. Prognóza se zhoršuje při ponechání pooperačního rezidua do 1 cm v průměru, výrazné zhoršení je nad 1 cm [23].

Problémem léčby je vznik recidivy a chemorezistence. Nyní nemáme žádné prediktivní faktory, které by nám mohly pomoci určit vznik recidivy a chemorezistence. Čím dál více je věnována pozornost genetické povaze ovariálního karcinomu a nádorovým kmenovým buňkám (viz dále). Genetická povaha ovariálního karcinomu je probádána jen zčásti, v praxi jsou především testovány mutace BRCA, mutace spojené s Lynchovým syndromem a s klasifikací karcinomu typu I a typu II. Existují ale další kandidátní geny, kterým je třeba se věnovat. Na základě genetických profilů bylo zjištěno několik markerů souvisejících s chemorezistencí - např. NRF2, TP53, DACH1, EVI1, SKILL, RUNX, PRKCI, GPX3, APC, BAG3, S100A10, EGFR, ITGAE, MAPK3/ERK1, TAP1/ABCB2, BNIP3, MMP9 a FASLG [24-27]. Na vznik chemorezistence by mohly mít vliv geny zodpovědné za transport cytostatik. Jedná se o membránové ABC transportéry (ATP binding cassette) a SLC transportéry (solute carrier) vázající ATP, jejich zvýšená exprese byla prokázána v souvislosti s chemorezistencí ve tkáních různých nádorů, např. prsu, v kolorektálním karcinomu nebo karcinomu vaječníku [28-31].

Ve spolupráci se Státním zdravotním ústavem a Gynekologicko-porodnickou klinikou Fakultní nemocnice Motol jsme provedli nejprve pilotní studii zabývající se expresí vybrané kazety genů (membránové transportéry, geny regulace buněčného cyklu a DNA reparačních mechanismů) ve vzorcích benigních vaječníků, primárních karcinomů vaječníku a peritoneálních metastáz. Porovnávali jsme rozdíly v hladinách exprese

jednotlivých typů tkání a hledali jsme vztahy mezi klinicko–patologickými znaky a expresí genů [32]. Zajímavým nálezem byla zvyšující se exprese genu ABCA7 od benigní tkáně přes tkáň primárního karcinomu až k metastázám. V opačném sledu se snižovala exprese genu NR1H4. S klinicko–patologickými charakteristikami korelovala exprese genů ABCA3, TP53 a MSH2 v maligní tkáni. Byly nalezeny kandidátní geny, kterým byla věnována další studie.

Do druhé studie bylo zařazeno celkem 54 genů membránových transportérů (ABC, SLC a ATP-ázy) [33]. Exprese těchto genů byla sledována ve vztahu ke klinicko–patologickým charakteristikám pacientek. Byl zjištěn rozdíl v expresi membránových transportérů mezi high-grade serózním karcinomem a ostatními histologickými typy. Exprese genů ABCA9, ABCA10, ABCC9, ABCG2 a SLC16A14 byla asociována s intervalem bez progresu. Geny, které by mohly mít vliv na progresi, recidivu a vznik chemorezistence, by měly být dále zkoumány.

1.1.6. Klinické projevy

Časná stádia jsou většinou asymptomatická. Klinické projevy se objevují až v pokročilých stádiích. Ze subjektivních obtíží se nejčastěji vyskytuje pocit plnosti, nadýmání a nechutenství, bolesti břicha. Dále si pacientky stěžují na zvětšování objemu břicha, poruchy vyprazdňování stolice, později hubnutí. Prvním příznakem může být i trombóza (nejčastěji dolních končetin), a to jako tzv. paraneoplastický projev nebo následkem útlaku pánevních žil.

1.1.7. Screening

Jakékoliv screeningové vyšetření by mělo být dostatečně senzitivní i specifické a zároveň relativně levné, neboť by mělo být cíleno na celou populaci. Bohužel pro ovariální karcinom celoplošný screening není. Obtíží spojených se zavedením vhodné screeningové metody je několik. Ovariální karcinom je onemocnění s ne zcela jasnou etiopatogenezí, neznáme přednádorové stavy, časná stádia nemají klinické projevy a onemocnění postupuje rychle.

Ve snaze najít vhodnou metodu byla provedena randomizovaná mezinárodní studie UKCTOCS (UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening) na více než 200 000

postmenopauzálních žen. Studie zahrnovala roční vyšetření hodnoty CA125 a transvaginální sonografické vyšetření. V primární analýze nebyl signifikantní rozdíl ve snížení úmrtnost oproti skupině bez screeningového vyšetření [34]. Sledování v letech 2007 – 2014 přineslo povzbudivé důkazy o snížení mortality oproti kontrolní skupině [35]. Nicméně je důležité pokračovat ve sledování pacientek, aby bylo možné stanovit jasné závěry o účinnosti a také finanční efektivitě tohoto screeningu.

Ačkoli neexistuje celoplošný screening pro ovariální karcinom, existují schémata pro selektivní screening u pacientek s hereditárními syndromy. Pacientky s prokázanou mutací genů mismatch-repair systému (Lynchův syndrom) by měly být sledovány ve specializované gynekologické, gastroenterologické, mamologické, urologické a neurologické poradně. V onkogynekologickém centru provádíme jedenkrát ročně od 20 let věku pacientky expertní sonografické vyšetření společně s odběrem CA125. Standardní gynekologické vyšetření včetně odběru cytologie je v rukách obvodního gynekologa. Pacientky (i pacienti) by měly být také vyšetřeny pomocí kolonoskopie, gastrokopie, měl by být proveden test na okultní krvácení. Důležité je také mamologické vyšetření včetně sonografie prsů a později mamografie. Dále se provádí vyšetření moči a neurologické vyšetření.

Důležité je sledování BRCA pozitivních pacientek, které mají 10 – 30 krát vyšší celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu a ovaria než nezatížené pacientky.

BRCA nosičkám můžeme nabídnout pečlivou dispenzarizaci zahrnující jedenkrát ročně gynekologické vyšetření včetně screeningu cervikálního karcinomu (u obvodního gynekologa), od 20 let každé čtyři měsíce až šest měsíců expertní onkogynekologický ultrazvuk a stanovení hladiny CA125. Tato vyšetření by měla být provedena v onkogynekologickém centru [36]. Toto doporučení vychází z výsledků studie UKFOCSS (UK Familial Ovarian Cancer Screening Study) [37]. Vzhledem k riziku vzniku karcinomu prsu, ale také karcinomu pankreatu, kolorektálnímu karcinomu a malignímu melanomu by měly být pacientky sledovány i v dalších specializovaných poradnách. Pacientky by měly docházet na mamologické vyšetření jedenkrát za šest měsíců od 25 let věku či o deset let dříve, než byl věk nejmladší nemocné v rodině. Součástí vyšetření prsů je mamografické a sonografické vyšetření. Po domluvě s mamologem je vhodné provedení profylaktické bilaterální mastektomie. Dále by mělo být prováděno kolonoskopické vyšetření od 45 let věku a to každé tři roky až pět let a nemělo by se zapomínat jedenkrát ročně na test na okultní krvácení. U BRCA2 pozitivních pacientek i pacientů s jedním prvostupňovým

příbuzným či dvěma příbuznými s karcinomem pankreatu by mělo být prováděno endoskopické sonografické vyšetření jedenkrát ročně od 50 let věku nebo o deset let dříve než byl věk nejmladšího nemocného v rodině.

Metodou, která snižuje riziko vzniku a mortalitu ovariálního karcinomu je profylaktická operace – bilaterální adnexektomie s laváží a eventuálně s hysterektomií (RRBSO – risk reducing bilateral salpingo-oophorectomy). Načasování výkonu by mělo být mezi 35 – 40 lety věku BRCA1 nosičky, u BRCA2 pozitivní pacientky je možné vyčkat do 45 – 50 let [38]. Po provedení profylaktického výkonu ale zůstává riziko vzniku primárního peritoneálního karcinomu, proto by pacientky měly pokračovat v dispenzarizaci. Obvykle je provedeno gynekologické vyšetření a expertní USG jedenkrát ročně, ale závazné doporučení není dáno. Přínos stanovení CA125 není jasný.

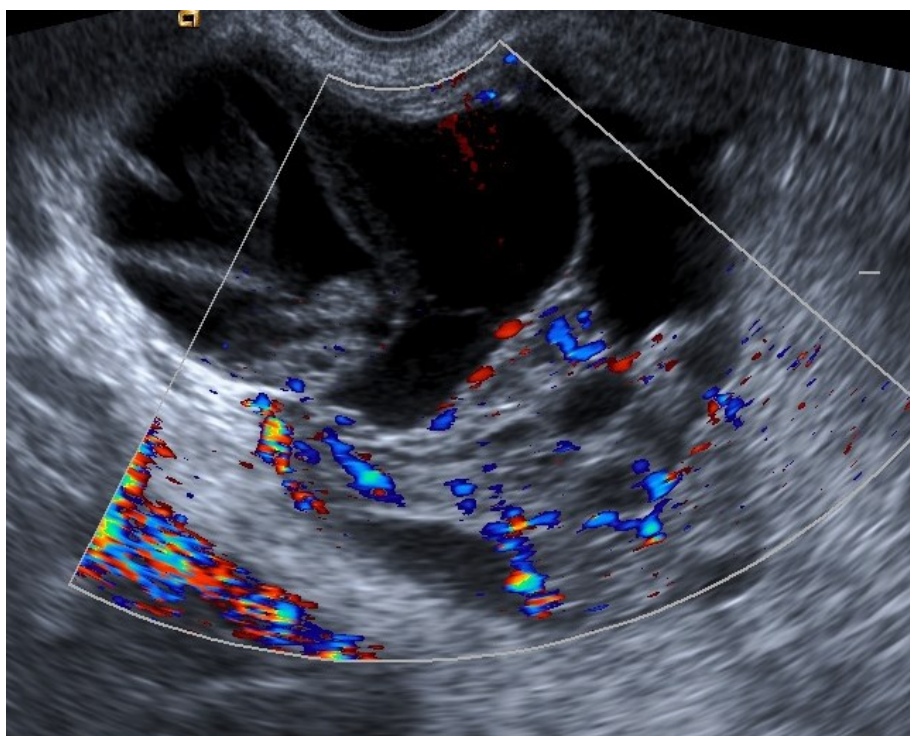
Po provedení profylaktické adnexektomie je důležité vyšetření vejcovodů podle protokolu SEE-FIM (sectioning and extensively examining the fimbria). Podle SEE-FIM protokolu by měly být provedeny sériové řezy po dvou až třech milimetrech. Při tomto histologickém zpracování lze detekovat STIC jako prekursor serózního karcinomu [39].

Na základě nálezů STIC a teorie, že nádorové buňky je možné detekovat ve vejcovodu, byla provedena studie na detekci nádorových buněk z laváže dutiny děložní pomocí speciálního katetru [40]. Zdá se, že by tato metoda mohla být přínosem k diagnostice časných karcinomů či STICs. Na základě této pilotní studie probíhá obdobná u BRCA pozitivních pacientek. Naše onkogynologické centrum je součástí této mezinárodní studie. Věříme, že laváž dutiny děložní by jednou mohla být součástí screeningu BRCA pozitivních pacientek.

1.1.8. Diagnostika

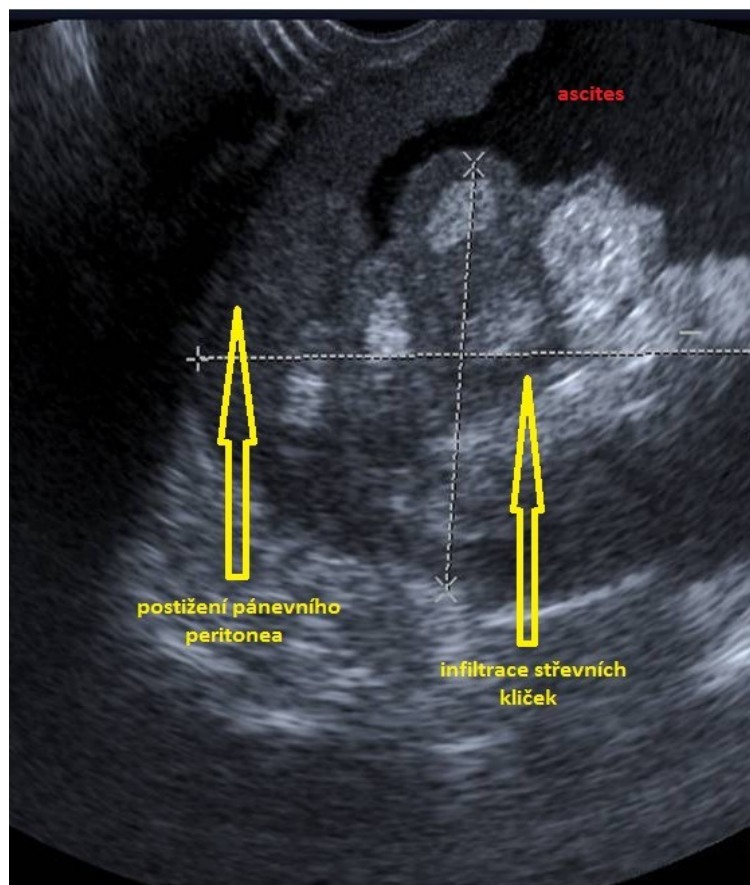
Výskyt výše uvedených příznaků (viz klinické příznaky), zvláště v kombinaci, by měl vést ke komplexnímu gynekologickému vyšetření. Studií týkajících se fyzikálního vyšetření a diagnostiky benigních a maligních ovariálních tumorů je velmi málo. Samotným fyzikálním vyšetřením není možné rozlišit benigní a časně maligní tumory. Obligatorní vyšetření zahrnují odebrání anamnézy, komplexní gynekologické vyšetření, RTG hrudníku, expertní ultrazvukové vyšetření pánve a dutiny břišní. Standardně jsou odebírány nádorové markery – především CA125 (Cancer Antigen 125) a HE4 (Human Epididymal Protein – 4).

Ze zobrazovacích metod je metodou volby ultrazvukové vyšetření. Základním cílem ultrazvukového vyšetření v předoperační diagnostice je rozlišit mezi normálním a suspektním nálezem na adnexech. Při suspektním nálezu by mělo být provedené expertní ultrazvukové vyšetření v onkogynekologickém centru. Ultrazvukové vyšetření je možné hodnotit subjektivně nebo s pomocí skórovacích systému či matematických modelů. Subjektivní hodnocení ovariálního tumoru zkušeným sonografistou je považováno za nejpřesnější metodu v předoperační diferenciální diagnostice benigních a maligních ovariálních nádorů s přesností 89–96 % [41]. Mezinárodní ultrazvuková skupina IOTA (International Ovarian Trial Analysis) definovala terminologii ultrazvukových adnexálních nálezů a tzv. jednoduchá ultrazvuková pravidla diferenciální diagnostiky benigních a maligních nádorů ovaria. Hodnotí se lokularita cysty, charakter vnitřní stěny, přítomnost solidní složky, stupeň cévní perfúze a přítomnost ascitu. Jsou dány tzv. M znaky s nejvyšší prediktivní hodnotou pro nález maligní léze a naopak B znaky s nejnižší prediktivní hodnotou [42].



Obrázek 2 – Dle USG multicysticko-solidní útvar s patologickou perfúzí v septech.

Kromě rozhodnutí o charakteru léze je v případě maligního nálezu důležité také zhodnocení stagingu a posouzení operability onemocnění. Hodnotí se postižení peritonea, omenta, parenchymatózniích orgánů a spádových lymfatických uzlin [43].



Obrázek 3 – Na USG masivní karcinomatóza střevních kliček a pánevního peritonea – primárně inoperabilní nález

Před zahájením neoadjuvantní chemoterapie je nutné odebrání a histologické vyšetření vzorku tumoru. Probatorní laparotomie nese pro pacientku celou řadu nevýhod, diagnostická laparoskopie pacientky zatěžuje méně, ale přesto je nutná hospitalizace, anestezie a přináší rizika při vstupu do břišní dutiny. V případě jasných známek inoperabilního nálezu je vhodný minimálně invazivní výkon k odebrání biopsie – odběr biopsie tlustou jehlou pod USG kontrolou (tru-cut biopsie). Limitem pro odebrání histologie je uložení tumoru (blízko velkých cév, uložení hluboko v pánvi nedosažitelné jehlou).

Magnetická rezonance (MR) je využívána jen velmi málo. MR má vysoké tkáňové rozlišení, ale má limitace v zobrazení malých nádorů a diagnostice borderline a maligních

nádorů. Nevýhodou jsou také kontraindikace vyšetření, nemožnost hodnocení v reálném čase a v poslední řadě také cena.

Počítačová tomografie (CT) má nízké tkáňové rozlišení, proto není vhodná k diferenciální diagnostice benigního a maligního nálezu. Je ale využívána ke stanovení rozsahu nálezu v břišní a hrudní dutině.

1.1.9. Nádorové markery

Jedním z typických projevů maligních nádorů je produkce různých látek, tzv. nádorových markerů. Látky produkované samotným nádorem označujeme jako nádorem asociované. Markery nádorem indukované tvoří jiné tkáně jako reakci na maligní tumor.

Mezi prediktivně – prognostické biomarkery, které využíváme k diagnostice karcinomu ovaria a dalšímu sledování vývoje onemocnění během léčby a po léčbě, zahrnujeme především CA125 a HE4. Pomocí těchto markerů je stanoven ROMA index (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm). V diferenciální diagnostice malignit gastrointestinálního origa non-epitelových nádorů vaječníku využíváme i další markery – např. CA19-9 (Cancer Antigen 19-9), CEA (karcinoembryonální antigen), AFP (alfa-1 fetoprotein).

Marker CA125 byl objeven v roce 1981 [44] pomocí imunizace myši buňkami lidského epitelového karcinomu a od té doby má v diagnostice a léčbě ovariálního karcinomu zásadní místo. Jedná se o glykoprotein s molekulovou hmotností více než 500 000 daltonů. Senzitivita a specificita CA125 je nejvyšší u postmenopauzálních žen [45]. U premenopauzálních žen má nízkou specificitu, neboť zvýšené hodnoty mohou být u fyziologických stavů jako je např. menstruace či gravidita. Vyšší hodnoty mohou mít také pacientky s endometriózou, benigními nádory vaječníků, s myomy, s pánevním zánětem či pacientky s patologickým procesem na serózních blanách. CA125 není nádorově specifický – vyšší hodnotu lze naměřit u karcinomu vaječníku, ale také u karcinomu endometria a endocervixu, dále u karcinomu pankreatu, žaludku, střev, u karcinomu prsu a bronchogenního karcinomu. Negativní hodnoty však maligní nález nevyklučují. Z uvedených příčin CA125 slouží k diagnostice jako pomocný marker, ale je vhodný ke sledování odpovědi na léčbu, k detekci relapsu a progresi onemocnění. Vysoké hodnoty CA125 před léčbou a jejich normalizace koresponduje s lepším PFS (Progression Free Survival) a správně zvolenou léčbou [46].

HE4 je glykoprotein produkovaný tkání nadvarlat, epitelem reprodukčního a respiračního traktu. HE4 má nižší falešnou pozitivitu u benigních gynekologických onemocnění. Senzitivita HE4 pro karcinomu ovaria se udává kolem 73%, nejvíce pro endometroidní a serózní typ ovariálního karcinomu [45]. Pro mucinózní histologický typ je senzitivita nízká. Z dalších malignit lze vyšší hodnotu stanovit u pacientek s plicním karcinomem, méně často pak u pacientek s maligním onemocněním gastrointestinálního a uropoetického traktu. Z benigních onemocnění je hodnota zvýšena u renální insuficience.

Samotné stanovení HE4 není vhodné, neboť je poměrně vysoký počet falešně negativních nálezů.

ROMA algoritmus je logistický regresní model, který využívá oba markery (CA125, HE4) a zahrnuje menopauzální stav pacientky. ROMA index dělí pacientky do skupiny s nízkým nebo s vysokým rizikem epiteliálního karcinomu ovaria. U ROMA indexu je senzitivita 76 % [47].

CA19-9 (Cancer Antigen 19-9) patří do skupiny onkofetálních nádorových markerů. U plodu je tvořen epitelem gastrointestinálního traktu, u dospělých je produkován minimálně. Zvýšená hodnota je především u karcinomu pankreatu, žaludku, žlučníku a žlučových cest, ale také u mucinózního karcinomu vaječníku, především u dobře diferencovaného. U málo diferencovaných karcinomů s úbytkem glandulární složky se jeho produkce snižuje. Z benigních onemocnění se hodnota zvyšuje u pankreatitidy, hepatitidy, cholecystitidy a dalších zánětlivých onemocnění gastrointestinálního traktu. CA19-9 je vhodný k diferenciaciální diagnostice nádorového origa.

CEA (karcinoembryonální antigen) je onkofetální glykoprotein, který je fyziologicky tvořen u plodu. V dospělosti se fyziologicky nevyskytuje, ale zvyšovat hodnotu mohou i benigní onemocnění, např. renální selhání, hepatitida, pankreatitida a bronchitida. Zvýšenou hladinu stanovujeme především u karcinomu gastrointestinálního traktu - hlavně u kolorektálního karcinomu, karcinomu žaludku, pankreatu a žluč. cest, dále pak karcinomu plic, moč. měchýře a štítné žlázy. Vyšší hodnota CEA je spojena s mucinózním karcinomem ovaria. CEA není využíván k diagnostice maligních nádorů ovaria, ale využívá se v diferenciaciální diagnostice maligních onemocnění GIT.

1.1.10. Staging

Staging je jednoznačný a všeobecně srozumitelný popis anatomického rozsahu onemocnění. Nejprve je určen pomocí klinického vyšetření a zobrazovacích metod. Později jsou připojena data z operace a z histopatologického vyšetření. Ke stagingu by měla být připojena i informace o gradingu, tedy stupni diferenciacie tumoru.

Staging je důležitý pro plánování léčby a později její hodnocení. Máme-li určen staging, můžeme pacientce podat prognostické údaje související s určitým rozsahem onemocnění. Stadium onemocnění se v průběhu života pacientky nemění, ani pokud dojde ke generalizaci onemocnění.

Nyní jsou vytvořeny a používány 2 klasifikační systémy. Jedná se o systém TNM (vytvořený Union Internationale Contre le Cancer – UICC) a systém FIGO (vytvořený Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique). Oba systémy spolu korelují.

TNM klasifikace

Systém TNM popisuje 3 složky anatomického rozsahu onemocnění.

T (tumor) určuje rozsah primárního nádoru.

TX - primární nádor nelze hodnotit

T0 - bez známek primárního nádoru

T1 - nádor je omezen na vaječníky

T1a - nádor omezen na jeden vaječník; pouzdro intaktní, žádný nádor na povrchu vaječníku; v ascitu nebo peritoneálním výplachu nejsou maligní buňky

T1b - nádor omezen na oba vaječníky; pouzdro intaktní, žádné známky nádoru na povrchu vaječníků; v ascitu nebo peritoneálním výplachu nejsou maligní buňky

T1c - nádor ohraničen na jeden a / nebo oba vaječníky s čímkoliv následujícím: ruptura pouzdra, nádor na povrchu ovaria, maligní buňky v ascitu či peritoneálním výplachu

T2 - nádor postihuje jeden a / nebo oba vaječníky se šířením v pánvi

T2a - šíření a / nebo implantace na dělohu a / nebo vejcovod(y); v ascitu nebo peritoneálním výplachu nejsou maligní buňky

T2b - šíření na jiné pánevní tkáně; v ascitu nebo peritoneálním výplachu nejsou maligní buňky

T2c - šíření v pánvi (2a nebo 2b) s maligními buňkami v ascitu nebo peritoneálním výplachu

T3 - nádor postihuje jeden nebo oba vaječníky, s mikroskopicky prokázanými peritoneálními metastázami mimo pánev

T3a - mikroskopické peritoneální metastázy mimo pánev

T3b - makroskopické peritoneální metastázy mimo pánev 2 cm nebo méně v největším rozměru

T3c - peritoneální metastázy mimo pánev větší než 2 cm v největším rozměru

N (nodus) podává informaci o postižení regionálních lymfatických uzlin. Mezi regionální lymfatické uzliny patří uzliny pánevní (paracervikální, parametriální, hypogastrické - vnitřní ilické a obturatorní, společné a zevní ilické, presakrální a laterální sakrální), uzliny paraaortální (horní a dolní paraaortální a preaaortální, horní a dolní parakavální a prekavální a horní a dolní interaaortokavální).

NX - regionální mízní uzliny nelze hodnotit

N0 - v regionálních mízních uzlinách nejsou metastázy

N1 - metastázy v regionálních mízních uzlinách

Pro stanovení pN je nutné vyšetření vzorků z pánevní a/nebo paraaortální lymfadenektomie, které by mělo standardně obsahovat minimálně 15 uzlin pánevních a 10 uzlin paraaortálních. Pokud je vyšetřených lymfatických uzlin méně, jedná se o sampling a je to klasifikováno jako pNX.

M (metastáza) informuje o přítomnosti či nepřítomnosti vzdálených metastáz.

MX – vzdálené metastázy nelze hodnotit

M0 – nejsou vzdálené metastázy

M1 - vzdálené metastázy

Karcinom ovaria nejčastěji metastazuje do parenchyma jater, do plic a na pleuru. Postižení pouzdra jater se nehodnotí jako vzdálená metastáza. Pleurální výpotek s cytologicky prokázaným nálezem maligních buněk je klasifikován jako M1.

Tabulka 1 - TNM stádia

stádium	TNM
IA	T1a N0 M0
IB	T1b N0 M0
IC	T1c N0 M0
IIA	T2a N0 M0
IIB	T2b N0 M0
IIC	T2c N0 M0
IIIA	T3a N0 M0
IIIB	T3b N0 M0
IIC	T3c N0 M0 jakékoliv T N1 M0
IV	jakékoliv T jakékoliv N M1

FIGO klasifikace

FIGO klasifikace byla především zpočátku postavena na klinických vyšetřeních, ale v současné době zahrnuje i histopatologické vyšetření. Poslední revize proběhla v roce 2012 na FIGO setkání v Římě a byla publikována v lednu 2014 [48].

Tabulka 2 - FIGO klasifikace - staré a nové hodnocení (změny jsou vyznačeny tučně).

Stadium I - nádor je omezen na vaječníc(y)			
Stará klasifikace		Nová klasifikace	
IA	Nádor je omezen na 1 vaječník, pouzdro je intaktní, bez přítomnosti nádorových buněk v ascitu či laváži	IA	Nádor je omezen na 1 vaječník, pouzdro je intaktní, bez přítomnosti nádorových buněk v ascitu či laváži
IB	Nádor je na obou vaječnicích, pouzdro je intaktní, bez přítomnosti nádorových buněk v ascitu či laváži	IB	Nádor je na obou vaječnicích, pouzdro je intaktní, bez přítomnosti nádorových buněk v ascitu či laváži
IC	Nádor omezen na jeden a/nebo oba vaječníc(y), s porušením pouzdra	IC	Nádor omezen na jeden a/nebo oba vaječníc(y)

a/nebo maligními buňkami v laváži nebo v ascitu	IC1	Peroperační ruptura pouzdra ovaria
	IC2	Ruptura pouzdra před operací nebo nádor na povrchu ovaria nebo vejcovodu
	IC3	Maligní buňky přítomny v ascitu nebo v laváži

Stadium II - nádor postihuje jeden a/nebo oba vaječníky se šířením v pánvi			
Stará klasifikace		Nová klasifikace	
IIA	Šíření na dělohu a/nebo vejcovody	IIA	Šíření na dělohu a/nebo vejcovody
IIB	Šíření na jiné pánevní orgány	IIB	Šíření na jiné pánevní orgány
IIC	Šíření na pánevní orgány, přítomny maligní buňky v laváži nebo v ascitu	Stadium IIC bylo zrušeno.	

Stadium III - nádor postihuje jeden a/nebo oba vaječníky s peritoneálními metastázami extrapelvicky a/nebo pozitivní spádové uzliny			
Stará klasifikace		Nová klasifikace	
IIIA	Mikroskopické peritoneální extrapelvické metastázy	IIIA	Mikroskopické peritoneální extrapelvické metastázy a/nebo pozitivní retroperitoneální lymfatické uzliny
		IIIA1	Pozitivní retroperitoneální lymfatické uzliny
			IIIA1(i) Metastázy ≤ 10 mm
			IIIA1(ii) Metastázy > 10 mm
IIIA2	Mikroskopické peritoneální extrapelvické metastázy ± pozitivní retroperitoneální lymfatické uzliny		
IIIB	Makroskopické peritoneální extrapelvické metastázy < 2 cm	IIIB	Makroskopické peritoneální extrapelvické metastázy < 2 cm

			± pozitivní retroperitoneální lymfatické uzliny, včetně šíření na pouzdro jater/sleziny
IIIC	Makroskopické peritoneální extrapelvické metastázy > 2 cm a/nebo pozitivní spádové uzliny	IIIC	Makroskopické peritoneální extrapelvické metastázy > 2 cm ± pozitivní retroperitoneální lymfatické uzliny, včetně šíření na pouzdro jater/sleziny

Stadium IV - přítomnost vzdálených metastáz			
Stará klasifikace		Nová klasifikace	
IV	Přítomnost vzdálených metastáz	IVA	Postižení pleury s pozitivní cytologií
		IVB	Metastázy v parenchymu jater a/nebo sleziny, metastázy do extraabdominálních orgánů (včetně inguinálních nebo extraabdominálních lymfatických uzlin)

Kromě těchto změn byla publikována také následující doporučení:

U stagingu by měl být uveden histologický typ nádoru včetně jeho gradingu.

Nádory, které jsou omezeny jen na vaječníky (stadium I), ale byly zavzaty do pevných adhezí s histologicky prokázanými nádorovými buňkami, hodnotíme jako stadium II.

1.1.11. Léčba

1.1.11.1. Primární léčba

Léčba je založena na chirurgickém odstranění tumoru a chemoterapii. Cílem operačního výkonu je histopatologická diagnostika, staging onemocnění a odstranění všech suspektních ložisek. Před operačním výkonem máme často jen podezření na maligní nádor,

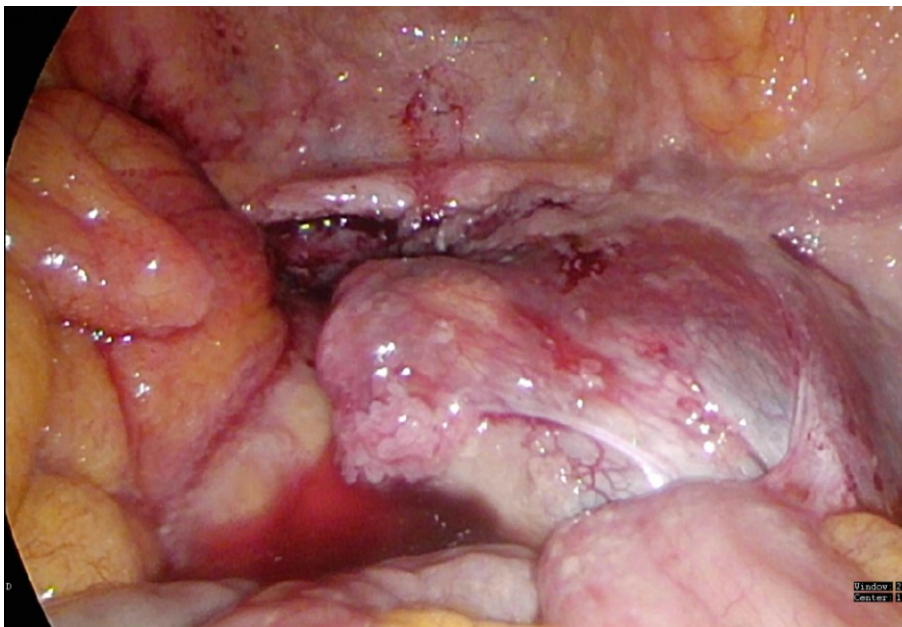
ale odběr materiálu na histologické vyšetření bývá proveden peroperačně. Proto by při podezření na maligní nádor měla být operace provedena na pracovišti s možností peroperačního histologického zpracování. Operační stagingový výkon zahrnuje dolní střední laparotomii s rozšířením nad pupek, laváž nebo odběr ascitu, brániční stěry, biopsii všech suspektních ložisek a odebrání cílených biopsií, hysterektomii s oboustrannou adnexektomií, totální omentektomii, apendektomii, systematickou pánevní a paraaortální lymfadenektomii. Důležité je odstranění všech suspektních ložisek. Studie prokázaly, že docílení nulového reziduálního tumoru je spojeno s delším celkovým přežitím [49]. Reziduální tumor je hodnocen podle ložiska s největším průměrem. Vzhledem k náročnosti výkonu (např. resekční výkony na gastrointestinálním traktu, stripping a resekce bránice, splenektomie, resekce jater, atd.) je vhodná centralizovaná péče v onkogynekologických centrech.

Jako adjuvantní chemoterapie je intravenózně aplikována kombinace derivátů platiny (především karboplatina, eventuálně cisplatina) s taxany (paklitaxel nebo docetaxel). U časných stadií (stadium I a II), kde byl proveden kompletní stagingový chirurgický výkon, je podle studie ICON1 [50] vhodné zvážení chemoterapie u pacientek s nálezem clear cell karcinomu, karcinomu grade 3, grade 2 - 3 u stadia IB a u stadia IC. Podle českých guidelines z roku 2013 je u časných stadií s nízkým rizikem (stádia IA, IB: G1, G2 nebo stádia IIA, IIB: G1, G2 a stádia IC, IIC: G1) indikováno tři až šest cyklů chemoterapie.

U pokročilých stadií je indikováno šest až devět cyklů adjuvantní chemoterapie. Je diskutováno, kdy je optimální čas začít s podáváním chemoterapie. Obecně je snaha aplikovat chemoterapii co nejdříve po cytoredukčním výkonu. Tomuto tématu se věnovalo několik studií s rozdílným výsledkem [51-53]. V roce 2013 byla publikována prospektivní studie [54] zahrnující 3326 žen. Podle této studie je opožděný začátek podávání chemoterapie po primární operaci (po více než 19 dnech) spojen s časnějším relapsem onemocnění a kratším celkovým přežitím.

Je-li nález inoperabilní, není vhodné zatěžovat pacientku probatorní laparotomií. Po získání vzorku na histologické zpracování je indikována neoadjuvantní chemoterapie (NACT). Aplikují se tři až čtyři cykly dvojkombinace karboplatiny a paklitaxelu. Poté následuje opětovné zhodnocení operability nálezu. Došlo-li k regresi nádoru, je indikována tzv. intervalová operace (IDS – interval debulking surgery) [55]. Součástí operačního výkonu pak není systematická pánevní a paraaortální lymfadenektomie, ale měla by být

snaha o maximální cytoredukční výkon. Není-li po třech cyklech neoadjuvantní chemoterapie nález operabilní, pacientka pokračuje ve třech až šesti cyklech chemoterapie.



Obrázek 4 – Karcinom ovarií v laparoskopickém obraze: tumorózní postižení levostranných adnex, metastatický rozsev na tenkých kličkách a nástěnném peritoneu, ascites, četné adheze. Mnohočetné postižení tenkých kliček je limitem provedení primární radikální operace. Pacientka indikována k NACT.

1.1.11.2. Follow up a sekundární léčba

Po ukončení primární léčby je zhodnocen efekt léčby pomocí komplexního gynekologického vyšetření, hodnoty CA125 a USG vyšetření podle zvyklostí pracoviště. Při remisi onemocnění by mělo dojít k normalizaci CA125.

Je doporučováno několik přístupů sledování pacientek. Podle aktivního přístupu přichází pacientka na kontrolu první tři roky každé tři měsíce. Čtvrtý a pátý rok jsou kontrolovány po šesti měsících. Po pěti letech dispenzarizace jsou předány do péče obvodního gynekologa a kontroly probíhají jednou za rok. Při každé návštěvě je provedeno komplexní gynekologické vyšetření, odběr CA125 a sonografické vyšetření. Po 45. roku věku je indikována mamografie každé jeden až dva roky. Další vyšetření (např. PET-CT, CT, RTG plic, atd.) jsou provedena na základě symptomatologie. Možný je také symptomatický přístup, kdy kontroly zůstávají ve stejném intervalu, ale je provedeno

pouze komplexní gynekologické vyšetření se zaměřením na symptomy, nežádoucí účinky léčby a kvalitu života. Přístupy se také mohou kombinovat.

Bohužel u ovariálního karcinomu je recidiva poměrně častá. Podle intervalu od ukončení primární léčby (DFI - disease free interval) pacientky dělíme do tří skupin. U chemorezistentních patientek onemocnění progreduje nebo přetrvává i přes primární léčbu nebo dojde k recidivě onemocnění do šesti měsíců po ukončení primární léčby. Pacientky chemosenzitivní mají recidivu diagnostikovanou po více než dvanácti měsících. Jako „intermediate“ označujeme pacientky s recidivou po šesti až dvanácti měsících od skončení chemoterapie.

Recidiva může být diagnostikována pomocí zvýšené hodnoty CA125 nebo nálezu při gynekologickém vyšetření či zobrazovacími metodami. Otázkou zůstává, kdy začít recidivu léčit. Zda jen při nález elevace CA125, která může být o tři až čtyři měsíce dříve než klinické známky relapsu, nebo až při symptomatickém nález. Podle studie [56] zahájení podávání chemoterapie jen při elevaci CA125 nezlepšuje celkové přežití patientek a zhoršuje jejich kvalitu života. U většiny patientek je recidiva léčena chemoterapií. Sekundárním cyto redukčným výkonu (tzv. salvage operace) u platina-senzitivního ovariálního karcinomu se věnovala studie CALYPSO (Caelyx in Platinum Sensitive Ovarian Patients) [57]. Podle této studie sekundární operační výkon zlepšuje celkové přežití. (Pacientky léčené chemoterapií měly tříleté přežití 66%. Ve skupině patientek, které podstoupily sekundární cyto redukční výkon, bylo tříleté přežití 88 %). Benefit ze sekundární cyto redukce prokázali také další studie [58, 59]. Výsledek může být ovlivněn výběrem patientek, které měly dobré prognostické faktory. Odpovědi na otázky týkající se sekundárního cyto redukčního výkonu nám mohou přinést další studie např. GOG 213 (randomizovaná klinická studie podávání dvojkombinace karboplatiny a paklitaxelu nebo v kombinaci s bevacizumabem, s následným sekundárním cyto redukčním výkonem a aplikací bevacizumabu u platina-senzitivního rekurentního karcinomu ovaria, tuby a primárního peritoneálního karcinomu).

1.1.11.3. Biologická léčba

Biologickou léčbou nazýváme takový způsob léčby, který k odstranění nádorů využívá prvky a procesy imunitního systému zasaženého organismu. Obecně ji můžeme definovat jako podávání moderních léčivých přípravků specificky

cílených na buněčné a molekulární pochody, které jsou typické pro vznik a vývoj některých autoimunitních, zánětlivých a nádorových onemocnění [60]. V současné době nejužívanějším preparátem v biologické léčbě karcinomu ovaria je bevacizumab (Avastin), monoklonální protilátka proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru (anti-VEGF Ab). Bevacizumab inhibuje angiogenezi, a tím růst a šíření nádoru. Podle mezinárodní studie ICON7 [61, 62] pacientky ve stádiu III a IV s nulovým pooperačním reziduem profitují z přidání 12 cyklů bevacizumabu ke standardní dvojkombinaci chemoterapie karboplatina a paklitaxel. Bevacizumab zlepšil interval bez progresu (o dva měsíce) i celkové přežití (o osm měsíců) především u pacientek s negativními prognostickými faktory. Nevýhodou podávání bevacizumabu je cena a z nežádoucích účinků riziko perforace střev a tvorba fistul. Testovány jsou další antiangiogenní léky – pazopanib, cediranib a nintedanib.

Inhibitory poly(ADP-ribose)polymeráz - PARP inhibitory (olaparib - Lynparza) působí na nádorové buňky s BRCA mutacemi a snižují schopnost opravy DNA. Byla publikována data ohledně pozitivního přínosu aplikace PARP inhibitorů v kombinaci se standardní chemoterapií u platina–senzitivního ovariálního karcinomu [63] i v monoterapii u platina-rezistentního onemocnění. Výhodou je perorální podání [64]. PARP inhibitory jsou slibným počátkem cílené terapie karcinomu ovaria u BRCA pozitivních pacientek.

1.2. Nádorové kmenové buňky

1.2.1. Přehled současné problematiky

V současné době je věnována velká pozornost nádorovým kmenovým buňkám (CSCs – Cancer Stem Cells). Nádorové kmenové buňky jsou také nazývané tumor inicující buňky (TICs - Tumor Initiating Cells) nebo karcinom inicující kmenové buňky (cancer initiating stem cells - CICs), kmenovým buňkám podobné buňky (stem-cell-like cells), nebo terapii rezistentní buňky (therapy-resistant cells - TRCs).

Nádorové kmenové buňky by se mohly podílet na růstu nádoru, metastazování a vzniku chemorezistence. Nádorové kmenové buňky jsou subpopulací buněk s typickými vlastnostmi kmenových buněk – to je schopností neomezené sebeobnovy, pluripotence a diferenciací v různé buněčné typy, dále schopností propagace tumoru in vivo a expresí povrchových markerů [65]. U nádorových kmenových buněk bylo v experimentech prokázáno, že jsou zodpovědné za angioinvazi a rezistenci na chemoterapii [66]. Pokud bychom byli schopni detekovat tuto subpopulaci buněk, mohli bychom najít cesty k cílené terapii.

Hypotéza nádorových kmenových buněk byla poprvé vyslovena na konci osmdesátých let minulého století. První nádorové kmenové buňky byly prokázány u akutní myeloidní leukemie, kdy jediná buňka podána do myšího modelu dala vznik leukemie [11]. Od té doby byly CSCs detekovány i u dalších maligních tumorů.

Důležitým nálezem byl průkaz somatických kmenových buněk v ovariálním povrchovém epitelu [67] a ve vejcovodu [68]. Ve vejcovodu byl signifikantní rozdíl v expresi znaků spojených s kmenovými buňkami na proximálním a distálním konci – ve shodě se vznikem serózního karcinomu v distální části vejcovodu [69]. Nádorové buňky se pravděpodobně vyvíjejí transformací ze somatických kmenových buněk nebo z buněk, které byly původně diferencované, dediferencovaly se a získaly schopnosti somatických kmenových buněk [70].

Tento proces, při kterém dochází ke ztrátě epiteliální diferenciací a ke změně na mesenchymální fenotyp, se nazývá epitel–mezenchymální transmise (EMT) [71]. EMT byla zjištěna při vývoji z diferencovaných buněk na kmenové [72]. EMT zvyšuje motilitu a schopnost invazivity u mnoha buněčných typů a je předpokládána u nádorové

infiltrace a metastazování [73]. EMT je charakterizována zvýšením exprese mezenchymálních markerů (vimentin, thrombospondin, N – cadherin, vitronectin), dále zvýšením exprese složek extracelulární matrix (colagen IV, fibronectin) a snížením exprese epiteliálních matrix (E-cadherin, occludin, desmoplakin a mucin 1). Kromě těchto změn dochází ke změně polohy transkripčních faktorů (β -katenin, apod.) a aktivaci kináz (ERK1, ERK2). Také je mnoho příkladů ukazujících změnu fenotypu mesenchymálních buněk k fenotypu epiteliálních buněk – mesenchymo-epiteliální transmise, MET [74].

Teorie nádorových kmenových buněk by mohla vysvětlit, proč je karcinom ovaria nesourodé onemocnění s různými histologickými typy. Dále by mohla objasnit, proč u chemosenzitivního karcinomu dochází při vzniku recidivy k chemorezistenci. Podle Zhou et al. [75] jak somatické, tak nádorové kmenové buňky zvýšeně exprimují ABC transportní proteiny (ATP-binding cassette). Takové buňky jsou schopné vyloučit některé látky z buňky.

1.2.2. Identifikace nádorových kmenových buněk

Identifikovat nádorové kmenové buňky není jednoduché, neboť se v nádorové tkáni vyskytují jen ve velmi malém počtu. Na povrchu buněčných membrán bylo zjištěno několik znaků typických pro CSCs. Obvykle jsou detekovány pomocí imunohistochemie, popřípadě průtokovou cytometrií. Další možností je kultivace buněk za určitých specifických podmínek. Také byly nádorové buňky izolovány, a poté transplantovány do myšího modelu, ve kterém se vytvořil tumor se znaky nádorových kmenových buněk.

Mezi povrchové znaky, které exprimují nádorové/somatické kmenové buňky, patří CD133 (Cluster of Differentiation 133), nebo-li prominem-1. Identifikace není jednoduchá, protože se může vyskytovat v různých izoformách. Přesně nevíme, jakou má tento transmembránový protein funkci [76]. Pravděpodobně hraje roli při tvorbě výběžků povrchové membrány, které jsou důležité pro pohyb buněk ve tkáni. V naší pilotní studii ale vzorky zkoumané protilátkou proti povrchovému antigenu CD133 nebylo možné hodnotit pro nízkou reakci protilátka - antigen [77].

CD117 je receptor pro tyrosinkinázu. CD117 zahajuje velké množství signálních transdukci, které ovlivňují buněčné přežití, migraci a proliferaci [78].

CD24 je důležitý pro adhezi nádorových buněk na endotelie. Expres CD24 byla prokázána na různých nádorových buňkách [79].

1.2.3. CD44

Mezi hlavní povrchové znaky nádorových kmenových buněk patří CD44, transmembránová adhezivní molekula typu I. Jedná se o glykoprotein s rozsáhlou glykosylací s vazbou přes kyslík a 6 potenciálními glykosylačními místy s vazbou přes dusík. Část N-koncové domény CD44 vykazuje homologii s částí proteoglykanového jádra chrupavky a vazebnými proteiny. CD44 je povrchový receptor buněk především pro kyselinu hyaluronovou (HA), což svědčí pro jeho možnou úlohu při regulaci interakcí buněk, interakcí buněk se substrátem a migrace buněk [80]. Kyselina hyaluronová je hlavní komponenta extracelulární matrix mnoha maligních tkání, je syntetizován specifickými HA syntetázami. Byla zjištěna její zvýšená koncentrace v maligních tkáních oproti benigním [81, 82]. Gen pro CD44 je lokalizován na krátkém raménku 11. chromozomu a skládá se ze 20 exonů. Na prostředních deseti exonech (exon šest až patnáct) se děje tzv. splicing neboli alternativní sestřihání genetické informace. Poté dochází k posttranslační modifikaci pre-messengerové RNA (kyselina ribonukleová). Exony 16, 17 a 18 jsou konstantní a exony 19 a 20 jsou opět variantní. Tím dochází ke vzniku mnoha variantních izoform o molekulární hmotnosti 85 – 250 kDa (kiloDalton), i když ne všechny jsou exprimované [83]. Standardní forma (CD44s) je nejmenší molekula o 85 - 95 kDa. Také bývá označována jako hematopoetická (CD44H), protože je přítomna na buňkách krvetvorného systému, především na monocytech, granulocytech, erytrocytech, B buňkách a zralých T buňkách. Jedná se o nejběžnější formu. Izoformy exonů osm až deset (CD44v8-10) jsou exprimovány hlavně na epiteliálních buňkách kůže, orgánů gastrointestinálního traktu, močového měchýře, hrdla děložního, dále ve žlazovém epitelu pankreatu, prsních žláz, štítné žlázy, atd. Ostatní izoformy byly detekovány také na fibroblastech, keratinocytech, na buňkách kosterních svalů a na buňkách bílé hmoty v centrální nervové soustavě. CD44 není jen receptorem kyseliny hyaluronové, ale také dalších složek jak mezibuněčné hmoty, např. kolagenu, fibronektinu, lamininu, chondroitin sulfátu, tak jiných látek např. serglycinu, osteopontinu.

CD44 je důležitý pro interakci buněk s mezibuněčnou hmotou a mezibuněčné interakce. Dále má vliv na migraci buněk, návrat aktivovaných lymfocytů do lymfatických uzlin, prezentaci chemokinů, cytokinů a růstových faktorů odpovídajícím receptorům.

Ovlivňuje také buněčnou proliferaci, diferenciaci, angiogenezi a apoptózu [84, 85]. Všechny tyto děje jsou důležité jak pro fyziologické funkce buněk, tak pro maligní proces.

Bylo prokázáno, že CD44 a kyselina hyaluronová jsou zvýšeně exprimovány v nádorové tkáni. Vazba kyseliny hyaluronové na CD44 stimuluje různé specifické funkce buněk. Všechna tato zjištění podporují myšlenku, že vazba CD44 na kyselinu hyaluronovou je velmi důležitá pro progresi tumoru [86, 87].

2. CÍL PRÁCE

Hypotéza studie

Nádorové kmenové buňky jsou subpopulací nádorových buněk, která zodpovídá za metastazování tumoru, recidivu onemocnění a vznik chemorezistence. CSCs lze detekovat pomocí povrchových znaků imunohistochemicky. Důležitým povrchovým znakem CSCs je CD44 (standardní forma). Předpokládáme, že CD44(s) by mohl být vhodným prognostickým markerem tumoru a možným markerem vzniku chemorezistence.

Byly stanoveny následující cíle:

1. Vytvořit reprezentativní soubory vzorků primárního karcinomu ovaria a vzorků metastáz těchto tumorů, s odpovídajícím follow-up pacientek.
2. Ověřit na daném souboru zavedené prognostické faktory (věk, stadium onemocnění, histologický typ, stupeň diferenciacce, pooperační nádorové reziduum) pro interval bez nemoci (DFI – disease-free interval) a celkové přežití (OS – overall survival).
3. Zhodnotit expresi CD44 v primárním tumoru a v metastázách a zhodnotit její vzájemnou závislost v obou tkáních.
4. Zhodnotit vztah exprese CD44 k zavedeným prognostickým faktorům.
5. Zhodnotit expresi CD44 a její vztah k celkovému přežití, intervalu bez nemoci a chemorezistenci. Pomocí statistických analýz najít vhodnou hranici positivity CD44 pro prognózu OS, DFI a vzniku chemorezistence. Zhodnotit přínos metody pro praxi.

3. METODIKA

3.1. Soubor pacientek

Do studie bylo zařazeno 87 pacientek s histologicky potvrzeným karcinomem ovaria. U všech pacientek byl testován vzorek primárního karcinomu, u 48 pacientek byl testován také vzorek implantačních metastáz převážně z omenta. Do studie byly zařazeny všechny pacientky, které splňovaly daná kritéria – histologicky verifikovaný karcinom ovaria, follow-up více než pět let a dostupné histologické vzorky. Vzorky byly retrospektivně vyhledány z let 2004 až 2007. Follow-up pacientek bylo hodnoceno k datu 1.3.2015.

Pacientky byly v době diagnózy ve věkovém rozmezí od 32 do 87 let. Průměrný věk byl 55 let, nejčastěji byl karcinom diagnostikován ve věku 69 let.

Studie zahrnovala 65 vzorků serózního karcinomu ovaria (40 metastáz serózního karcinomu), tři vzorky mucinózního karcinomu, 14 vzorků endometroidního karcinomu ovaria (šest metastáz), dva vzorky světlebuněčného karcinomu a tři vzorky nespádají do těchto kategorií (dvě metastázy). V době stanovení diagnózy se pro serózní papilární karcinom používal třístupňový grading. Pacientky byly převážně stadia III dle FIGO (40 vzorků), dále stadia IV (19 vzorků), II (10 vzorků), I (18 vzorků). U jedné pacientky nebylo možné určit stadium onemocnění. Retrospektivně byla dohledána data. U 78 pacientek byla primární léčba operační, devět pacientek podstoupilo neoadjuvantní chemoterapii. Vzorky byly odebrány před začátkem neoadjuvantní chemoterapie.

37 pacientek podstoupilo radikální operační léčbu s nulovým nádorovým postoperačním reziduem. Dále bylo hodnoceno reziduum tumoru po výkonu - sedm pacientek mělo nádorové reziduum do jednoho centimetru v největším rozměru, šest pacientek jeden až dva centimetry. U 37 pacientek bylo nádorové reziduum větší než dva centimetry. Recidiva byla diagnostikována u 41 pacientek. Platina-rezistentní onemocnění bylo hodnoceno jako perzistence, progresse onemocnění nebo vznik recidivy do šesti měsíců po ukončení základní léčby (25 pacientek). Ve skupině intermediate byla recidiva diagnostikována od šesti do dvanácti měsíců po ukončení základní léčby (deset pacientek). Jako platina-senzitivní karcinom bylo hodnoceno, pokud se recidiva objevila nejdříve po 12 měsících od ukončení základní léčby (21 pacientek) nebo k recidivě nedošlo. Interval bez nemoci (DFI) byl počítán od ukončení základní léčby do relapsu onemocnění, celkové přežití bylo počítáno od data stanovení diagnózy onemocnění do úmrtí pacienta. Pětileté

přežití bylo 36,8 % (32 pacientek), tříleté přežití 49,4 % (43 pacientek). Medián přežití byl 35,5 měsíce, s minimem dva měsíce a maximem 142 měsíců (sledováno do 3/2015).

3.2. Imunohistochemie

Imunohistochemie byla provedena v laboratoři Šiklova patologicko–anatomického ústavu Fakultní nemocnice v Plzni. Byly vyhledány parafinové bločky, následně nakrájeny na řezy o síle 5 μm . Poté proběhla deparafinizace v xylenu a rehydratace v sestupné etanolové řadě 100% - 70%. K obnovení antigenicity byl použit odmaskovací roztok Dako Target Retrieval Solution, kód S 1700. Poté byly vzorky obarveny podle obecného postupu na ruční IHC/TL monoklonální myšší protilátkou proti CD44, typ IgG1, kappa (Monoclonal Mouse Anti-Human CD44, Phagocytic Glycoprotein-1, Clone DF1485, 1 ml, Code M7082, DAKO, Glostrup, Denmark).

Pozitivní kontrola

Jako kontrola kvality obarvení sloužily makrofágy, na kterých také probíhá reakce antigen - protilátka.

Hodnocení reakce

Reakce protilátka - antigen protilátek proti CD44 probíhá především na povrchové membráně buňky. Reakce byla hodnocena patologem v procentech pozitivních buněk na jedno zorné pole při zvětšení 200 krát.

3.3. Statistické hodnocení

Statistická analýza byla provedena s užitím software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Pro zjištění závislostí zkoumaných znaků, vzhledem k negausovskému rozdělení těchto proměnných, byl použit Spearmanův koeficient korelace a vybrané vztahy byly popsány pomocí lineární regrese (užitím tzv. metody nejmenších čtverců). Optimální cut-off zkoumaných markerů jsme hledali pomocí specifity a senzitivity. Tyto vztahy byly graficky vyjádřeny pomocí tzv. ROC křivek.

Analýza celkového přežití a interval bez nemoci byla provedena pomocí Kaplanových - Meierových křivek přežití, rozdíl mezi zkoumanými skupinami byl testován pomocí tzv.

Log-Rank testu a Wilcoxonova testu. Vliv jednotlivých faktorů na přežití byl dále testován pomocí Coxova regresního modelu a bylo spočteno riziko vzniku události (tzv. Hazard Ratio). Pomocí Coxova regresního modelu jsme hledali optimální cut-off zkoumaných faktorů ve vztahu k celkovému přežití/přežití bez recidivy onemocnění. Jednotlivé faktory byly pomocí Coxova regresního modelu testovány jednak univariálně, dále bylo vždy spočteno několik multivariálních modelů. Výsledky multivariální analýzy byly graficky zpracovány také do podoby tzv. regresních a korelačních stromů (tzv. CART). Statistická významnost byla stanovena na hranici $\alpha = 5\%$.

3.4. Vymezení pojmů

Celkové přežití (overall survival – OS): doba (v měsících) od primární operační léčby do poslední známé kontroly či úmrtí

Přežití bez recidivy (disease-free interval – DFI): doba (v měsících) od ukončení primární léčby (operační výkon a první linie adjuvantní chemoterapie) do zjištění recidivy či do poslední známé kontroly.

4. VÝSLEDKY

4.1. Klinicko – patologická charakteristika souboru

Tabulka 3. Klinicko-patologická charakteristika souboru

		Vzorek primární nádorové tkáně (počet pacientek, procentuální zastoupení v souboru)	Vzorek metastatické tkáně (počet pacientek, procentuální zastoupení v souboru)
Histologický typ	Papilární serózní	65 - 74.7%	40 – 83.3%
	Mucinózní	3 – 3.4%	0 – 0%
	Endometroidní	14 – 16.1%	6 - 12.5%
	Clear cell	2 – 2.3%	0 – 0%
	Jiný typ	3 – 3.4%	2 – 4.2%
FIGO stadium	I	18 – 20.1%	0 – 0%
	II	10 – 11.5%	3 – 6.25%
	III	40 – 46%	31 – 64.6%
	IV	19 – 21.8%	14 – 29.2%
Grade	I	12 – 13.8%	5 – 10.4%
	II	31 – 35.6%	15 – 31.3%
	III	44 – 50.1%	28 – 58.3%
Primární léčba	Operační	78 – 90%	39 – 81.3%
	NACHT	9 – 10.3%	9 – 18.8%
Postoperační nádorové reziduum	0	37 – 42.5%	10 – 20.8%
	< 1 cm	7 – 8%	5 – 10.4%
	1 - 2 cm	6 – 6.9%	6 – 12.5%
	> 2 cm	37 – 42.5%	27 – 56.3%
Chemoterapie	Carboplatina + Paklitaxel	73 – 83.9%	40 – 83.3%
	Carboplatina v monoterapii	6 – 6.9%	5 – 10.4%
	Jiná	8 – 9.2%	3 – 6.3%

Odpověď na chemoterapii	Chemorezistentní	25 – 28.7%	13 – 27.1%
	Skupina intermediate	10 – 11.5%	5 – 10.4%
	Chemosenzitivní	45 – 51.7%	30 – 62.5%

Věk v době diagnózy: průměrný věk 55 let

medián 63 let (32 - 87 let)

Pětileté přežití: 32 pacientek (36,8%)

Tříleté přežití: 43 pacientek (49,4%)

Medián přežití: 35,5 měsíce (dva měsíce až 142 měsíců - sledováno do 3/2015)

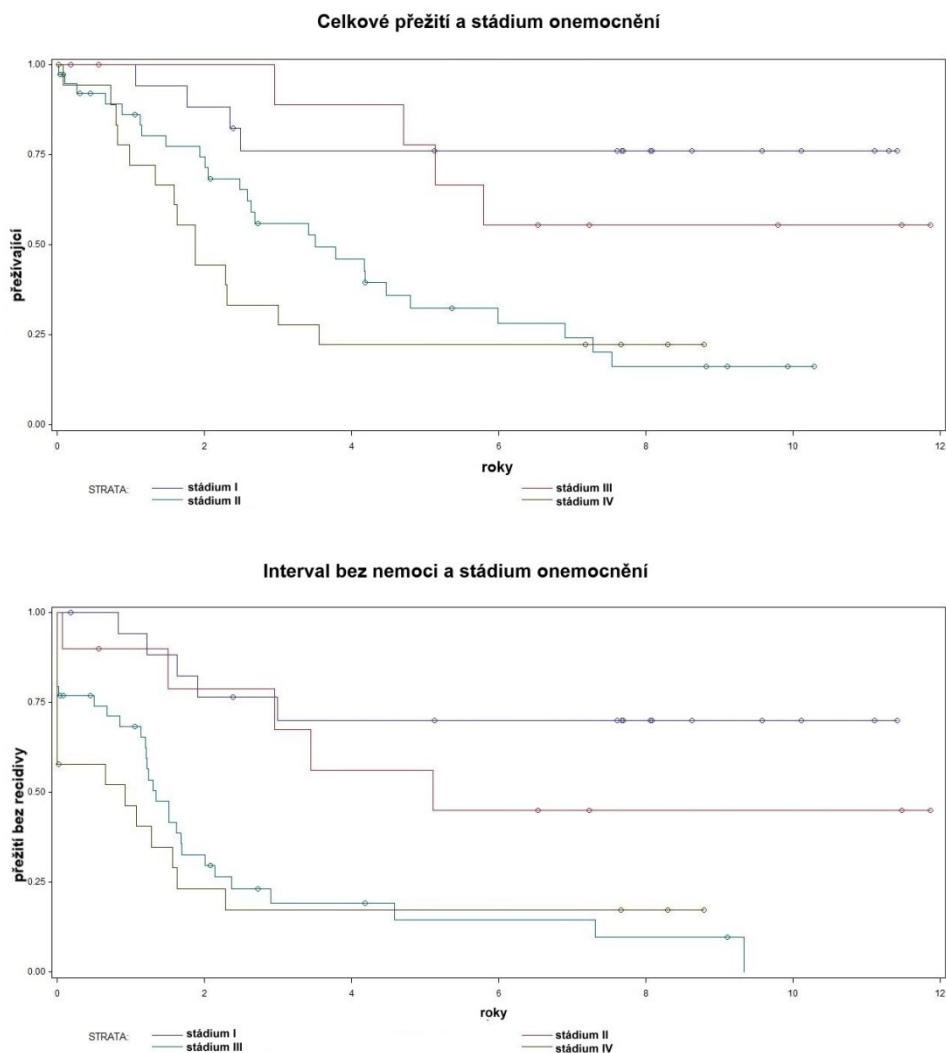
CA125: průměrná hodnota 1251 IU/ml

medián 500 IU/ml (9,4 – 12860 IU/ml)

4.2. Hodnocení celkového přežití a intervalu bez nemoci na jednotlivých prognostických faktorech.

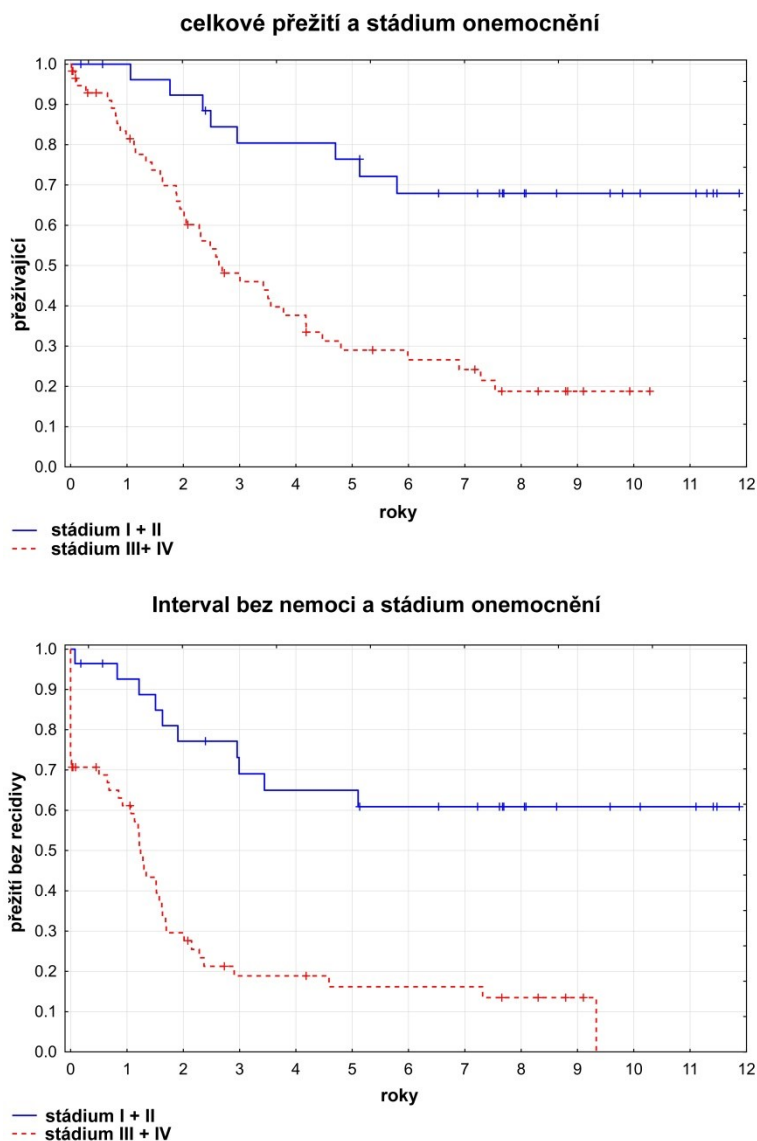
4.2.1. Stádium onemocnění

Stádium onemocnění bylo statisticky významným prognostickým faktorem pro OS i DFI. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými stadii (Log-Rank test $p = 0,0006$, Wilcoxonův test $p = 0,006$) pro OS a pro DFI (Log-Rank test < 0.0001 , Wilcoxonův test < 0.0001) (obr. 5).



Obrázek 5 – Jednotlivá stádia onemocnění a celkové přežití (nahore) a interval bez nemoci (dole).

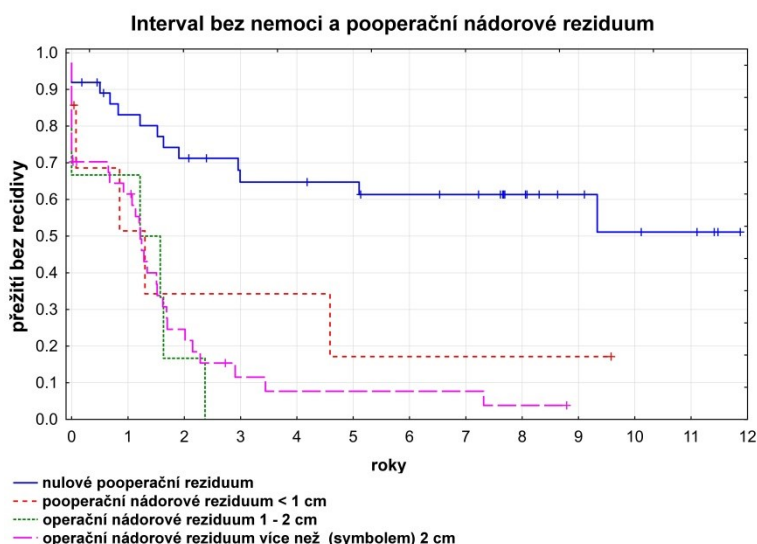
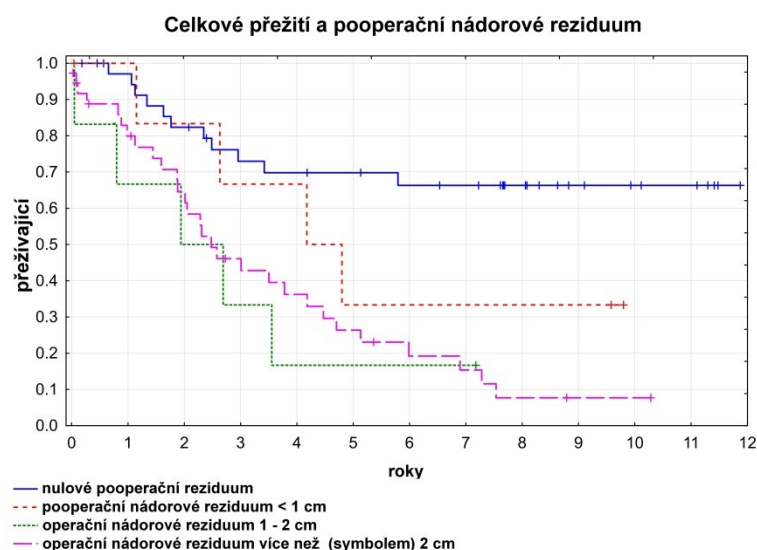
Při srovnání stadia I a II proti III a IV pro celkové přežití byl výsledek statisticky významný pro OS (Log-Rank test $< 0,0001$) i DFI (Log-Rank test $< 0,0001$).



Obrázek 6 – Graf časných a pozdních stádií k celkovému přežití (nahore) a intervalu bez nemoci (dole).

4.2.2. Pooperační nádorové reziduum

Srovnávali jsme skupinu s nulovým pooperačním reziduem a se skupinou s reziduem do jednoho centimetru v největším průměru, dále skupinu s reziduem jeden až dva centimetry a s pooperační reziduem nad dva centimetry v největším průměru.

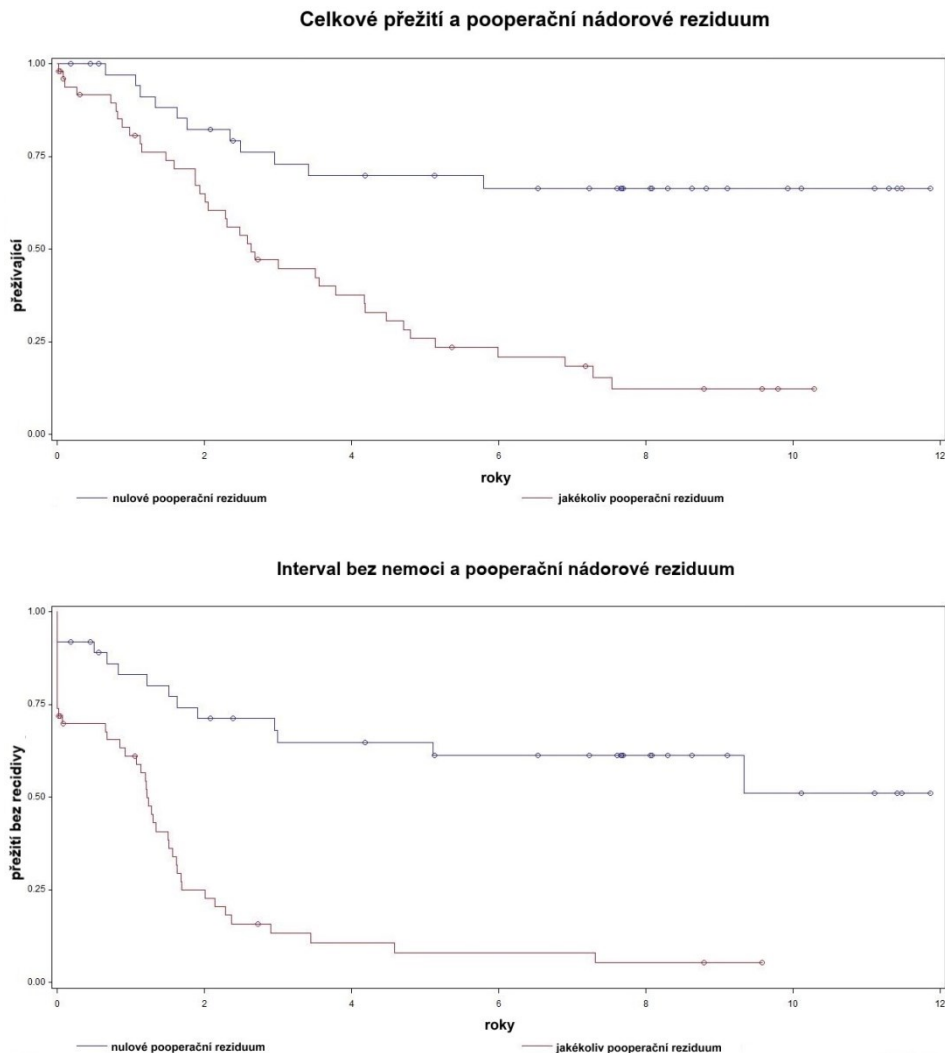


Obrázek 7 – Grafy závislosti pooperačního nádorového rezidua a celkového přežití (nahore) a intervalu bez nemoci (dole).

Bylo prokázáno pooperační nádorové reziduum jako statisticky signifikantní prognostický faktor pro celkové přežití i interval bez nemoci. Byly zjištěny statisticky signifikantní rozdíly mezi jednotlivými skupinami – nulové pooperační reziduum, reziduum do jednoho centimetru v největším průměru, dále reziduum jeden až dva centimetry a pooperační reziduum nad dva centimetry v největším průměru (Log-Rank test OS $p = 0,0001$, DFI $p < 0,0001$).

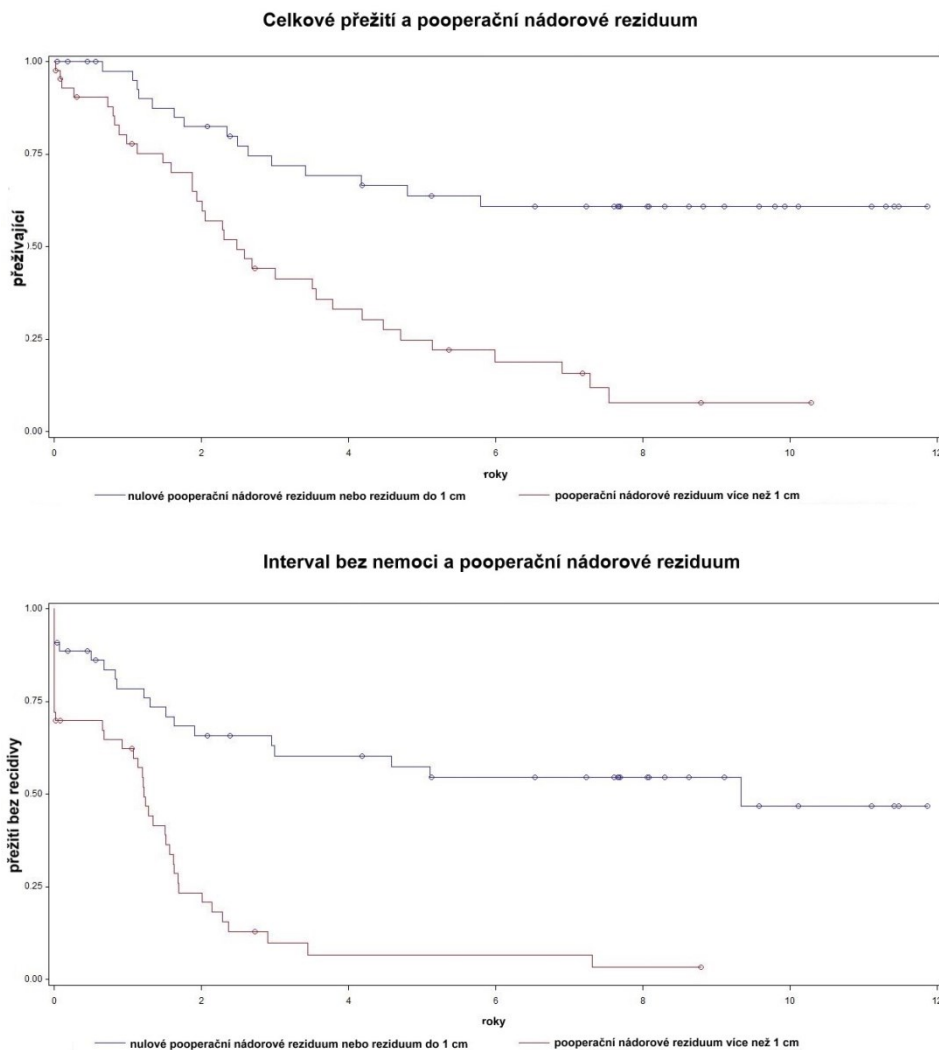
Dále jsme srovnávali nulové pooperační reziduum a jakékoli nádorové reziduum pro celkové přežití (Log-Rank test $p < 0,0001$). Podle Coxova regresního modelu mají

pacientky s nádorovým pooperačním reziduem čtyřikrát vyšší riziko úmrtí a 4,7 krát vyšší riziko vzniku recidivy než pacientky bez nádorového rezidua.



Obrázek 8 - Grafy závislosti pooperačního nádorového rezidua (nulové pooperační reziduum a jakékoliv reziduum) a celkového přežití (nahore) a intervalu bez nemoci (dole).

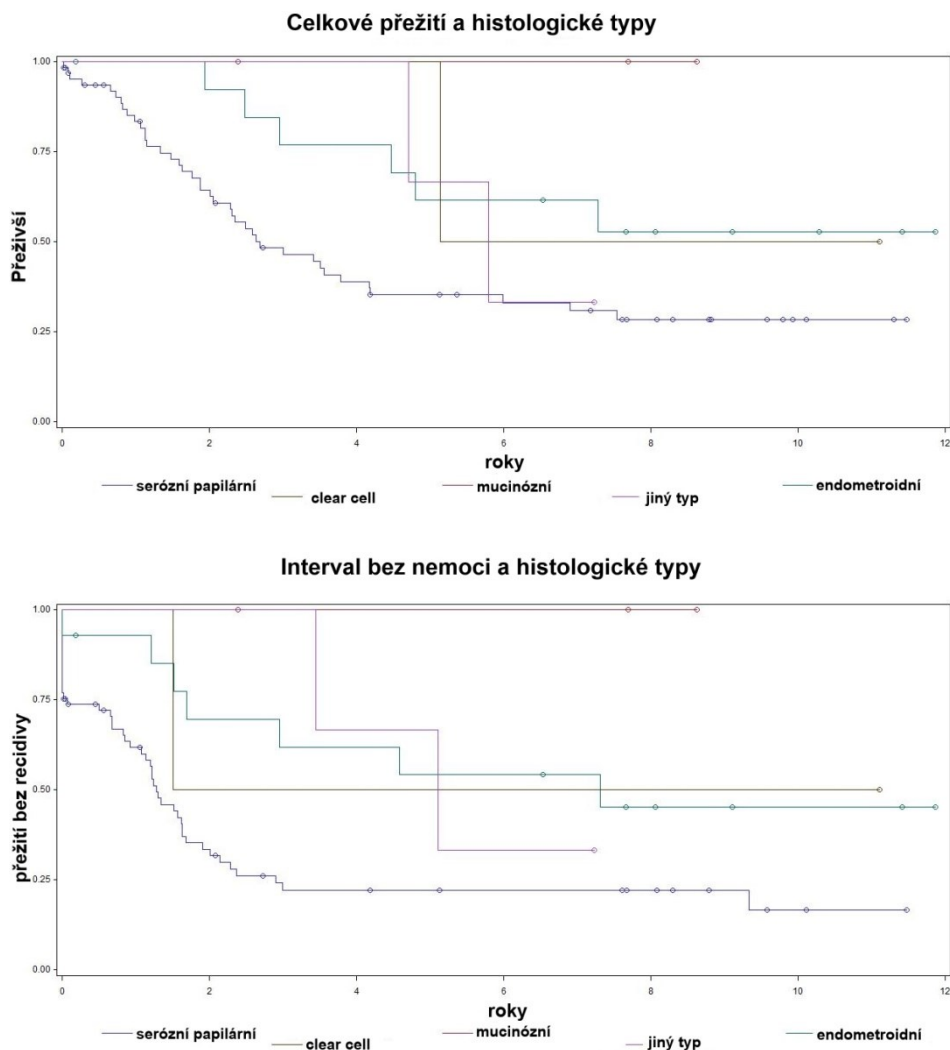
Také jsme srovnávali skupinu s nulovým pooperačním reziduem a s reziduem do jednoho centimetru v největším rozměru proti skupině s pooperačním nádorovým reziduem větším než jeden centimetr v největším rozměru vzhledem k celkovému přežití (Log-Rank test $p < 0,0001$) a intervalu bez nemoci (Log-Rank test $p < 0,0001$). Podle Coxova regresního modelu mají pacientky s nádorovým pooperačním reziduem nad jeden centimetr největším rozměru 3,7 krát vyšší riziko úmrtí a 4,1 krát vyšší riziko vzniku recidivy.



Obrázek 9 - Grafy závislosti pooperačního nádorového rezidua (pooperační nádorové reziduum do 1 cm a nad 1 cm) a celkového přežití (nahore) a intervalu bez nemoci (dole).

Při srovnání skupiny s nulovým pooperačním reziduem nebo reziduem do dvou centimetrů v největším rozměru proti skupině s pooperačním nádorovým reziduem větším než dva centimetry v největším rozměru vzhledem k celkovému přežití i intervalu bez nemoci byl zjištěn statisticky významný rozdíl (Log-Rank test $p < 0,0001$ pro OS i DFI). Podle Coxova regresního modelu mají pacientky s nádorovým pooperačním reziduem nad jeden centimetr největším rozměru třikrát vyšší riziko úmrtí a 3,1 krát vyšší riziko recidivy.

4.2.3. Histologický typ nádoru

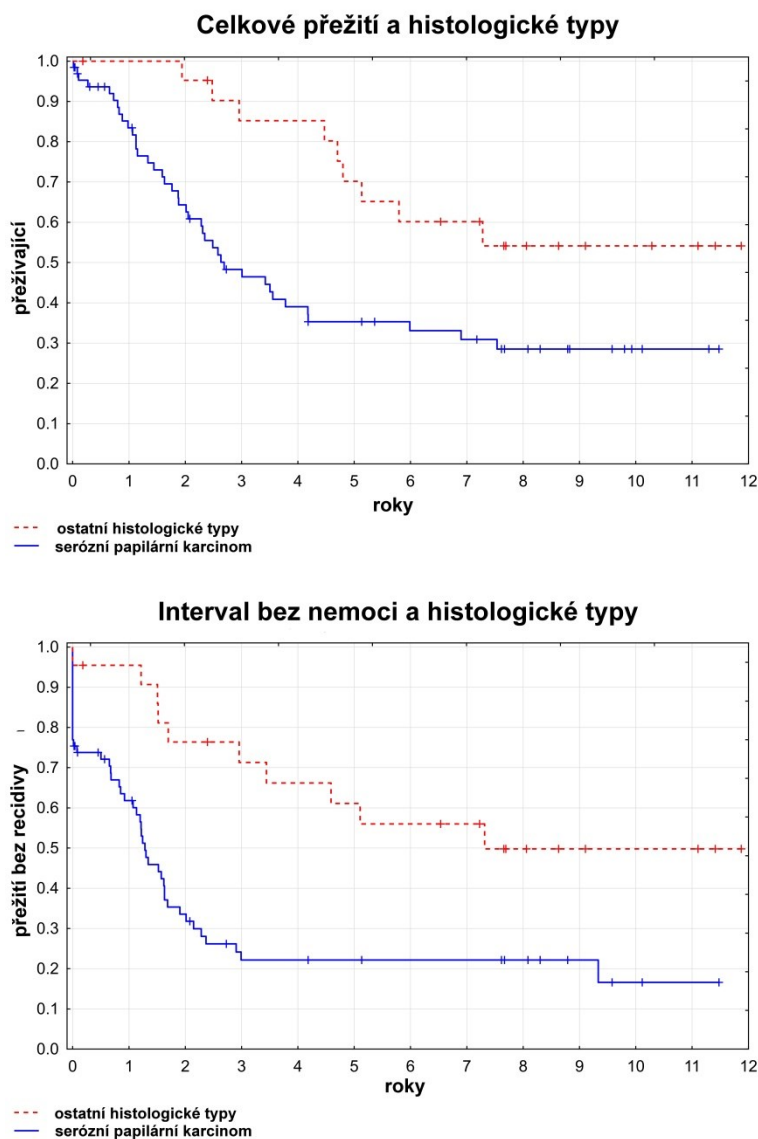


Obrázek 10 - Grafy závislosti histologických typů a celkového přežití (nahore) a intervalu bez nemoci (dole).

Nejprve byl hledán statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými histologickými typy pro celkové přežití a interval bez nemoci. Statisticky významný rozdíl pro celkové přežití nalezen nebyl (Long-Rank test $p = 0,0954$ pro OS), ale byl nalezen pro interval bez nemoci (Long-Rank test $p = 0,0237$ pro DFI).

Pokud jsme však srovnávali serózní papilární karcinom proti ostatním histologickým typům pro celkové přežití a interval bez nemoci, byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($p = 0,0079$ pro OS, $p = 0,0013$ pro DFI Long-Rank test). Patientky se serózním papilárním karcinomem mají podle Coxova regresního modelu 2,6 krát vyšší

riziko úmrtí a 2,9 krát vyšší riziko vzniku recidivy než pacientky s jinými typy ovariálního karcinomu. (Serózní papilární karcinom tvoří 75% vzorků primárního tumoru a 83% vzorků metastatické tkáně.)



Obrázek 11 - Grafy závislosti histologických typů (serózní papilární a ostatní histologické typy) a celkového přežití (nahore) a intervalu bez nemoci (dole).

4.2.4. Grade

Dalším prognostickým faktorem, který jsme ověřovali, byl grading tumoru. Při srovnání jednotlivých stupňů diferenciacie pro celkové přežití a interval bez nemoci nebyl nalezen statisticky signifikantní rozdíl ($p = 0,1450$ pro OS, $p = 0,2349$ pro DFI). Statisticky

významné nebylo ani srovnání skupiny grade 1 a 2 proti skupině grade 3 pro celkové přežití a pro interval bez nemoci ($p = 0,5862$ pro OS, $p = 0,5420$ pro DFI).

4.2.5. Věk

Byla hledána statisticky významná věková hranice pro celkové přežití a interval bez nemoci pomocí Kaplanových–Meierových křivek přežití, dále byl použit Wilcoxonův test a Log rank test. Bohužel statisticky významná věková hranice nalezena nebyla.

4.2.6. Neoadjuvantní chemoterapie versus primární operační léčba

Dále jsme hodnotili, zda byl statisticky významný rozdíl pro celkové přežití a interval bez nemoci mezi skupinou patientek, která nejprve absolvovala neoadjuvantní chemoterapii a následně intervalovou operaci a skupinou patientek léčenou primární operační léčbou s následnou adjuvantní chemoterapií. Statisticky významný rozdíl zjištěn nebyl ($p = 0,6876$ pro OS, $p = 0,4688$ pro DFI).

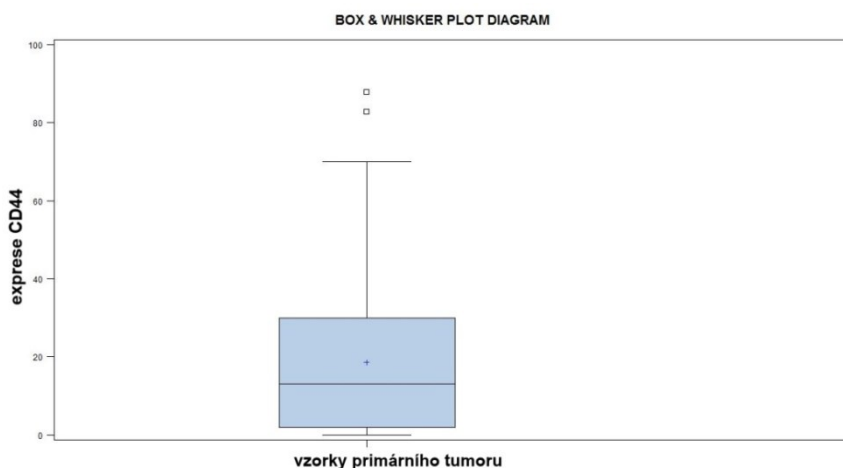
4.2.7. CA125

Dalším sledovaným parametrem je CA125. V rámci hodnoceného souboru nebyla nalezena hodnota, která by byla statisticky významná pro OS a DFI.

4.3. Hodnocení exprese CD44 v primárním tumoru a v metastázách a její vzájemné závislosti v obou tkáních.

Expresce CD44 v primárním nádoru (% pozitivních buněk na jedno zorné pole při zvětšení 200 krát)

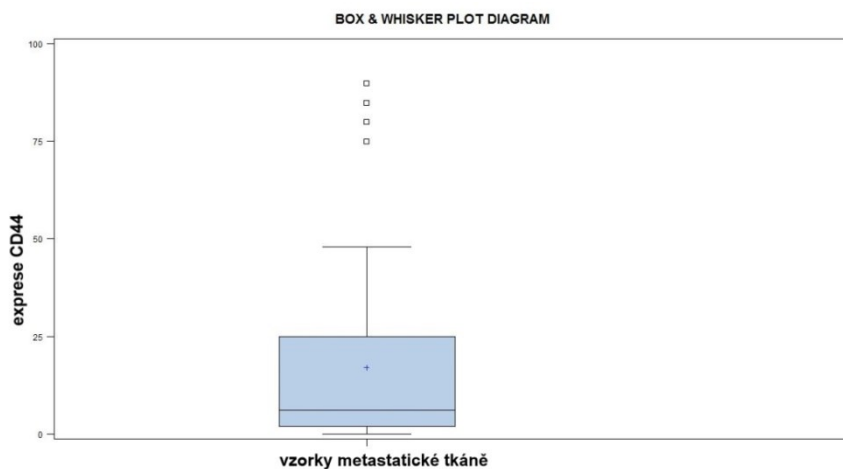
Průměr: 18,7 %
Medián: 13 % (0 – 85 %)



Obrázek 12 – Rozložení hodnot exprese CD44 v primárním tumoru (%).

Expresce CD44 v metastatické tkáni (% pozitivních buněk na jedno zorné pole při zvětšení 200 krát)

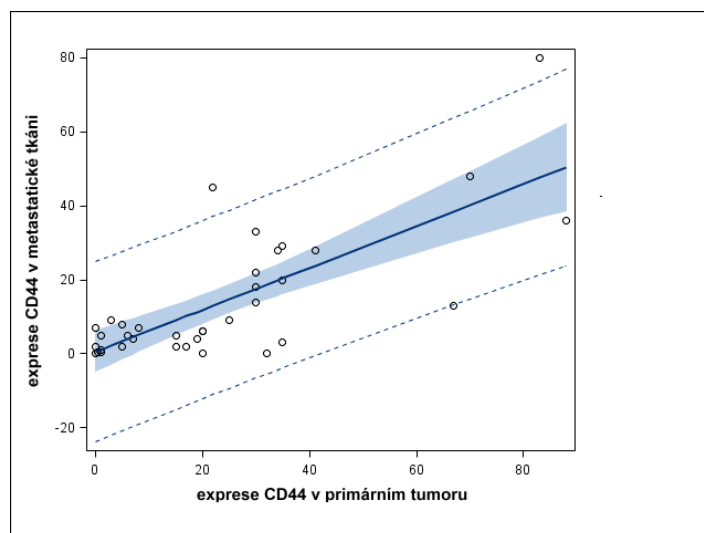
Průměr: 17 %
Medián: 6 % (0 – 90 %)



Obrázek 13 – Rozložení hodnot exprese CD44 ve vzorcích metastatické tkáně (%).

Závislost exprese CD44 v primárním tumoru a v metastatické tkáni

Pomocí lineární regrese a Spearmanova korelačního koeficientu byla zjištěna statisticky významná ($p = 0,0001$) středně silná pozitivní korelace (Spearmanův korelační koeficient 0.59973).

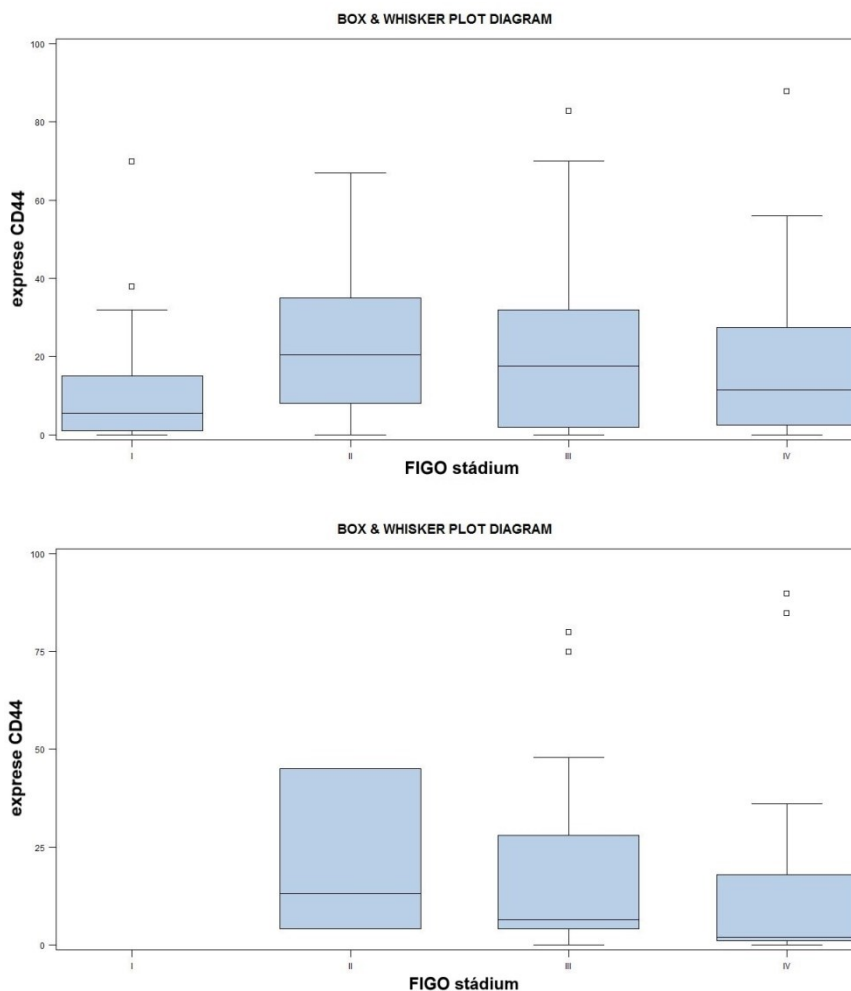


Obrázek 14 – Závislost exprese CD44 v primárním tumoru a v metastatické tkáni (lineární regrese).

4.4. Hodnocení vztahu exprese CD44 k zavedeným prognostickým faktorům.

4.4.1. Stádium

Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými stádii onemocnění a expresí CD44 v primárním tumoru ($p = 0,4014$ Kruskal – Wallis test) ani v metastatické tkáni ($p = 0,4466$ Kruskal – Wallis test). Statisticky významný rozdíl nebyl zjištěn ani mezi časnými (I a II) a pozdními stádii (III a IV) pro primární tumor ani pro metastatickou tkáň (Wilcoxonův test $p = 0,6092$ pro primární tumor, $p = 0,4625$ pro metastatickou tkáň).

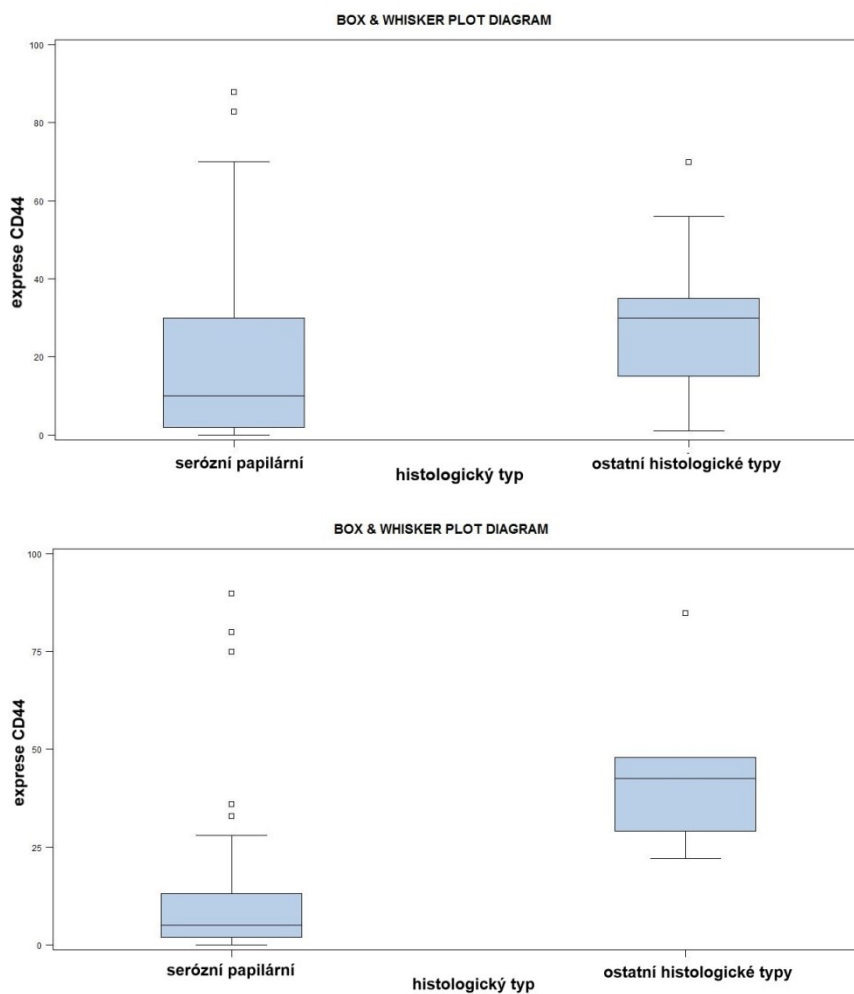


Obrázek 15 - Rozvržení exprese CD44 v primárním tumoru (nahore) a v metastatické tkáni (dole) podle jednotlivých stádií onemocnění dle FIGO.

4.4.2. Pooperační nádorové reziduum

Nebyla nalezena statisticky významná korelace mezi nulovým pooperačním reziduem, jednotlivými skupinami s pooperačním nádorovým reziduem (do jednoho centimetru v největším průměru, jeden až dva centimetry a nad dva centimetry) a expresí CD44 v primárním tumoru ($p = 0,1833$) ani v metastatické tkáni ($0,4880$).

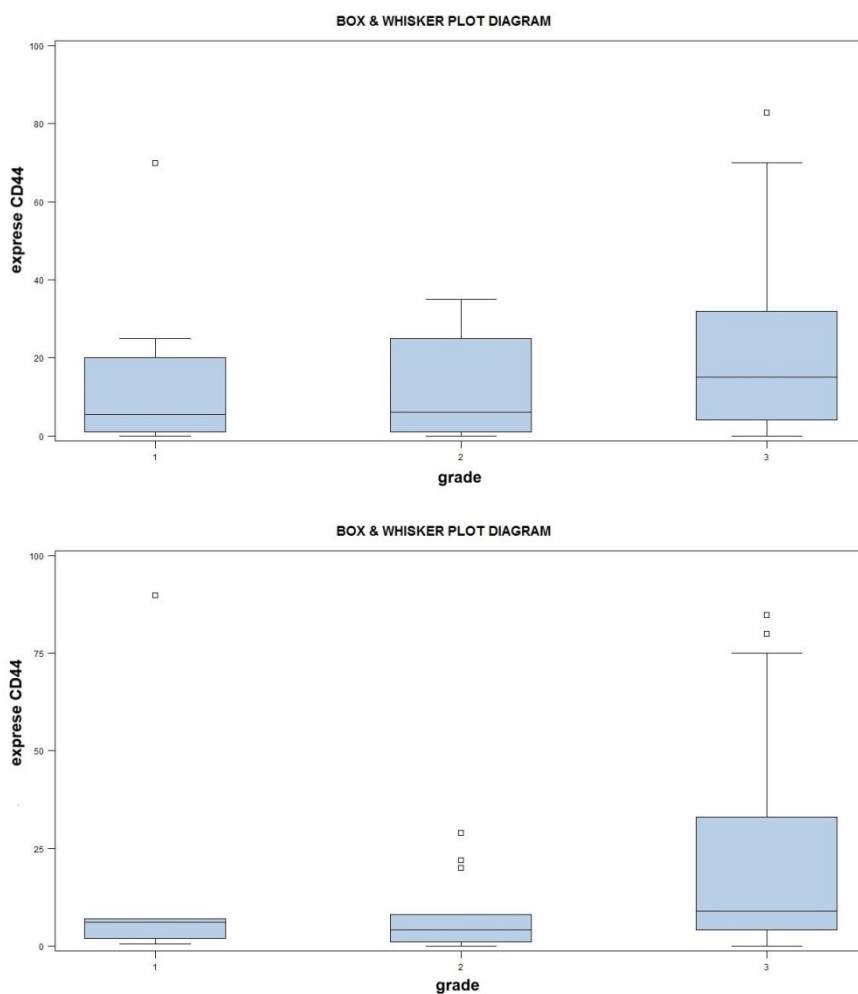
4.4.3. Histologický typ nádoru



Obrázek 16 - Rozvržení exprese CD44 v primárním tumoru (nahore) a v metastatické tkáni (dole) podle histologických typů (papilární serózní karcinom a ostatní histologické typy).

Pomocí Wilcoxonova testu byla zjištěna hraničně statisticky významná korelace serózního papilárního histologického typu a exprese CD44 v primárním tumoru ($p = 0,0493$). Exprese CD44 v metastatické tkáni statisticky významně korelovala se serózním papilárním karcinomem ($p = 0,0024$).

4.4.4. Grade



Obrázek 17 - Rozvržení exprese CD44 v primárním tumoru (nahore) a v metastatické tkáni (dole) podle jednotlivých stupňů diferenciaci.

Statisticky významná korelace mezi jednotlivými stupni diferenciaci a CD44 v primárním tumoru nebyla prokázána (Kruskall – Wallis test $p = 0,1481$). Při hodnocení skupiny zahrnující grade 1 a 2 se skupinou grade 3 byla zjištěna statisticky hraničně nevýznamná korelace s expresí CD44 v primárním tumoru ($p = 0,0516$). Korelace exprese

CD44 v metastatické tkáni a gradingem není statisticky signifikantní ($p = 0,1246$ Kruskal–Walis test). Při hodnocení exprese CD44 v metastatické tkáni a skupinám s grade 1 + 2 a grade 3 je korelace statisticky hraničně nevýznamná ($p = 0,0612$ Wilcoxonův test).

4.4.5. CA125

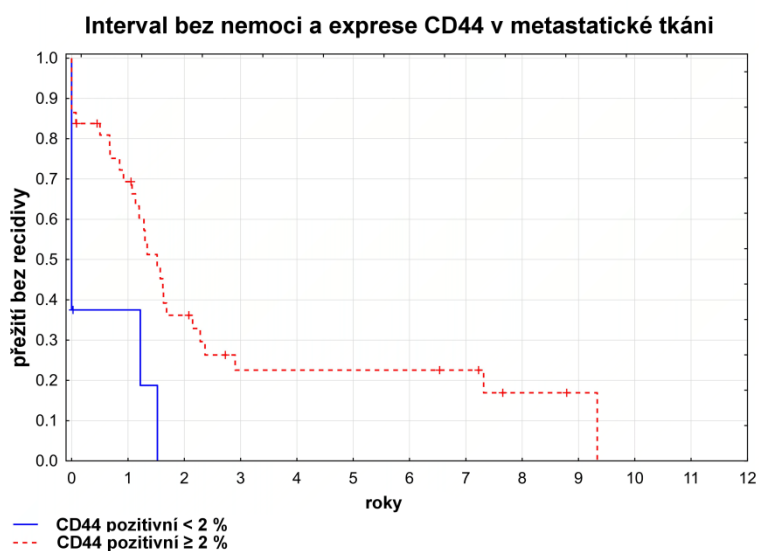
Nebyla nalezena statisticky významná korelace mezi hodnotami CA125 a expresí CD44 v primární tumoru ($p = 0,2756$) ani v metastatické tkáni ($0,2769$).

4.5. Hodnocení exprese CD44 a její vztah k celkovému přežití, intervalu bez nemoci a chemorezistenci.

Nebyla nalezena statisticky významná hranice exprese CD44 v primárním tumoru ani v metastatické tkáni pro celkové přežití.

Pro interval bez nemoci nebyla zjištěna statisticky významná hranice exprese CD44 v primárním tumoru.

Expresí CD44 v metastatické tkáni pod 2 % je hodnocena jako statisticky signifikantní pro interval bez nemoci ($p = 0,0029$ Log-Rank test). Podle multivariačního Coxova regresního modelu mají pacientky expresí CD44 pod 2% 3,2 krát vyšší riziko vzniku recidivy ($p = 0,0099$).



Obrázek 18 - Expresí CD44 v metastatické tkáni pod 2 % je hodnocena jako statisticky signifikantní pro interval bez nemoci.

4.5.1. Multivariační analýza

Byla provedena multivariační analýza pro celkové přežití a interval bez nemoci. Pro OS byly do multivariační analýzy zahrnuty statisticky signifikantní prognostické faktory (stádium onemocnění, pooperační nádorové reziduum a histologický typ). Stejně prognostické faktory a exprese CD44 v metastatické tkáni byly zavzaty do multivariační analýzy pro DFI.

Stádium onemocnění ($p = 0,0018$ pro OS, $p = 0,0025$ pro DFI) a pooperační nádorové reziduum ($p = 0,0046$, $p = 0,0032$ pro DFI) byly statisticky signifikantní pro OS a DFI. Ostatní parametry statisticky signifikantní nebyly

5. DISKUSE

Za nejvýznamnější prognostické faktory karcinomu ovaria se považuje stádium onemocnění, pooperační nádorové reziduum a histologický typ karcinomu [5, 88]. V současné době jsou hledány další prognostické faktory a cesty k cílené terapii nádoru, neboť celkové přežití se za poslední dekádu příliš nezměnilo. A to přesto, že se zvyšuje radikalita chirurgické léčby a k podávání chemoterapie byla přidána i biologická léčba (bevacizumab).

Exprese CD44 jako marker nádorových kmenových buněk by mohl být slibným prognostickým faktorem a sloužit k cílené terapii nádoru [89].

V první části studie jsme zkoumali závislost mezi celkovým přežitím, intervalem bez nemoci a klasickými prognostickými faktory. Z prognostických faktorů tumoru jsme hodnotili stádium onemocnění, histologický typ tumoru, grade tumoru. Dalším zkoumaným faktorem bylo pooperační nádorové reziduum, hodnota CA125 a věk pacientky. Také nás zajímal vztah celkového přežití a intervalu bez nemoci s primární operační léčbou a neoadjuvantní chemoterapií s následnou operační léčbou.

V prezentované studii jsme potvrdili jako důležitý prognostický faktor stádium onemocnění. Hladina statistické významnosti podle Log-Rank testu byla pro celkové přežití 0,0006 a pro interval bez nemoci 0,0001. To je v souladu s výsledky v literatuře. V roce 2014 byla mortalita pro stádium I a II v České republice 1,81/100 000 žen (mortalita/incidence 0,44), pro stádium III a IV 10,79/100 000 žen (mortalita/incidence 0,92) (<http://www.svod.cz/analyse.php?modul=incmor#>). V naší studii bylo pětileté přežití pro stádia I a II 67 %, ale pro stádium III jen 23% a pro stádium IV jen 21 %. Celkové přežití pro všechna stádia bylo 36,8 %. Podle Garcíi et al. [3] je pětileté přežití pro všechna stádia kolem 42 %, pro stadium III 35 % a pro stadium IV jen 22 % [2].

Dalším zkoumaným prognostickým faktorem bylo pooperační nádorové reziduum. Prokázali jsme statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými skupinami – nulové pooperační reziduum, reziduum do jednoho centimetru v největším průměru, dále reziduum jeden až dva centimetry a pooperační reziduum nad dva centimetry v největším průměru (Log-Rank test OS $p = 0,0001$, DFI $p < 0,0001$). Dříve se jako optimální debulking nazývalo pooperační nádorové reziduum pod jeden centimetr v největším průměru. Chi et al. v roce 2001 [90] publikovali studii, ve které bylo zahrnuto 282 pacientek s pokročilým ovariálním karcinomem. Jako hlavní prognostický faktor bylo

zjištěno pooperační nádorové reziduum do jednoho centimetru. Tyto výsledky potvrdila také metaanalýza v roce 2002 [91]. S tím, jak se zlepšují operační techniky, anesteziologická péče a pooperační péče jsou chirurgické výkony čím dál tím rozsáhlejší, aby bylo možné dosáhnout nulového nádorového rezidua. V současné době se za optimální debulking považuje nulové reziduum. Nulové reziduum jako důležitý prognostický faktor pro stádium IV potvrdil Winter et al. [92] v retrospektivní studii zahrnující 360 pacientek ve stádiu IV. Také další studie rozsáhlá studie (3126 pacientek) potvrdila nulové pooperační reziduum i reziduum do jednoho centimetru jako prognostický faktor [49].

Významným prognostickým faktorem je také histologický typ tumoru. Potvrdili jsme jako negativní prognostický faktor serózní papilární ovariální karcinom ($p = 0,0079$ pro OS, $p = 0,0013$ pro DFI Long-Rank test). V době diagnózy a histologického zpracování se serózní papilární karcinom nedělil do kategorií high-grade a low-grade, ale užíval se třístupňový gradingový systém. Nezařazovali se karcinomy do skupin typ I a typ II. Nicméně, do skupiny typ I patří low-grade serózní karcinom, endometroidní, mucinozní, světlebuněčný karcinom a maligní Brennerův nádor. K typu II řadíme high-grade serózní karcinom, nediferencovaný karcinom a karcinosarkom. Nádory typu I mají lepší prognózu než nádory typu II [12, 88]. Vzhledem k tomu, že low-grade serózní karcinom se vyskytuje jen cca v pěti procentech všech ovariálních karcinomů [93], můžeme v dané studii hodnotit serózní histologický typ a ostatní histologické typy. Tím se náš výsledek shoduje s výsledky v literatuře. Nicméně ne všechny studie potvrzují histologický typ jako prognostický faktor. Podle Wintera [23] u clear-cell a mucinózního karcinomu bylo signifikantně kratší DFI i OS než u serózního karcinomu. Podle Chi et al. [90] není histologický typ tumoru prognostickým faktorem.

Dalším prognostickým faktorem, který jsme ověřovali, byl grading tumoru. Při srovnání jednotlivých stupňů diferenciace pro celkové přežití a pro interval bez nemoci nebyl nalezen statisticky signifikantní rozdíl. Výsledek koresponduje s výsledky jiných studií, podle kterých není grading tumoru prognostickým faktorem [23, 94]. Podle Vergote et al. [95] je prognostickým faktorem u stádia I, ale karcinom vaječníku ve stádiu I je diagnostikován ne příliš často.

Mezi sledované parametry jako možné prognostické faktory byl zařazen věk. Věk není v prezentované studii statisticky signifikantním prognostickým faktorem. Zde se výsledky v literatuře různí. Podle studie z roku 2003 [96] byl věk nad 65 let negativním prognostickým faktorem.

Nádorový marker CA125 je využíván pro diferenciální diagnostiku origa nádorového onemocnění. Vhodné je také sledování vývoje jeho hladin v rámci follow-up pacientek. Pozitivní hodnota je podle laboratoře ve Fakultní nemocnici v Plzni nad 35 IU/ml, ale v jiných laboratořích se může referenční hodnota mírně lišit. Pacientky ve studii měly v době stanovení diagnózy většinou vysoké hodnoty a marker CA125 nebyl shledán jako prognostický faktor. To je v souladu s jinými studii [90, 96, 97].

Můžeme tedy shrnout, že výsledky statistické analýzy zavedených prognostických faktorů odpovídají výsledkům z literatury.

Zabývali jsme se také otázkou, zda je statisticky signifikantní rozdíl mezi primární operační léčbou a neoadjuvantní chemoterapií následovanou cytoredukční léčbou vzhledem k celkovému přežití a intervalu bez nemoci. Tato otázka je často diskutována [55, 98, 99]. Podle konsenzu z konference GCIG 2010 (Gynecologic Cancer InterGroup) je odložená primární chirurgická léčba po neoadjuvantní chemoterapii metodou volby pro vybrané pacientky ve stádiu IIIC nebo IV [100]. Podle Sehouli et al. [101] je nutné, aby odložená operační léčba byla jen pro malou skupinu vybraných pacientek s pokročilým stádiem onemocnění nebo s kontraindikacemi operační léčby, u kterých není možnost kompletní resekce. Operační léčba by měla být indikována po třech cyklech chemoterapie [102]. Podle našich výsledků nebyl statisticky signifikantní rozdíl mezi primární operační léčbou a neoadjuvantní chemoterapií s intervalovou operací. Intervalová operace byla provedena po třech cyklech chemoterapie.

CD44 je zkoumán jako prognostický faktor mnoha nádorů. V naší studii jsme zvolili k detekci exprese CD44 imunohistochemii, která je nejběžnější a nejlevnější metodou detekce. Jedná se technicky o relativně jednoduchou metodu. Problémem pro srovnání výsledků může být použití různých protilátek a není dáno, jak hodnotit pozitivitu. Zhang et al. [103] hodnotili pozitivitu semikvantitativně (žádná pozitivita exprese CD44, pozitivita do pěti procent buněk, 5 – 25%, 26 – 50 % a pozitivita nad 50 % buněk). Pro statistické zpracování rozdělili vzorky do skupiny negativní (žádná pozitivita) a pozitivní (jakákoliv pozitivita). Pylvas-Eerola [104] zařadil vzorky do kategorií CD44 negativní (pozitivita pod pět procent buněk), slabě pozitivní (5 – 50 % buněk) a silně pozitivní (nad 50 % buněk). V naší studii byla pozitivita buněk hodnocena procentuálně na jedno zorné pole při zvětšení 200 krát.

Nejprve jsme hodnotili vzájemnou korelaci mezi expresí CD44 v primárním tumoru a v metastatické tkáni. Hodnoty exprese spolu vzájemně pozitivně korelují. Ve

shodě s naším výsledkem byla publikována studie od Gao et al. [105], ale v jiné studii [106] korelace potvrzena nebyla. Někteří autoři [107] uvádějí hypotézu, že „kmenové“ geny nemusejí být zcela stejné, či mohou být jinak vyjádřené u primárního tumoru a u metastáz. Proto by mohl být jiný expresní profil u metastáz.

Při zkoumání závislosti exprese CD44 na zavedených prognostických faktorech jsme prokázali statisticky signifikantní korelaci se serózním papilárním karcinomem a nízkou expresí CD44 v primární i v metastatické tkáni. S ostatními prognostickými faktory jsme statisticky signifikantní korelaci neprokázali. Ve studii od Zhanga [103] korelovala pozitivita CD44 s pokročilým stádiem onemocnění a dediferenciací tumoru. Sillanpää [108] publikovala ve studii zahrnující 307 pacientek odlišné výsledky. Podle jejích výsledků exprese CD44 asociovala s dobře diferencovaným mucinózním karcinomem a s časným stádiem onemocnění. Podobné výsledky prokázala další práce, podle které CD44 pozitivita koreluje s onemocněním ve stádiu I, s dobře diferencovaným tumorem a horším přežitím bez progresu [109].

Hlavním cílem studie bylo zjistit, zda CD44 jako marker nádorových kmenových buněk by mohl sloužit jako prognostický faktor karcinomu vaječníku. V naší prezentované studii nebyla nalezena statisticky významná hranice exprese CD44 v primárním tumoru ani v metastatické tkáni pro celkové přežití. Pro DFI nebyla zjištěna statisticky významná hranice exprese CD44 v primárním tumoru, ale nízká hodnota v metastázách statisticky signifikantní byla. Podle našich výsledků nízká exprese CD44 v metastatické tkáni byla spojena s vyšším rizikem vzniku recidivy a s chemorezistencí. Bonneau [110] zkoumal expresi CD44 před a po podání chemoterapie. Pokles exprese po podání chemoterapie byl spojen s horším celkovým přežitím. Rozdílné výsledky přinesla studie od Pylvas-Eerola [104], podle ní je zvýšená exprese spojena s chemorezistencí. Podobně v jiné studii [111] exprese CD44 přispívá k chemorezistenci u papilárního serózního karcinomu v pokročilém stádiu, ale není nezávislým prediktivním faktorem vzniku recidivy. Rozdílné výsledky jsou shrnuty v přehledu od Sackse a Barboliny [112].

Domníváme se, že důvodem rozdílných výsledků hodnocení významu exprese CD44 pro prognózu karcinomu vaječníku mohou být různé metody detekce, různé protilátky v případě užití imunohistochemie a také rozdílné hodnocení positivity. Problémy s sebou nese i histologická heterogenita nádoru. Někteří autoři testovali izofomy CD44v3~10 [113-117]. Také jejich práce přinášejí rozporuplné výsledky. Vysvětlením

může být, že CD44 není jediný faktor podílející se na vzniku chemorezistence [33, 110] a vzniku recidivy.

Role CD44 v progresi a metastazování ovariálního karcinomu zůstává nejasná. V současné době není vhodné rutinní stanovení CD44 jako prognostického faktoru. Je nutné další zkoumání CD44, jeho molekulární podstaty, funkce a izoform.

6. ZÁVĚR

Studie splnila dané cíle:

1. Byl sestaven reprezentativní soubor vzorků 87 pacientek s histologicky potvrzeným karcinomem ovaria. U všech pacientek byl testován vzorek primárního karcinomu, u 48 pacientek byl testován také vzorek implantačních metastáz.

2. Nejvýznamnějším prognostickým faktorem pro celkové přežití a pro interval bez nemoci bylo stádium onemocnění, pooperační nádorové reziduum a histologický typ nádoru.

3. Exprese CD44 v primárním tumoru a v metastázách spolu vzájemně statisticky významně pozitivně korelovala.

4. Byla prokázána statisticky významná korelace exprese CD44 v primárním tumoru i v metastatické tkáni s histologickým typem nádoru. S ostatními prognostickými faktory korelace nalezena nebyla.

5. Statisticky významná závislost exprese CD44 v primárním tumoru a v metastázách na celkovém přežití nalezena nebyla. V univariační analýze byla nalezena statisticky signifikantní korelace exprese CD44 při cut-off 2% v metastatické tkáni s kratším intervalem bez nemoci a chemorezistencí. V multivariační analýze nebyla prokázána závislost celkového přežití ani intervalu bez nemoci na expresi CD44 v primárním tumoru a v metastázách.

Podle našich výsledků není metoda imunohistochemického stanovení exprese CD44 jako markeru nádorových kmenových buněk karcinomu vaječníku přínosem ke klinické praxi. Je zapotřebí dalších studií k objasnění možnosti detekce nádorových kmenových buněk a jejich role u ovariálního karcinomu.

6.1. Summary

Biological behavior of ovarian carcinoma and its relation to therapy

The aim of our study

1. To recruit a group of patients with histologically verified epithelial ovarian carcinoma.
2. To evaluate prognostic significance of established prognostic factors in our series of patients.
3. To assess the CD44 expression in specimens of primary tumors and s implantation metastasis using immunohistochemistry methods and analyze their correlation.
4. To evaluate the expression of CD44 in relation to known prognostic factors.
5. To analyze the significance of CD44 expression evaluation for overall survival, disease-free interval and chemoresistance. To find CD44 positivity cut-off by using statistical methods.

Introduction

At present, great attention is given to cancer stem cells (CSCs) hypothesis. CSCs could contribute to tumor growth, metastasis formation and chemoresistance. CSCs are subpopulations of cells with typical characteristics of stem cells – i.e. the ability to self-replicate and differentiate in a variety of cell types.

Several characteristics typical for CSCs were found at the cell membrane surface. The main surface markers include CD44 (Cluster of Differentiation 44), a transmembrane adhesion molecule type I. CD44 is a cell surface receptor for hyaluronate, which suggests a possible role in regulating the interaction of cells, the interaction of cells with the substrate and cell migration. CD44 was detected in a standard form (CD44s), and also in its variant isoforms [118].

Studies of CD44 expressions still provide conflicting results. According to any studies expression of the standard form of CD44 correlates with advanced stage of disease and dedifferentiation of the tumor. Other studies did not show the same results.

Materials and methods

A retrospective study was performed on 87 patients with histologically verified EOC. All patients were tested for primary tumor specimens, 48 of them were tested with regard to both specimens of primary tumor and implantation metastasis.

The CD44 expression was detected by immunohistochemistry. The antibody - antigen reaction was evaluated by a pathologist as a percentage of positive cells per single high-power field. We looked for the CD44 expression positivity limit using the Cox regression model. Results of study were studied by methods of univariate and multivariate analysis.

Results

Firstly, established prognostic factors of clinical outcome were evaluated. We confirmed statistically significant prognostic factors for OS and DFI - stage of the disease (I, II x III, IV $p = 0.0002$ for OS, 0.0001 for DFI), postoperative residual tumor ($p = 0.0003$ for OS, $p = 0.0001$ for DFI), and papillary serous histological type ($p = 0.0079$ for OS, 0.0013 for DFI). Other factors were not statistically significant. A positive correlation between expression CD44 in primary tumor and in metastasis was found ($p = 0.001$, Spearman correlation coefficient 0.59973).

Then we analyzed CD44 expression in tumor and metastatic cells and acknowledged prognostic factors. A significant correlation between serous papillary carcinoma and CD44 expression in the primary tumor ($p = 0.0493$) and in metastatic tissue ($p = 0.0049$) was detected. No statistically significant correlation was found for CD44 expression and stage of the disease, postoperative residual tumor, grade, preoperative value of CA125, or the age of the patient at the time of diagnosis.

The expression of CD44 in primary tumor and in metastasis was tested for OS and DFI. No statistically significant cut-off of the CD44 expression in primary tumor or in metastasis for OS was detected. No statistically significant cut-off of the expression CD44 in primary tumor for DFI was found, but we established 2% as a statistically significant cut-off for CD44 expression in metastatic tissue ($p = 0.0029$). Finally, we performed multivariate analysis for OS and DFI. Statistically significant prognostic factors (stage of the disease, postoperative residual tumor and histological type) were taken for multivariate analysis of OS. The same prognostic factors and expression of CD44 in metastatic tissue

were included for DFI. Stage of the disease ($p = 0,0018$) and postoperative residual ($p = 0,0046$) tumor were statistically significant for OS and DFI in multivariate analysis. CD44 expression was not statistically significant in multivariate analysis for OS and DFI.

Conclusions

1. We recruited a group of 87 patients with histologically verified epithelial ovarian carcinoma. All patients were tested for primary tumor specimens, 48 of them were tested with regard to both specimens of primary tumor and implantation metastasis.

2. Stage of disease, postoperative residual tumor and histological type were statistically significant prognostic factors for overall survival and disease-free interval in our series.

3. A positive correlation between expression CD44 in primary tumors and in metastases was found.

4. We found a significant correlation between serous papillary carcinoma and CD44 expression in the primary tumor and in metastatic tissue. No statistically significant correlation was found for CD44 expression and other prognostic factors.

5. No statistically significant cut-off of the expression CD44 in primary tumors or in metastases for OS was detected. No statistically significant cut-off of the expression CD44 in primary tumor for DFI was found, but we established 2% as a statistically significant cut-off for CD44 expression in metastatic tissue. Stage of the disease and postoperative residual tumor were statistically significant for OS and DFI in multivariate analysis. CD44 expression was not statistically significant in multivariate analysis for OS and DFI.

According to our results, IHC evaluation of CD44 as a CSCs marker in ovarian cancer is not beneficial in diagnostics and therapy of ovarian cancer. More studies are needed to determine the role of detection CSCs in ovarian cancer

7. LITERATURA

1. TORRE, L.A., BRAY, F., SIEGEL, R.L., FERLAY, J., LORTET-TIEULENT, J. a JEMAL, A. Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2015, **65**(2), 87-108.
2. KAATSCH, P., SPIX, C., HENTSCHEL, S., KATALINIC, A., LUTTMANN, S., STEGMAIER, C., CASPRITZ, S., CERNAJ, J., ERNST, A. a FOLKERTS, J. Krebs in Deutschland 2009/2010. 2013.
3. GARCIA, M., JEMAL, A., WARD, E., CENTER, M., HAO, Y., SIEGEL, R. a THUN, M. Global Cancer Facts & Figures American Cancer Society. Atlanta, 2007.
4. BOUDA, J. a HES, O. An unusual case of malignant Brenner tumor in association with low-grade urothelial carcinoma of the urinary bladder. A case report. *European journal of gynaecological oncology*, 1998, **20**(4), 318-320.
5. MUTCH, D.G. a PRAT, J. 2014 FIGO staging for ovarian, fallopian tube and peritoneal cancer. *Gynecologic oncology*, 2014, **133**(3), 401-404.
6. GILKS, C.B. a PRAT, J. Ovarian carcinoma pathology and genetics: recent advances. *Human pathology*, 2009, **40**(9), 1213-1223.
7. MALPICA, A., DEEVERS, M.T., LU, K., BODURKA, D.C., ATKINSON, E.N., GERSHENSON, D.M. a SILVA, E.G. Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system. *The American Journal of Surgical Pathology*, 2004, **28**(4), 496-504.
8. SATO, N., TSUNODA, H., NISHIDA, M., MORISHITA, Y., TAKIMOTO, Y., KUBO, T. a NOGUCHI, M. Loss of heterozygosity on 10q23.3 and mutation of the tumor suppressor gene PTEN in benign endometrial cyst of the ovary: possible sequence progression from benign endometrial cyst to endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma of the ovary. *Cancer research*, 2000, **60**(24), 7052-7056.
9. TOTHILL, R.W., TINKER, A.V., GEORGE, J., BROWN, R., FOX, S.B., LADE, S., JOHNSON, D.S., TRIVETT, M.K., ETEMADMOGHADAM, D. a LOCANDRO, B. Novel molecular subtypes of serous and endometrioid ovarian cancer linked to clinical outcome. *Clinical cancer research*, 2008, **14**(16), 5198-5208.

10. HARRISON, M.L., JAMESON, C. a GORE, M.E. Mucinous ovarian cancer. *International Journal of Gynecological Cancer*, 2008, **18**(2), 209-214.
11. LAPIDOT, T., SIRARD, C., VORMOOR, J., MURDOCH, B., HOANG, T., CACERES-CORTES, J., MINDEN, M., PATERSON, B., CALIGIURI, M.A. a DICK, J.E. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*, 1994, **367**(6464), 645-648.
12. KURMAN, R.J. a SHIH, I.-M. The Origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer-a proposed unifying theory. *The American Journal of Surgical Pathology*, 2010, **34**(3), 433.
13. KUO, K.-T., GUAN, B., FENG, Y., MAO, T.-L., CHEN, X., JINAWATH, N., WANG, Y., KURMAN, R.J., SHIH, I.-M. a WANG, T.-L. Analysis of DNA copy number alterations in ovarian serous tumors identifies new molecular genetic changes in low-grade and high-grade carcinomas. *Cancer research*, 2009, **69**(9), 4036-4042.
14. STIRLING, D., EVANS, D.G.R., PICHERT, G., SHENTON, A., KIRK, E.N., RIMMER, S., STEEL, C.M., LAWSON, S., BUSBY-EARLE, R.C. a WALKER, J. Screening for familial ovarian cancer: failure of current protocols to detect ovarian cancer at an early stage according to the international Federation of gynecology and obstetrics system. *Journal of Clinical Oncology*, 2005, **23**(24), 5588-5596.
15. KOÇ, N., AYAS, S. a UYGUR, L. The association of serous tubal intraepithelial carcinoma with gynecologic pathologies and its role in pelvic serous cancer. *Gynecologic oncology*, 2014, **134**(3), 486-491.
16. VAN DER KOLK, D.M., DE BOCK, G.H., LEEGTE, B.K., SCHAAPVELD, M., MOURITS, M.J., DE VRIES, J., VAN DER HOUT, A.H. a OOSTERWIJK, J.C. Penetrance of breast cancer, ovarian cancer and contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 families: high cancer incidence at older age. *Breast cancer research and treatment*, 2010, **124**(3), 643-651.
17. MATZ, M., COLEMAN, M.P., SANT, M., CHIRLAQUE, M.D., VISSER, O., GORE, M., ALLEMANI, C. a GROUP, C.W. The histology of ovarian cancer: worldwide distribution and implications for international survival comparisons (CONCORD-2). *Gynecologic oncology*, 2016.
18. EVANS, D.G., GAARENSTROOM, K.N., STIRLING, D., SHENTON, A., MAEHLE, L., DØRUM, A., STEEL, M., LALLOO, F., APOLD, J. a PORTEOUS,

- M. Screening for familial ovarian cancer: poor survival of BRCA1/2 related cancers. *Journal of medical genetics*, 2009, **46**(9), 593-597.
19. TSILIDIS, K., ALLEN, N., KEY, T., DOSSUS, L., LUKANOVA, A., BAKKEN, K., LUND, E., FOURNIER, A., OVERVAD, K. a HANSEN, L. Oral contraceptive use and reproductive factors and risk of ovarian cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *British journal of cancer*, 2011, **105**(9), 1436-1442.
 20. JAYSON, G.C., KOHN, E.C., KITCHENER, H.C. a LEDERMANN, J.A. Ovarian cancer. *The Lancet*, 2014, **384**(9951), 1376-1388.
 21. MUNKSGAARD, P.S. a BLAAKAER, J. The association between endometriosis and ovarian cancer: a review of histological, genetic and molecular alterations. *Gynecologic oncology*, 2012, **124**(1), 164-169.
 22. GILKS, C.B. a MILLER, D. Opportunistic salpingectomy for women at low risk for development of ovarian carcinoma: the time has come. *Gynecologic oncology*, 2013, **129**(3), 443-444.
 23. WINTER, W.E., 3RD, MAXWELL, G.L., TIAN, C., CARLSON, J.W., OZOLS, R.F., ROSE, P.G., MARKMAN, M., ARMSTRONG, D.K., MUGGIA, F. a MCGUIRE, W.P. Prognostic factors for stage III epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. *Journal of Clinical Oncology*, 2007, **25**(24), 3621-3627.
 24. HARTMANN, L.C., LU, K.H., LINETTE, G.P., CLIBY, W.A., KALLI, K.R., GERSHENSON, D., BAST, R.C., STEC, J., IARTCHOUK, N. a SMITH, D.I. Gene expression profiles predict early relapse in ovarian cancer after platinum-paclitaxel chemotherapy. *Clinical cancer research*, 2005, **11**(6), 2149-2155.
 25. BERNARDINI, M., LEE, C.-H., BEHESHTI, B., PRASAD, M., ALBERT, M., MARRANO, P., BEGLEY, H., SHAW, P., COVENS, A. a MURPHY, J. High-resolution mapping of genomic imbalance and identification of gene expression profiles associated with differential chemotherapy response in serous epithelial ovarian cancer. *Neoplasia*, 2005, **7**(6), 603IN617-613IN620.
 26. DRESSMAN, H.K., BERCHUCK, A., CHAN, G., ZHAI, J., BILD, A., SAYER, R., CRAGUN, J., CLARKE, J., WHITAKER, R.S. a LI, L. An integrated genomic-based approach to individualized treatment of patients with advanced-stage ovarian cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 2007, **25**(5), 517-525.

27. GILLET, J.-P., CALCAGNO, A.M., VARMA, S., DAVIDSON, B., ELSTRAND, M.B., GANAPATHI, R., KAMAT, A.A., SOOD, A.K., AMBUDKAR, S.V. a SEIDEN, M.V. Multidrug resistance-linked gene signature predicts overall survival of patients with primary ovarian serous carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 2012, **18**(11), 3197-3206.
28. MOHELNIKOVA-DUCHONOVA, B., BRYNYCHOVA, V., OLIVERIUS, M., HONSOVA, E., KALA, Z., MUCKOVA, K. a SOUCEK, P. Differences in transcript levels of ABC transporters between pancreatic adenocarcinoma and nonneoplastic tissues. *Pancreas*, 2013, **42**(4), 707-716.
29. HLAVÁČ, V., BRYNYCHOVÁ, V., VÁCLAVÍKOVÁ, R., EHRLICHOVÁ, M., VRÁNA, D., PECHA, V., KOŽEVNIKOVOVÁ, R., TRNKOVÁ, M., GATĚK, J. a KOPPEROVÁ, D. The expression profile of ATP-binding cassette transporter genes in breast carcinoma. *Pharmacogenomics*, 2013, **14**(5), 515-529.
30. JANUCHOWSKI, R., ZAWIERUCHA, P., RUCIŃSKI, M., ANDRZEJEWSKA, M., WOJTOWICZ, K., NOWICKI, M. a ZABEL, M. Drug transporter expression profiling in chemoresistant variants of the A2780 ovarian cancer cell line. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2014, **68**(4), 447-453.
31. HEDDITCH, E.L., GAO, B., RUSSELL, A.J., LU, Y., EMMANUEL, C., BEESLEY, J., JOHNATTY, S.E., CHEN, X., HARNETT, P. a GEORGE, J. ABCA transporter gene expression and poor outcome in epithelial ovarian cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 2014, **106**(7), dju149.
32. VÁCLAVÍKOVÁ, R., ELSNEROVÁ, K., MOHELNÍKOVÁ-DUCHOŇOVÁ, B., BARTÁKOVÁ, A., ROB, L., ŠKAPA, P., HRUDA, M., BOUDA, J., VODIČKA, P. a SOUČEK, P. Markery progrese a vzniku metastáz u ovariálního karcinomu sledované na základě genových expresních profilů. *Plzeňský lékařský sborník* 81, 2015:39-55
33. ELSNEROVA, K., MOHELNIKOVA-DUCHONOVA, B., CEROVSKA, E., EHRLICHOVA, M., GUT, I., ROB, L., SKAPA, P., HRUDA, M., BARTAKOVA, A. a BOUDA, J. Gene expression of membrane transporters: Importance for prognosis and progression of ovarian carcinoma. *Oncology reports*, 2016, **35**(4), 2159-2170.
34. MENON, U., GENTRY-MAHARAJ, A., HALLETT, R., RYAN, A., BURNELL, M., SHARMA, A., LEWIS, S., DAVIES, S., PHILPOTT, S. a LOPES, A.

- Sensitivity and specificity of multimodal and ultrasound screening for ovarian cancer, and stage distribution of detected cancers: results of the prevalence screen of the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS). *The lancet oncology*, 2009, **10**(4), 327-340.
35. JACOBS, I.J., MENON, U., RYAN, A., GENTRY-MAHARAJ, A., BURNELL, M., KALSI, J.K., AMSO, N.N., APOSTOLIDOU, S., BENJAMIN, E. a CRUICKSHANK, D. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. *The Lancet*, 2016, **387**(10022), 945-956.
 36. ZIKÁN, M. Gynecological Care and Prevention of Gynecological Malignancies in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Klinicka onkologie: casopis Ceske a Slovenske onkologicke spolecnosti*, 2015, **29**, S22-30.
 37. ROSENTHAL, A.N., FRASER, L., PHILPOTT, S., MANCHANDA, R., BADMAN, P., HADWIN, R., EVANS, D.G., ECCLES, D., SKATES, S.J. a MACKAY, J. Final results of 4-monthly screening in the UK familial ovarian cancer screening study (UKFOCSS Phase 2). in *Journal of Clinical Oncology*. 2013. American Society of Clinical Oncology.
 38. KING, M.-C., MARKS, J.H. a MANDELL, J.B. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science*, 2003, **302**(5645), 643-646.
 39. CASS, I., WALTS, A.E., BARBUTO, D., LESTER, J. a KARLAN, B. A cautious view of putative precursors of serous carcinomas in the fallopian tubes of BRCA mutation carriers. *Gynecologic oncology*, 2014, **134**(3), 492-497.
 40. MARITSCHNEGG, E., WANG, Y., PECHA, N., HORVAT, R., VAN NIEUWENHUYSEN, E., VERGOTE, I., HEITZ, F., SEHOULI, J., KINDE, I. a DIAZ JR, L.A. Lavage of the uterine cavity for molecular detection of Müllerian duct carcinomas: A proof-of-concept study. *Journal of Clinical Oncology*, 2015, **33**(36), 4293-4300.
 41. FISCHEROVÁ, D., ZIKÁN, M., PINKAVOVÁ, I., SLÁMA, J., FREITAG, P., DUNDR, P., BURGETOVÁ, A. a CIBULA, D. Předoperační diagnostika ovariálních nádorů. *Onkologie*, 2012, **6**(2), 59-64.
 42. TIMMERMAN, D., TESTA, A.C., BOURNE, T., AMEYE, L., JURKOVIC, D., VAN HOLSBEKE, C., PALADINI, D., VAN CALSTER, B., VERGOTE, I. a

- VAN HUFFEL, S. Simple ultrasound- based rules for the diagnosis of ovarian cancer. *Ultrasound in obstetrics & gynecology*, 2008, **31**(6), 681-690.
43. FISCHEROVA, D. Ultrasound scanning of the pelvis and abdomen for staging of gynecological tumors: a review. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, 2011, **38**(3), 246-266.
 44. BAST JR, R.C., KLUG, T.L., JOHN, E.S., JENISON, E., NILOFF, J.M., LAZARUS, H., BERKOWITZ, R.S., LEAVITT, T., GRIFFITHS, C.T. a PARKER, L. A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*, 1983, **309**(15), 883-887.
 45. NOVOTNY, Z., PRESL, J., KUCERA, R., TOPOLCAN, O., VRZALOVA, J., FUCHSOVA, R., BETINCOVA, L. a ROKYTA, Z. HE4 and ROMA index in Czech postmenopausal women. *Anticancer research*, 2012, **32**(9), 4137-4140.
 46. MOORE, R.G., MILLER, M.C., DISILVESTRO, P., LANDRUM, L.M., GAJEWSKI, W., BALL, J.J. a SKATES, S.J. Evaluation of the diagnostic accuracy of the risk of ovarian malignancy algorithm in women with a pelvic mass. *Obstetrics and gynecology*, 2011, **118**(2 Pt 1), 280.
 47. MOORE, R.G., BROWN, A.K., MILLER, M.C., SKATES, S., ALLARD, W.J., VERCH, T., STEINHOFF, M., MESSERLIAN, G., DISILVESTRO, P. a GRANAI, C. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. *Gynecologic oncology*, 2008, **108**(2), 402-408.
 48. PRAT, J. Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 2014, **124**(1), 1-5.
 49. DU BOIS, A., REUSS, A., PUJADE- LAURAIN, E., HARTE, P., RAY- COQUARD, I. a PFISTERER, J. Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials. *Cancer*, 2009, **115**(6), 1234-1244.
 50. SWART, A. Long-term follow-up of women enrolled in a randomized trial of adjuvant chemotherapy for early stage ovarian cancer (ICON1). *Journal of Clinical Oncology*, 2007, **25**(90180), 5509-5509.

51. LYDIKSEN, L., JENSEN-FANGEL, S. a BLAAKAER, J. Is it possible to define an optimal time for chemotherapy after surgery for ovarian cancer? *Gynecologic oncology*, 2014, **133**(3), 454-459.
52. FENG, Z., WEN, H., BI, R., YANG, W. a WU, X. Prognostic impact of the time interval from primary surgery to intravenous chemotherapy in high grade serous ovarian cancer. *Gynecologic oncology*, 2016, **141**(3), 466-470.
53. WRIGHT, J., DOAN, T., MCBRIDE, R., JACOBSON, J. a HERSHMAN, D. Variability in chemotherapy delivery for elderly women with advanced stage ovarian cancer and its impact on survival. *British journal of cancer*, 2008, **98**(7), 1197-1203.
54. MAHNER, S., EULENBURG, C., STAEHLE, A., WEGSCHEIDER, K., REUSS, A., PUJADE-LAURINE, E., HARTEP, P., RAY-COQUARD, I., PFISTERER, J. a DU BOIS, A. Prognostic impact of the time interval between surgery and chemotherapy in advanced ovarian cancer: analysis of prospective randomised phase III trials. *European journal of cancer*, 2013, **49**(1), 142-149.
55. VERGOTE, I., DU BOIS, A., AMANT, F., HEITZ, F., LEUNEN, K. a HARTEP, P. Neoadjuvant chemotherapy in advanced ovarian cancer: on what do we agree and disagree. *Gynecol Oncol*, 2013, **128**(1), 6-11.
56. RUSTIN, G.J., VAN DER BURG, M.E., GRIFFIN, C.L., GUTHRIE, D., LAMONT, A., JAYSON, G.C., KRISTENSEN, G., MEDIOLA, C., COENS, C. a QIAN, W. Early versus delayed treatment of relapsed ovarian cancer (MRC OV05/EORTC 55955): a randomised trial. *The Lancet*, 2010, **376**(9747), 1155-1163.
57. LEE, C.K., LORD, S., GRUNEWALD, T., GEBSKI, V., HARDY-BESSARD, A.-C., SEHOULI, J., WOIE, K., HEYWOOD, M., SCHAUER, C. a VERGOTE, I. Impact of secondary cytoreductive surgery on survival in patients with platinum sensitive recurrent ovarian cancer: Analysis of the CALYPSO trial. *Gynecologic oncology*, 2015, **136**(1), 18-24.
58. CRANE, E.K., SUN, C.C., RAMIREZ, P.T., SCHMELER, K.M., MALPICA, A. a GERSHENSON, D.M. The role of secondary cytoreduction in low-grade serous ovarian cancer or peritoneal cancer. *Gynecologic oncology*, 2015, **136**(1), 25-29.

59. AL RAWAHI, T., LOPES, A.D., BRISTOW, R.E., BRYANT, A., ELATTAR, A., CHATTOPADHYAY, S. a GALAAL, K. Surgical cytoreduction for recurrent epithelial ovarian cancer. *The Cochrane Library*, 2013.
60. PAVELKA, K., ARENBERGER, P., LUKÁŠ, M., ZIMA, T., DOLEŽAL, T., OLEJÁROVÁ, M. a CETKOVSKÁ, P., *Biologická léčba zánětlivých autoimunitních onemocnění: v revmatologii, gastroenterologii a dermatologii 2014*: Grada Publishing as.
61. PERREN, T.J., SWART, A.M., PFISTERER, J., LEDERMANN, J.A., PUJADE-LAURINE, E., KRISTENSEN, G., CAREY, M.S., BEALE, P., CERVANTES, A. a KURZEDER, C. A phase 3 trial of bevacizumab in ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*, 2011, **365**(26), 2484-2496.
62. STARK, D., NANKIVELL, M., PUJADE-LAURINE, E., KRISTENSEN, G., ELIT, L., STOCKLER, M., HILPERT, F., CERVANTES, A., BROWN, J. a LANCELEY, A. Standard chemotherapy with or without bevacizumab in advanced ovarian cancer: quality-of-life outcomes from the International Collaboration on Ovarian Neoplasms (ICON7) phase 3 randomised trial. *The lancet oncology*, 2013, **14**(3), 236-243.
63. LIU, J.F., BARRY, W.T., BIRRER, M., LEE, J.-M., BUCKANOVICH, R.J., FLEMING, G.F., RIMEL, B., BUSS, M.K., NATTAM, S. a HURTEAU, J. Combination cediranib and olaparib versus olaparib alone for women with recurrent platinum-sensitive ovarian cancer: a randomised phase 2 study. *The Lancet Oncology*, 2014, **15**(11), 1207-1214.
64. CIBULA, D. a BALMAÑA, J. PARP inhibitors in ovarian cancer. *British journal of cancer*, 2015, **113**, S1-S2.
65. ALISON, M.R., LIM, S.M. a NICHOLSON, L.J. Cancer stem cells: problems for therapy? *The Journal of pathology*, 2011, **223**(2), 148-162.
66. FOSTER, R., BUCKANOVICH, R.J. a RUEDA, B.R. Ovarian cancer stem cells: working towards the root of stemness. *Cancer letters*, 2013, **338**(1), 147-157.
67. SZOTEK, P.P., CHANG, H.L., BRENNAND, K., FUJINO, A., PIERETTI-VANMARCKE, R., CELSO, C.L., DOMBKOWSKI, D., PREFFER, F., COHEN, K.S. a TEIXEIRA, J. Normal ovarian surface epithelial label-retaining cells exhibit stem/progenitor cell characteristics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, **105**(34), 12469-12473.

68. AUERSPERG, N. The stem-cell profile of ovarian surface epithelium is reproduced in the oviductal fimbriae, with increased stem-cell marker density in distal parts of the fimbriae. *International Journal of Gynecological Pathology*, 2013, **32**(5), 444-453.
69. CRUM, C.P., MCKEON, F.D. a XIAN, W. BRCA, the oviduct, and the space and time continuum of pelvic serous carcinogenesis. *International Journal of Gynecological Cancer*, 2012, **22**, S29-S34.
70. GARSON, K. a VANDERHYDEN, B.C. Epithelial ovarian cancer stem cells: underlying complexity of a simple paradigm. *Reproduction*, 2015, **149**(2), R59-70.
71. TURLEY, E.A., VEISEH, M., RADISKY, D.C. a BISSELL, M.J. Mechanisms of Disease: epithelial–mesenchymal transition—does cellular plasticity fuel neoplastic progression? *Nature clinical practice Oncology*, 2008, **5**(5), 280-290.
72. MANI, S.A., GUO, W., LIAO, M.-J., EATON, E.N., AYYANAN, A., ZHOU, A.Y., BROOKS, M., REINHARD, F., ZHANG, C.C. a SHIPITSIN, M. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*, 2008, **133**(4), 704-715.
73. TSAI, J.H., DONAHER, J.L., MURPHY, D.A., CHAU, S. a YANG, J. Spatiotemporal regulation of epithelial-mesenchymal transition is essential for squamous cell carcinoma metastasis. *Cancer cell*, 2012, **22**(6), 725-736.
74. CHRISTIANSEN, J.J. a RAJASEKARAN, A.K. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis. *Cancer research*, 2006, **66**(17), 8319-8326.
75. ZHOU, S., SCHUETZ, J.D., BUNTING, K.D., COLAPIETRO, A.-M., SAMPATH, J., MORRIS, J.J., LAGUTINA, I., GROSVELD, G.C., OSAWA, M. a NAKAUCHI, H. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. *Nature medicine*, 2001, **7**(9), 1028-1034.
76. GROSSE-GEHLING, P., FARGEAS, C.A., DITTFELD, C., GARBE, Y., ALISON, M.R., CORBEIL, D. a KUNZ-SCHUGHART, L.A. CD133 as a biomarker for putative cancer stem cells in solid tumours: limitations, problems and challenges. *The Journal of Pathology*, 2013, **229**(3), 355-378.
77. BARTAKOVA, A., PECKOVA, K., DAUM, O. a BOUDA, J. [Detection of cancer stem cells in ovarian cancer]. *Ceska Gynekologie*, 2014, **79**(1), 7-11.

78. LENNARTSSON, J. a RONNSTRAND, L. Stem cell factor receptor/c-Kit: from basic science to clinical implications. *Physiological Reviews*, 2012, **92**(4), 1619-1649.
79. JAGGUPILLI, A. a ELKORD, E. Significance of CD44 and CD24 as cancer stem cell markers: an enduring ambiguity. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012, **2012**.
80. NAOR, D., SIONOV, R.V. a ISH-SHALOM, D. CD44: structure, function and association with the malignant process. *Advances in cancer research*, 1997, **71**, 241-319.
81. BOURGUIGNON, L.Y. Hyaluronan-mediated CD44 activation of RhoGTPase signaling and cytoskeleton function promotes tumor progression. in *Seminars in cancer biology*. 2008. Elsevier.
82. LEE, J.Y. a SPICER, A.P. Hyaluronan: a multifunctional, megaDalton, stealth molecule. *Current opinion in cell biology*, 2000, **12**(5), 581-586.
83. NAOR, D., WALLACH-DAYAN, S.B., ZAHALKA, M.A. a SIONOV, R.V. Involvement of CD44, a molecule with a thousand faces, in cancer dissemination. in *Seminars in cancer biology*. 2008. Elsevier.
84. TIAN, B., TAKASU, T. a HENKE, C. Functional role of cyclin A on induction of fibroblast apoptosis due to ligation of CD44 matrix receptor by anti-CD44 antibody. *Experimental cell research*, 2000, **257**(1), 135-144.
85. NAOR, D., NEDVETZKI, S., GOLAN, I., MELNIK, L. a FAITELSON, Y. CD44 in cancer. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 2002, **39**(6), 527-579.
86. AUVINEN, P., TAMMI, R., TAMMI, M., JOHANSSON, R. a KOSMA, V.M. Expression of CD44s, CD44v3 and CD44v6 in benign and malignant breast lesions: correlation and colocalization with hyaluronan. *Histopathology*, 2005, **47**(4), 420-428.
87. BOURGUIGNON, L.Y. CD44-mediated oncogenic signaling and cytoskeleton activation during mammary tumor progression. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 2001, **6**(3), 287-297.
88. PRAT, J. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Virchows Archiv*, 2012, **460**(3), 237-249.

89. CURLEY, M.D., GARRETT, L.A., SCHORGE, J.O., FOSTER, R. a RUEDA, B.R. Evidence for cancer stem cells contributing to the pathogenesis of ovarian cancer. *Frontiers in Bioscience*, 2011, **16**, 368-392.
90. CHI, D.S., LIAO, J.B., LEON, L.F., VENKATRAMAN, E.S., HENSLEY, M.L., BHASKARAN, D. a HOSKINS, W.J. Identification of prognostic factors in advanced epithelial ovarian carcinoma. *Gynecologic oncology*, 2001, **82**(3), 532-537.
91. BRISTOW, R.E., TOMACRUZ, R.S., ARMSTRONG, D.K., TRIMBLE, E.L. a MONTZ, F. Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*, 2002, **20**(5), 1248-1259.
92. WINTER III, W.E., MAXWELL, G.L., TIAN, C., SUNDBORG, M.J., ROSE, G.S., ROSE, P.G., RUBIN, S.C., MUGGIA, F. a MCGUIRE, W.P. Tumor residual after surgical cytoreduction in prediction of clinical outcome in stage IV epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. *Journal of Clinical Oncology*, 2008, **26**(1), 83-89.
93. GERSHENSON, D.M., SUN, C.C., LU, K.H., COLEMAN, R.L., SOOD, A.K., MALPICA, A., DEEVERS, M.T., SILVA, E.G. a BODURKA, D.C. Clinical behavior of stage II-IV low-grade serous carcinoma of the ovary. *Obstetrics & Gynecology*, 2006, **108**(2), 361-368.
94. GROUP, T.I.C.O.N.I. Paclitaxel plus carboplatin versus standard chemotherapy with either single-agent carboplatin or cyclophosphamide, doxorubicin, and cisplatin in women with ovarian cancer: the ICON3 randomised trial. *The Lancet*, 2002, **360**(9332), 505-515.
95. VERGOTE, I., DE BRABANTER, J., FYLES, A., BERTELSEN, K., EINHORN, N., SEVELDA, P., GORE, M.E., KÆRN, J., VERRELST, H. a SJÖVALL, K. Prognostic importance of degree of differentiation and cyst rupture in stage I invasive epithelial ovarian carcinoma. *The Lancet*, 2001, **357**(9251), 176-182.
96. TINGULSTAD, S., SKJELDESTAD, F.E., HALVORSEN, T.B. a JØRN HAGEN, B. Survival and prognostic factors in patients with ovarian cancer. *Obstetrics & Gynecology*, 2003, **101**(5), 885-891.
97. CLARK, T., STEWART, M., ALTMAN, D., GABRA, H. a SMYTH, J. A prognostic model for ovarian cancer. *British journal of cancer*, 2001, **85**(7), 944.

98. VERGOTE, I., TROPÉ, C.G., AMANT, F., KRISTENSEN, G.B., EHLEN, T., JOHNSON, N., VERHEIJEN, R.H., VAN DER BURG, M.E., LACAVE, A.J. a PANICI, P.B. Neoadjuvant chemotherapy or primary surgery in stage IIIC or IV ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*, 2010, **363**(10), 943-953.
99. DU BOIS, A., MARTH, C., PFISTERER, J., HARTEK, P., HILPERT, F., ZEIMET, A.G. a SEHOULI, J. Neoadjuvant chemotherapy cannot be regarded as adequate routine therapy strategy of advanced ovarian cancer. *International Journal of Gynecological Cancer*, 2011, **21**(6), 1165-1168.
100. STUART, G.C., KITCHENER, H., BACON, M., FRIEDLANDER, M., LEDERMANN, J., MARTH, C., THIGPEN, T. a TRIMBLE, E. 2010 Gynecologic Cancer InterGroup (GCIIG) consensus statement on clinical trials in ovarian cancer: report from the Fourth Ovarian Cancer Consensus Conference. *International Journal of Gynecological Cancer*, 2011, **21**(4), 750-755.
101. SEHOULI, J., WAGNER, U., MARTIN, P. a DU BOIS, A. Neoadjuvante Chemotherapie kann nicht als Standardtherapie beim Ovarialkarzinom angesehen werden. *AGO homepage*, 2011.
102. TRIMBOS, J., PARMAR, M., VERGOTE, I., GUTHRIE, D., BOLIS, G., COLOMBO, N., VERMORKEN, J., TORRI, V., MANGIONI, C. a PECORELLI, S. International Collaborative Ovarian Neoplasm 1; European Organisation for Research and Treatment of Cancer Collaborators-Adjuvant ChemoTherapy un Ovarian Neoplasm. International Collaborative Ovarian Neoplasm trial 1 and Adjuvant ChemoTherapy In Ovarian Neoplasm trial: two parallel randomized phase III trials of adjuvant chemotherapy in patients with early-stage ovarian carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 2003, **95**(2), 105-112.
103. ZHANG, J., CHANG, B. a LIU, J. CD44 standard form expression is correlated with high-grade and advanced-stage ovarian carcinoma but not prognosis. *Human Pathology*, 2013, **44**(9), 1882-1889.
104. PYLVAAS-EEROLA, M., LIAKKA, A., PUISTOLA, U., KOIVUNEN, J. a KARIHTALA, P. Cancer Stem Cell Properties as Factors Predictive of Chemoresistance in Neoadjuvantly-treated Patients with Ovarian Cancer. *Anticancer Research*, 2016, **36**(7), 3425-3431.

105. GAO, Y., FOSTER, R., HORNICEK, F.J., AMIJI, M.M. a DUAN, Z.: Up-regulation of CD44 in the development of metastasis, recurrence and drug resistance of ovarian cancer, 2015, AACR.
106. RYABTSEVA, O., LUKIANOVA, N.Y., SHMURAKOV, Y., POLISHCHUK, L. a ANTIPOVA, S. Significance of adhesion molecules expression for estimation of serous ovarian cancer prognosis. *Exp Oncol*, 2013, **35**(3), 211-218.
107. AHMED, N., ABUBAKER, K., FINDLAY, J. a QUINN, M. Cancerous ovarian stem cells: obscure targets for therapy but relevant to chemoresistance. *Journal of cellular biochemistry*, 2013, **114**(1), 21-34.
108. SILLANPAA, S., ANTTILA, M.A., VOUTILAINEN, K., TAMMI, R.H., TAMMI, M.I., SAARIKOSKI, S.V. a KOSMA, V.M. CD44 expression indicates favorable prognosis in epithelial ovarian cancer. *Clinical Cancer Research*, 2003, **9**(14), 5318-5324.
109. STEFFENSEN, K.D., ALVERO, A.B., YANG, Y., WALDSTRØM, M., HUI, P., HOLMBERG, J.C., SILASI, D.-A., JAKOBSEN, A., RUTHERFORD, T. a MOR, G. Prevalence of epithelial ovarian cancer stem cells correlates with recurrence in early-stage ovarian cancer. *Journal of oncology*, 2011, **2011**.
110. BONNEAU, C., ROUZIER, R., GEYL, C., CORTEZ, A., CASTELA, M., LIS, R., DARAI, E. a TOUBOUL, C. Predictive markers of chemoresistance in advanced stages epithelial ovarian carcinoma. *Gynecologic Oncology*, 2015, **136**(1), 112-120.
111. ELZARKAA, A.A., SABAA, B.E., ABDELKHALIK, D., MANSOUR, H., MELIS, M., SHAALAN, W., FAROUK, M., MALIK, E. a SOLIMAN, A.A. Clinical relevance of CD44 surface expression in advanced stage serous epithelial ovarian cancer: a prospective study. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2016, **142**(5), 949-958.
112. SACKS, J.D. a BARBOLINA, M.V. Expression and function of CD44 in epithelial ovarian carcinoma. *Biomolecules*, 2015, **5**(4), 3051-3066.
113. AFIFY, A.M., FERGUSON, A.W., DAVILA, R.M. a WERNESS, B.A. Expression of CD44S and CD44v5 Is More Common in Stage III Than in Stage I Serous Ovarian Carcinomas. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 2001, **9**(4), 309-314.

114. RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, L., SANCHO-TORRES, I., MESONERO, C., GIBBON, D.G., SHIH, W.J. a ZOTALIS, G. The CD44 receptor is a molecular predictor of survival in ovarian cancer. *Medical Oncology*, 2003, **20**(3), 255-263.
115. TJHAY, F., MOTOHARA, T., TAYAMA, S., NARANTUYA, D., FUJIMOTO, K., GUO, J., SAKAGUCHI, I., HONDA, R., TASHIRO, H. a KATABUCHI, H. CD44 variant 6 is correlated with peritoneal dissemination and poor prognosis in patients with advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Science*, 2015, **106**(10), 1421-1428.
116. MOTOHARA, T., FUJIMOTO, K., TAYAMA, S., NARANTUYA, D., SAKAGUCHI, I., TASHIRO, H. a KATABUCHI, H. CD44 Variant 6 as a Predictive Biomarker for Distant Metastasis in Patients With Epithelial Ovarian Cancer. *Obstetrics & Gynecology*, 2016, **127**(6), 1003-1011.
117. SOSULSKI, A., HORN, H., ZHANG, L., COLETTI, C., VATHIPADIEKAL, V., CASTRO, C.M., BIRRER, M.J., NAGANO, O., SAYA, H., LAGE, K., DONAHOE, P.K. a PEPIN, D. CD44 Splice Variant v8-10 as a Marker of Serous Ovarian Cancer Prognosis. *PLoS One*, 2016, **11**(6), e0156595.
118. WANG, Y.C., YO, Y.T., LEE, H.Y., LIAO, Y.P., CHAO, T.K., SU, P.H. a LAI, H.C. ALDH1-bright epithelial ovarian cancer cells are associated with CD44 expression, drug resistance, and poor clinical outcome. *The American Journal of Pathology*, 2012, **180**(3), 1159-1169.

8. PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych zde poděkovat všem, kteří se mnou spolupracovali na studii a podporovali mě v mé práci.

Především bych chtěla poděkovat svému školiteli, panu docentovi MUDr. Jiřímu Boudovi, Ph.D., který mě velmi profesionálně a zároveň mile vedl v práci postgraduálního studia. Také mně dlouhodobě předával zkušenosti a dovednosti v gynekologii a porodnictví.

Dále bych chtěla poděkovat panu docentovi MUDr. Ondřeji Daumovi, Ph.D. za cenné rady v oblasti imunohistochemie a MUDr. Květoslavě Peckové za náročnou práci při histopatogickém zpracování vzorků a hodnocení imunohistochemie.

Poděkování také patří paní docence MUDr. Mileně Králíčkové, Ph.D., díky které jsem se začala daným tématem zajímat.

V neposlední řadě náleží poděkování také mému manželovi a rodině za pochopení a podporu v mé práci.

9. PŘEHLED VLASTNÍ PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI

9.1. Publikace týkající se tématu dizertační práce

9.1.1. Články publikované v časopisech s IF

BARTAKOVA A., ONDIC O., PRESL J., VLASAK P., BOUDA J., Oligodendroglioma Originating in Mature Cystic Teratoma, *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2016 Feb;36(2):269-70. **IF 0,551**

ELSNEROVA K, MOHELNIKOVA-DUCHONOVA B, CEROVSKA E, EHRlichova M, GUT I, ROB L, SKAPA P, HRUDA M, **BARTAKOVA A**, BOUDA J, VODICKA P, SOUCEK P, VACLAVIKOVA R. Gene expression of membrane transporters: Importance for prognosis and progression of ovarian carcinoma. *Oncology Reports*. 2016 Apr;35(4):2159-70. **IF 2,301**

9.1.2. Články publikované v recenzovaných časopisech bez IF

BARTÁKOVÁ A., PECKOVÁ K., DAUM O., BOUDA J., Detekce nádorových kmenových buněk karcinomu ovaria, *Česká Gynekologie* 2014, 79, č. 1 s. 7-11

ŮRGEOVÁ A., PITULE P., ČEDÍKOVÁ M., BOUDA J., Nádorové kmenové buňky u karcinomu ovaria, *Praktická Gynekologie* 2012; 16(1): 42-44

VÁCLAVÍKOVÁ R., ELSNEROVÁ K., MOHELNÍKOVÁ – DUCHOŇOVÁ B., **BARTÁKOVÁ A.,** ROB L., ŠKAPA P., HRUDA M., BOUDA J., VODIČKA P., SOUČEK P. Markery progresu a vzniku metastáz u ovariálního karcinomu sledované na základě genových expresních profilů, *Plzeňský lékařský sborník*, 81, 2015:39-55

PRESL J., ŠEFRHANSOVÁ L., SEDLÁKOVÁ I., VLASÁK P., BOUDA J., **BARTÁKOVÁ A.,** NOVOTNÝ Z., Možnosti předoperační predikce biologického chování gynekologických pánevních tumorů, *Aktuální Gynekologie a Porodnictví* 2014, 6, 53 – 59

BARTÁKOVÁ A., PRESL J., VLASÁK P. NOVOTNÝ Z., BOUDA J., Nádorové kmenové buňky – možnost cílené terapie karcinomu ovaria?, Plzeňský lékařský sborník 80, 2014: 63-66

VLASÁK P., PRESL J., BOUDA J., **BARTÁKOVÁ A.**, NOVOTNÝ Z., Topolčan O. Předoperační diagnostika ovariálních nádorů a management pacientek s primárně inoperabilním maligním nádorem vaječníku, Plzeňský lékařský sborník 80, 2014: 67-80

9.1.3. Publikované abstrakty

ELSNEROVA K., MOHELNIKOVA-DUCHONOVA B., EHRLICHOVA M., GUT I., **BARTAKOVA A.**, ROB L., SKAPA P., HRUDA M., BOUDA J., VODICKA P., SOUCEK P., VACLAVIKOVA R.. Genetic biomarkers of prognosis of gynecological carcinomas. International Journal of Molecular Medicine. 2016. 38 (1) p. S42-S42. **IF 2,348**

VACLAVIKOVA R., ELSNEROVA K., MOHELNIKOVA-DUCHONOVA B., EHRLICHOVA M., ROB L., SKAPA P., HRUDA M., **BARTAKOVA A.**, BOUDA J., VODICKA P., VODICKOVA L., SOUCEK P. Significance of molecular markers in ovarian carcinoma: Implications for prognosis and disease progression. International Journal of Molecular Medicine, 2016. 38 (1), p. S45-S45. **IF 2,348**

VACLAVIKOVA, R., ELSNEROVA K., MOHELNIKOVA-DUCHONOVA B., EHRLICHOVA M., HLAVAC V., GUT I., ROB L., SKAPA P., **BARTAKOVA A.**, BOUDA J., SOUCEK P. New candidate genetic markers associated with prognosis and clinical characteristics of epithelial ovarian cancer. International Journal of Gynecological Cancer. 2015. 25 (2), p. 571-571. **IF 2,116**

PRESL, J., SLUNECKO, R., VLASAK, P., BOUDA, J., **BARTAKOVA, A.**, NOVOTNY, Z. Is liquid-based hysteroscopic fallopian tube brush cytology the future of screening of ovarian and fallopian tube cancer in high-risk women? International Journal of Gynecological Cancer 2014 Vol. 24, No. 8, pp. 82-82. **IF 2,116**

9.2. Publikace přímo nesouvisející s tématem dizertační práce

9.2.1. Články publikované v recenzovaných časopisech bez IF

PEŠEK M., KINKOROVÁ I., FERKO R., ŮRGEOVÁ A., BOUDA J., Význam stanovení proteinu P16 v managementu prekanceróz děložního hrdla, Čes. Gynek.2013, 78, č. 2 s. 195-199

9.2.2. Publikované abstrakty

BOUDA, J., PESEK, M., KINKOROVA, I., FERKO, R., URGEOVA, A., PRESL, J. Prognostic value of p16 evaluation in the management of cervical dysplasia. International Journal of Gynecological cancer, 2013 23, No. 8 **IF 2,116**

10. PŘÍLOHY

Příloha 1: BARTAKOVA A., ONDIC O., PRESL J., VLASAK P., BOUDA J., Oligodendroglioma Originating in Mature Cystic Teratoma, *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2016 Feb;36(2):269-70.

Příloha 2: ELSNEROVA K, MOHELNIKOVA-DUCHONOVA B, CEROVSKA E, EHRLICHOVA M, GUT I, ROB L, SKAPA P, HRUDA M, BARTAKOVA A, BOUDA J, VODICKA P, SOUCEK P, VACLAVIKOVA R. Gene expression of membrane transporters: Importance for prognosis and progression of ovarian carcinoma. *Oncology Reports*. 2016 Apr;35(4):2159-70.

Příloha 3: BARTÁKOVÁ A., PECKOVÁ K., DAUM O., BOUDA J., Detekce nádorových kmenových buněk karcinomu ovaria, *Česká Gynekologie* 2014, 79, č. 1 s. 7-11

Příloha 4: ÜRGEOVÁ A., PITULE P., ČEDÍKOVÁ M., BOUDA J., Nádorové kmenové buňky u karcinomu ovaria, *Praktická Gynekologie* 2012; 16(1): 42-44

Příloha 5: VÁCLAVÍKOVÁ R., ELSNEROVÁ K., MOHELNÍKOVÁ – DUCHOŇOVÁ B., BARTÁKOVÁ A., ROB L., ŠKAPA P., HRUDA M., BOUDA J., VODIČKA P., SOUČEK P. Markery progrese a vzniku metastáz u ovariálního karcinomu sledované na základě genových expresních profilů, *Plzeňský lékařský sborník*, 81, 2015:39-55

Příloha 6: PRESL J., ŠEFRHANSOVÁ L., SEDLÁKOVÁ I., VLASÁK P., BOUDA J., BARTÁKOVÁ A., NOVOTNÝ Z., Možnosti předoperační predikce biologického chování gynekologických pánevních tumorů, *Aktuální Gynekologie a Porodnictví* 2014, 6, 53 – 59

Příloha 7: BARTÁKOVÁ A., PRESL J., VLASÁK P. NOVOTNÝ Z., BOUDA J., Nádorové kmenové buňky – možnost cílené terapie karcinomu ovaria?, *Plzeňský lékařský sborník* 80, 2014: 63-66

Příloha 8: VLASÁK P., PRESL J., BOUDA J., BARTÁKOVÁ A., NOVOTNÝ Z., Topolčan O. Předoperační diagnostika ovariálních nádorů a management pacientek s primárně inoperabilním maligním nádorem vaječníku, *Plzeňský lékařský sborník* 80, 2014: 67-80

Příloha 9: ELSNEROVA K, MOHELNIKOVA-DUCHONOVA B., EHRLICHOVA M., GUT I, BARTAKOVA A., ROB L., SKAPA P., HRUDA M., BOUDA J., VODICKA P., SOUCEK P., VACLAVIKOVA R.. Genetic biomarkers of prognosis of gynecological

carcinomas. International Journal of Molecular Medicine. 2016. 38 (1) p. S42-S42. IF 2,348

Příloha 10: VACLAVIKOVA R., ELSNEROVA K., MOHELNIKOVA-DUCHONOVA B., EHRLICHOVA M., ROB L., SKAPA P., HRUDA M., BARTAKOVA A., BOUDA J., VODICKA P., VODICKOVA L., SOUCEK P. Significance of molecular markers in ovarian carcinoma: Implications for prognosis and disease progression. International Journal of Molecular Medicine, 2016. 38 (1), p. S45-S45. IF 2,348

Příloha 11: VACLAVIKOVA, R., ELSNEROVA K., MOHELNIKOVA-DUCHONOVA B., EHRLICHOVA M., HLAVAC V., GUT I., ROB L., SKAPA P., BARTAKOVA A., BOUDA J., SOUCEK P. New candidate genetic markers associated with prognosis and clinical characteristics of epithelial ovarian cancer. International Journal of Gynecological Cancer. 2015. 25 (2), p. 571-571. IF 2,116

Příloha 12: PRESL, J., SLUNECKO, R., VLASAK, P., BOUDA, J., BARTAKOVA, A., NOVOTNY, Z. Is liquid-based hysteroscopic fallopian tube brush cytology the future of screening of ovarian and fallopian tube cancer in high-risk women? International Journal of Gynecological Cancer 2014 Vol. 24, No. 8, pp. 82-82. IF 2,116

Příloha 13: PEŠEK M., KINKOROVÁ I., FERKO R., ÜRGEOVÁ A., BOUDA J., Význam stanovení proteinu P16 v managementu prekanceróz děložního hrdla, Čes. Gynek.2013, 78, č. 2 s. 195-199

Příloha 14: BOUDA, J., PESEK, M., KINKOROVA, I., FERKO, R., URGEOVA, A., PRESL, J. Prognostic value of p16 evaluation in the management of cervical dysplasia. International Journal of Gynecological cancer, 2013 23, No. 8 IF 2,116

Příloha 15: Pilot study of the Lavage of the Uterine cavity for the Diagnosis of Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma – LUSTIC Study - protokol probíhající studie

Příloha 16: Predictive importance of genetic landscape of molecular subtypes of ovarian cancer – protokol probíhající studie