

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Hana Machková

**UNIVERZITA PARDUBICE**  
**FAKULTA CHEMICKO – TECHNOLOGICKÁ**

**Nové možnosti terapie ovariálního karcinomu**

**Hana Machková**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**2020**

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Hana Machková**  
Osobní číslo: **C18253**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Nové možnosti terapie ovariálního karcinomu**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Vypracujte literární rešerši obsahující:

1. Etiopatogenezi, symptomatologii a diagnostiku karcinomu ovaria.
2. Terapii, mechanismy vzniku chemorezistence a prognózu vývoje onemocnění.
3. Nové možnosti terapie karcinomu ovaria - blokáda angiogeneze, imunoterapie, inhibitory transdukčních kaskád atd.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Karel Královec, Ph.D.**

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **21. prosince 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Hana Machková

## **Poděkování:**

Na tomto místě bych chtěla poděkovat RNDr. Karlu Královi Ph.D. za odborné vedení mé bakalářské práce, za jeho vstřícnost a trpělivost. Dále děkuji své rodině, přátelům a kolegyním za podporu.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se zaměřuje na využití nových poznatků v léčbě ovariálního karcinomu. V práci jsou shrnuty současné poznatky o etiopatogenezi, symptomatologii a diagnostice karcinomu ovaria. Práce se dále věnuje jak standardní, tak cílené léčbě ovariálního karcinomu, včetně problematiky vzniku chemorezistence a následné prognózy onemocnění. Detailně jsou zde popsány zejména možnosti cílené léčby, které zahrnují inhibici angiogeneze, imunoterapii a v neposlední řadě také inhibici transdukčních kaskád spojených s karcinomem ovaria.

**Klíčová slova:** ovariální karcinom, léčba, inhibice angiogeneze, imunoterapie, inhibice signální transdukce

## **ANNOTATION**

This bachelor thesis focuses on the application of new knowledge for the treatment of ovarian cancer. The thesis summarizes current knowledge about the etiopathogenesis, symptomatology and diagnosis of ovarian cancer. It also deals with both standard and targeted treatment of ovarian cancer, including the issue of chemoresistance and subsequent prognosis. In particular, targeted treatment options are described in detail here, which include inhibition of angiogenesis, immunotherapy and, last but not least, inhibition of transduction cascades associated with ovarian cancer.

**Keywords:** ovarian cancer, treatment, inhibition of angiogenesis, immunotherapy, inhibition of signal transduction



# OBSAH

1. Úvod.....	- 12 -
2. Karcinom ovaria .....	- 13 -
2.1 Vznik.....	- 13 -
2.1.1 Vývoj metastáz.....	- 14 -
2.2 Klinické příznaky .....	- 15 -
2.3 Diagnostika .....	- 15 -
2.3.1 Algoritmus pro hodnocení karcinomu ovaríí .....	- 16 -
3. Klasifikace a histopatologie .....	- 18 -
3.1 Klasifikace dle TNM a FIGO.....	- 19 -
4. Terapie karcinomu ovaríí.....	- 20 -
4.1 Chirurgický zákrok s konkomitantní chemoterapií.....	- 20 -
4.1.1 Primární chemoterapie .....	- 20 -
4.1.2 Sekundární chemoterapie .....	- 21 -
4.2 Radiologická léčba.....	- 21 -
4.3 Hormonální léčba.....	- 21 -
5. Sledování léčby .....	- 22 -
5.1 CA 125 .....	- 22 -
5.2 HE4 .....	- 22 -
6. Vznik chemorezistence.....	- 24 -
6.1 Přirozená a získaná chemorezistence.....	- 24 -
6.2 Zkřížená chemorezistence.....	- 25 -
6.3 Výzkum mikroRNA.....	- 26 -
7. Prognóza.....	- 28 -

8. Nové metody v léčbě karcinomu ovaria.....	- 29 -
8.1 Blokáda angiogeneze .....	- 29 -
8.1.1 Úloha VEGF a jeho receptorů.....	- 29 -
8.1.2 Inhibice matrix metaloproteináz (MMP) .....	- 30 -
8.2 Imunoterapie .....	- 31 -
8.2.1 Peptidové vakcíny .....	- 32 -
8.2.2 Vakcíny založené na protilátkách.....	- 32 -
8.2.3 Nádorové vakcíny .....	- 33 -
8.2.4 Cytokiny.....	- 33 -
8.2.5 Proteiny tepelného šoku .....	- 33 -
8.2.6 Vakcíny z dendritických buněk .....	- 34 -
8.2.7 Adoptivní T-buněčná terapie .....	- 35 -
8.3 Inhibitory transdukčních kaskád .....	- 37 -
8.3.1 Dráha PI3K/Akt/mTOR .....	- 37 -
8.3.1.1 Inhibitory PI3K .....	- 37 -
8.3.1.2 Inhibitory protein kinázy B/Akt.....	- 38 -
8.3.1.3 Inhibitory mTOR.....	- 38 -
8.3.2 Dráha RAS/ERK.....	- 40 -
8.3.2.1 RAS a jeho PARP inhibitory.....	- 41 -
8.3.2.2 ERK a jeho inhibitory .....	- 42 -
9. Závěr.....	- 43 -
10. SEZNAM POUŽITÉ LITERATUTY .....	- 45 -

## SEZNAM ZKRATEK

Akt	Protein kináza B
AMPK	5'adenosin monofosfát kináza
APC	Antigen prezentující buňka
ATP	Adenosin trifosfát
Bcl-2	Protein blokující apoptózu (B-cell lymphoma 2)
BRCA I, BRCA II	Gen 1 a 2 pro familiární karcinom prsu/vaječníku
CA 125	Nádorový antigen 125, jiný název MUC-16
DDP	Diaminedichloroplatinum cisplatina
DSBs	Dvouvláknové zlomy (double strand breaks)
ECM	Extracelulární matrix
EMT	Epiteliálně mezenchymální tranzice
ERK	Extracelulární regulované kinázy
FIGO	Mezinárodní federace gynekologie a porodnictví
FK506	Takrolimus, Prograf
FSH	Folikulostimulační hormon
GM-CFS	Granulocyty-makrofágy-kolonie stimulující faktor
GTP	Guanosintrifosfát
HE4	Lidský epididymální protein 4
HER2/neu	Lidský epidermální receptor 2
HMFG1	Protilátka proti MUC-1
HSP	Protein tepelného šoku
INF- $\gamma$	Interferon-gama
IRS-1	Inzulínový receptorový substrát 1
LD	Laktátdehydrogenáza
LH	Luteinizační hormon
MET	Mezenchymálně epiteliální tranzice
MHC	Hlavní histokompatibilní komplex
MMPs	Matrix metaloproteinázy
mTOR	Savčí cíl rapamycinu
MUC-1	Epiteliální membránový antigen
NY-ESO-1	Jícnový karcinom z dlaždicových buněk 1

p53	Protein, transkripční faktor zabraňující vzniku nádoru
PARP	Poly (ADP-ribosa) polymeráza
PD-1	Membránový protein programované buněčné smrti
PFS	Přežití bez progresu
PI3K	Fosfositid – 3 – kináza
PTEN	Homolog fosfatázy a tensinu
RAS	Homolog virového onkogenu krysího sarkomu
ROMA score	Algoritmus pro riziko vzniku maligního ovariálního karcinomu
sialyl-TN	Nádorem asociovaný karbohydrát
SSBs	Jednovláknové zlomy (single strand breaks)
TAA	Tumorem asociované antigeny
TAG-72	Tumorem asociovaný glykoprotein 72
TGF- $\beta$	Transformující růstový faktor- $\beta$
TIL	Tumor infiltrující lymfocyty
TIMP	Tkáňové inhibitory metalloproteináz
TNM	Klasifikace zhoubných nádorů
Treg	Regulující lymfocyty
TSA	Specifické nádorové antigeny
VEGF	Vaskulární endoteliální růstový faktor
$\beta$ -hCG	Lidský choriový gonadotropin

# 1. Úvod

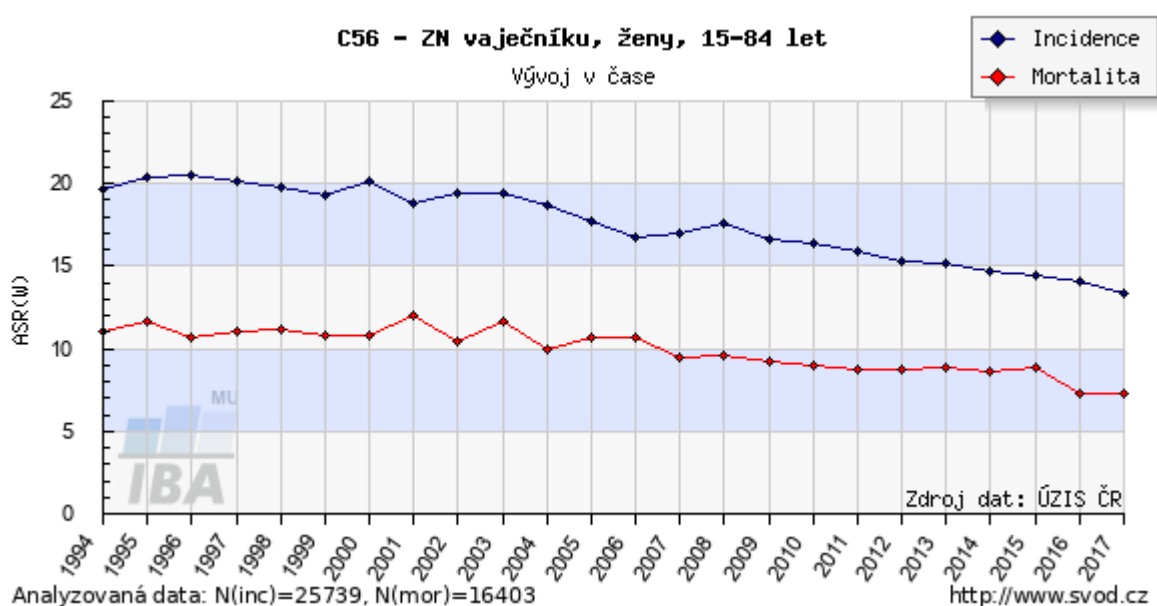
Předložená práce se věnuje problematice ovariálního karcinomu, jedná se o onemocnění postihující vaječníky. Vaječník (latinsky ovarium) je vejčitý párový pohlavní orgán ženy, nacházející se na bočních stěnách pánevní dutiny. Vaječníky mají důležité funkce, především produkci pohlavních hormonů, regulaci menstruačního cyklu a slouží jako zásobárna pohlavních buněk (Kachlík, 2018).

V současnosti bohužel stále není znám jednoznačný marker, který by odhalil ovariální karcinom v časném stádiu, proto je důvěra vkládána do studie nových léčebných postupů, které využívají především molekulární biologii a patologii nádorových buněk. Souhrnně používáme pojem cílená léčba. Tato práce se zabývá možnostmi cílené léčby. Například angiogenní terapií nebo imunologickými metodami léčby. Doposud nejméně využívaným postupem v cílené terapii ovariálního karcinomu je inhibice transdukčních kaskád. Důvodem jsou nejasné souvislosti mezi jednotlivými signálními dráhami a také toxické účinky užitých inhibitorů.

Cílem této bakalářské práce je tedy podat detailní přehled o etiopatogenezi, symptomatologii, diagnostice a terapii karcinomu ovaria. Práce je zaměřena především na nové možnosti terapie využívající blokádu angiogeneze, imunoterapii a inhibici transdukčních kaskád.

## 2. Karcinom ovaria

Nádory vaječníku tvoří asi 15 % všech zhoubných nádorů u žen. Celosvětově je karcinom ovaria jednou z nejčastějších příčin úmrtí. Onemocnění se nejčastěji vyskytuje u žen po 50. roce věku, ale výjimečně může být nalezeno i u žen do věku 30.let. Každoročně tímto nádorem onemocní v ČR až 1000 žen. V roce 2016 se v ČR diagnostikovalo celkem 998 nových případů karcinomu ovaria, což vypovídá o incidenci 18,58 onemocnění na 100 000 žen. Mortalita tedy byla 11,69 na 100 000 žen, což je 628 úmrtí. Ačkoliv jde o páté nejčastější nádorové onemocnění u žen, tak dle níže přiloženého grafu můžeme usoudit, že s každým rokem jak incidence, tak mortalita tohoto onemocnění klesá (Presl a kol., 2018).



Obrázek 1 – incidence a mortalita karcinomu ovaria v ČR(1994-2017) (online: svod.cz)

### 2.1 Vznik

U 20% pacientek se odhaduje, že onemocnění je na geneticky dědičném podkladě. Jedná se o mutace genu 1 a 2 pro familiární karcinom prsu/vaječníku BRCA I – (Breast cancer antigen I) a BRCA II – (Breast cancer antigen II), které mohou zvýšit i riziko rakoviny prsu. Oba geny jsou autozomálně dominantní. To znamená, že gen se přenáší oběma pohlavími. Ale někteří členové rodiny i přes přítomnost genu nemusí onemocnět (Soukupová a kol., 2019).

Vznik může být podmíněn i rizikovými faktory, které se vážou na expozici ženských pohlavních hormonů gonadotropinů, a to luteinizačního hormonu (LH) a folikulostimulačního hormonu (FSH). Jednoznačným rizikovým faktorem pro vznik karcinomu ovaria je počet ovulací. Při ovulaci vzniká mikrotrauma povrchového epitelu, který může být potom dále ovlivňován vyššími hladinami estrogenů (Bouda a kol., 2018).

Dalšími rizikovými faktory může být třeba kouření. Naopak ke snížení rizika výskytu může přispívat podávání hormonální antikoncepce, a to podle některých studií až o 40 %, což je opět spojeno s redukcí počtu ovulací. Pro znázornění dlouhodobého charakteru působení antikoncepce, je níže uvedena tabulka 1. Záleží na délce užívání. Podle studie je redukce rizika (RR) obecně u žen beroucí hormonální antikoncepci 5-10 let 0,75, při užívání nad 10 let pak 0,62. Bylo prokázáno, že už po 1 roce užívání hormonální antikoncepce se riziko redukce snižuje asi o 4%. Redukce je zjištěna také u pacientek, u kterých byl prokázán antigen BRCA 1 nebo (i) BRCA 2 (Burkman a kol., 2004).

Tabulka 1: Dlouhodobý charakter působení antikoncepce po ukončení užívání je uveden v následujícím přehledu (upraveno z: Burkman a kol., 2004):

<b>Redukce rizika (RR)</b>	<b>Doba po ukončení</b>
0,1	u žen stále užívající HAK
0,3	do 10 let od vysazení HAK
0,7	po 10 letech od vysazení HAK
0,58	do 20 let od vysazení HAK
0,92	nad 20 let od vysazení HAK

### 2.1.1 Vývoj metastáz

Mechanismů vzniku metastáz je mnoho. U ovariálního karcinomu to může být spojeno například s epiteliálně mezenchymální transicí (EMT) nebo rakovinnými kmenovými buňkami. V případě EMT se uplatňují procesy dediferenciace a rediferenciace, což představuje ztrátu specifity, současně se změnami produkce markerů, které jsou typické pro epiteliální a mezenchymální buňky (např. vimentin, N-cadherin). Buňky epiteliální jsou těsně spojeny s buňkami sousedními a mají způsobilost pro exocytózu, endocytózu a vezikulární transport. Mezenchymální buňky jsou však schopné migrovat, a to kvůli své odlišné polarizaci. To dává příčinu tomu, proč je změna z buňky epiteliální na mezenchymální spojena s tvořením metastáz. Buňky ovariálního karcinomu, které hrají roli v EMT, jsou nazývány SCOV-3 nebo SCOV-3/DDP (diaminedichloroplatinum cisplatina), které jsou rezistentní na léčbu platinovými preparáty. Tato buněčná linie rakoviny vaječnicků je odvozená z ascitu 64leté ženy s diagnostikovaným serózním cystadenokarcinomem (Fogh, Fogh a Orfeo, 1977).

Při vzniku rakovinných kmenových buněk se uplatňují procesy ztrát jejich specifických účinků, a proto jsou mohou mít spojitost i s předchozím příkladem vzniku. Typické markery rakovinných buněk ovariálního karcinomu jsou CD133+, CD117+, CD44+, CD24- (Záveský, Jančárková a Kohoutová, 2011).

- CD133+ – antigen, známý jako prominin-1, je transmembránový glykoprotein hematopoetických kmenových buněk, který je u lidí kódován genem PROM1 (Suetsugu a kol., 2006).
- CD117+ – transmembránový tyrosin-kinázový receptor, lokalizovaný u lidských novotvarů (Harris a kol., 2017).
- CD44+ – hlavní receptor pro polysulfát kyseliny hyaluronové (Madjd a kol., 2009; Fagan-Solis a kol., 2014).
- CD24- – antigen proteinové povahy zajišťující adhezi buněk (Puré a Cuff, 2001).

## 2.2 Klinické příznaky

Pacientky s tímto onemocněním mají často počáteční stádia bezpříznakové, protože ovaria mají v břišní dutině dost prostoru k růstu, a to bez útlaku. U 75% pacientek se příznaky objevují až v pokročilejším stádiu. Postižené pacientky měly pocit tlaku v břiše, bolesti břicha, nauzea, nadměrnou únavu, zvětšování objemu břicha, ascites nebo trombózu. V pokročilejších stádiích se často setkáváme s postižením mízních uzlin (Suetsugu a kol., 2006).

Jen zřídka bývá onemocnění podchyceno v raném stádiu, výjimečně je objeveno při chirurgickém zákroku, který nesouvisí s karcinomem. Onemocnění je zpravidla zjištěno ve III. nebo dokonce až ve IV. stádiu.

## 2.3 Diagnostika

Při zjišťování příčiny potíží se diagnostika opírá o gynekologické vyšetření a laboratorní testy. Ženy, které mají příznaky spojené s nádorem ovarií by měly podstoupit fyzikální vyšetření spojené s běžnou gynekologickou prevencí, transvaginální ultrasonografií a měření biomarkerů jako je například CA125 – (nádorový antigen 125) a HE4 – (lidský epididymální protein 4). Přehled zobrazovacích metod používaných k diagnostice ovariálního karcinomu a jejich výhody či nevýhody najdeme v tabulce 2.

Podle nejednoho výzkumu bylo zjištěno, že u postižených karcinomem ovarií byla CA 125 v normě, tedy mezi hodnotami 0-35 kU/l, kdežto hodnota HE4 byla mimo hodnoty, vyšší než 70 pmol/l (u žen před menopauzou) nebo vyšší než 140 pmol/l (u žen po menopauze). Pokud se tedy ukáže, že jsou výsledky suspektní, pacientka by měla být předána do rukou onkologických odborníků a podrobena dalšímu vyšetření (*převzato online z: fnhk.cz/ukbd*).



Tabulka 2: Přehled výhod a nevýhod zobrazovacích technik při diagnostice maligních a benigních nádorů (upraveno z: Fischerová a kol., 2012).

Zobrazovací metoda	Výhody	Nevýhody
Ultrazvukové vyšetření (UZ)	Běžně dostupná, levná metoda s vhodným tkáňovým rozlišením. Není nutná příprava pacientky ani lačnění, bez radiační zátěže. Doba vyšetření (15 minut). Možnost zobrazení ve 3 rovinách (3dimenzionální, 3D zobrazení) a biopsie navigované ultrazvukem.	Závislost na erudici vyšetřujícího, habitu pacientky (obezita) a kvalitě přístrojového vybavení.
Magnetická rezonance (MR)	Vysoký tkáňový kontrast, zobrazení ve 3 rovinách, bez rizika radiační zátěže.	Široké kontraindikace metody (kardiostimulátor, kochleární a feromagnetické kovové implantáty). Cena, dostupnost, časová náročnost (trvání vyšetření 30-45 minut). Nutnost podání kontrastní i. v. látky (cheláty Gadolinia) s rizikem alergické reakce. Není zatím běžně dostupné celotělové MR.
Počítačová tomografie (CT)	Rychlé vyšetření (desítky sekund) s velkým rozsahem zobrazení (plíce-břicho-pánev). Dobré prostorové rozlišení. Lepší dostupnost než MR. Možnost intervencí pod CT kontrolou.	Malý kontrast měkkých tkání. Radiační zátěž. Nutné lačnění, plný močový měchýř, zavedení poševního tampónu. Perorální příprava, nutnost i. v. podání jodových kontrastních látek s rizikem nežádoucích reakcí. Artefakty z kovových materiálů
Pozitronová emisní tomografie ve fúzi s CT (PET/CT)	Vysoká detekční schopnost v rámci celotělového scanu	Nutná fúze s CT vyšetřením k upřesnění lokalizace nálezu přináší stejné nevýhody jako CT vyšetření. Navíc i. v. aplikace radiofarmaka. Časová náročnost vyšetření (30-60 minut). Horší dostupnost a vysoká cena vyšetření. Vysoká fyziologická akumulace radiofarmaka v CNS a uropoetickém traktu. Limitace při dekompenzovaném diabetu.

### 2.3.1 Algoritmus pro hodnocení karcinomu ovarií

Pro včasný záchyt jsou screeningové testy, včetně rutinních pánevních vyšetření neefektivní. Nicméně, výzkum však ukázal, že spojením pravidelného měření markeru CA125 a transvaginální ultrasonografie lze stanovit algoritmus, na základě kterého může být zachyceno časně stádium nemoci nebo dokonce nemoc podchycena ještě před samotným začátkem (Doubeni a kol., 2016).

Žena často mívá symptomy ovariálního karcinomu, mezi které zahrnujeme nadýmání, obtížné přijímání potravy, nebo častý pocit plnosti, pánevní bolesti, bolest zad a časté močení i bez ostatních obtíží. Zřídka rakovinu vaječníků signalizuje supraklavikulární lymfadenopatie, což je syndrom se zduřením krčních uzlin, nádor uzliny nebo paraneoplastické syndromy. Pacientka je s obtížemi odeslána k odborníkovi, který zjišťuje historii rodinné a osobní anamnézy, genetická rizika a provádí fyzické vyšetření břišní a pánevní oblasti. U fyzického

vyšetření by pacientka měla mít vyprázdněn močový měchýř, aby nedošlo ke špatnému provedení vyšetření a zkresleným závěrům. Pokud má lékař podezření, že by se mohlo jednat o rakovinu vaječníků, je žena podrobena transvaginální ultrasonografii a dalším screeningovým vyšetřením, jakými jsou například sérová hladina CA125. Krevní obraz a krevní nádorové markery jako je inhibin A/B,  $\alpha$ -fetoprotein,  $\beta$ -lidský choriiový gonadotropin ( $\beta$ -hCG) nebo laktátdehydrogenáza (LD). Dalšími využívanými zobrazovacími metodami jsou počítačová tomografie nebo magnetická rezonance. Jsou-li výsledky abnormální a vykazují podezření na karcinom ovarií je pacientka předána do onkogynekologických rukou, kde dojde k hodnocení a diagnostice nálezu s následnou možností operativních zákroků. Definitivní indikací pro odeslání na onkogynekologii je (Doubeni a kol., 2016):

- u premenopauzálních žen – hladina CA125 vyšší než 200 U/ml, ascites, důkazy o břišní nebo vzdálené metastázi, nebo vysoce rizikové procento dědičnosti z rodinné anamnézy
- u postmenopauzálních žen – zvýšená hladina CA125, ascites, nodulární nebo pánevní nálezy, důkazy o břišní nebo vzdálené metastázi nebo vysoce rizikové procento dědičnosti z rodinné anamnézy

V případě, že žena nevykazuje symptomy či příznaky nádoru vaječníků, ale spadá do skupiny s rizikovou rodinnou anamnézou, tak je jí doporučeno genetické vyšetření mutace genu BRCA I/BRCA II. V případě zjištění mutace je opět odeslána na onkologickou gynekologii s možností chirurgických zákroků. Konkrétně v tomto případě doktor musí zvážit faktory jako jsou věk a také, jestli žena již má, nebo se snaží o potomstvo. Jinak pokud by žena bez jakýchkoliv fyzických nálezů podstoupila operaci, jednalo by se o doporučené preventivní opatření.

Důležitá je také prevence a sledování možných změn. Například ženy, které měly v rodinné anamnéze rakovinu, jsou vyšetřené na již zmíněné mutace genů. V případě negativního výsledku jsou stále pod odborným dohledem, a může jim být nabídnuta hormonální antikoncepce jako prostředek možné ochrany nejen před otěhotněním, ale také ochrana právě proti rakovině vaječníků. Stejně tak se nabízí i ženám, které měly fyzické obtíže spojené se znaky karcinomu, ale nejevily se jako podezřelé, pacientky na negativní nálezy transvaginálního ultrasonografu a sérové hladiny CA125 anebo pacientky bez jakýchkoliv obtíží.

### 3. Klasifikace a histopatologie

Ovariální nádory se z klinického hlediska dělí na dvě velké skupiny – na epitelální a neepitelální nádory. Zdrojem nádorového bujení může být jakýkoliv buněčný typ, nacházející se ve tkáni ovarií. Epitelální nádory představují až 90% malignit ovarií. Podrobnější histopatologické dělení nádorů je uvedeno níže v tabulce 3.

Tabulka 3: Histopatologické dělení nádorů vaječníků (upraveno z: Adam, Vaníček a Vorlíček, 2004).

<b>Epitelální nádory vaječníků:</b>	<b>Neepitelální nádory vaječníků</b>	
	<b>Nádory z germinálních buněk:</b>	<b>Nádory ze zárodečných pruhů</b>
serózní cystadenokarcinom		
mucinózní karcinom	Dysgerminom	nádory z buněk granulózy
endometroidní karcinom	nádor ze žloutkového váčku	thekom
nádory z jasných buněk – clear cell nádory	maligní teratomy	fibrom
Brennerův tumor – nádor z přechodných buněk	nezralý teratom, smíšené nádory ze zárodečných buněk	arenoblastom
smíšené epitelální nádory	zralý teratom se známkami maligního zvrhnutí	gynandroblastom
spinocelulární nádory	maligní struma ovarii	
nediferencované karcinomy	karcinoid, stromální karcinoid	
metastatické nádory	embryonální karcinom, polyembryom, choriokarcinom	

### 3.1 Klasifikace dle TNM a FIGO

Následující Tabulka 3 představuje celosvětový systém hodnocení onemocnění, podle kterého jsou dále voleny postupy pro další terapii.

Tabulka 4: TNM 2017 a FIGO 2019 klasifikace pro nádory vaječníku, vejcovodu a primární peritoneální karcinom (Upraveno z: TNM klasifikace zhoubných nádorů, 8 vydání, 2018).

TNM 2017 stádia	Subkategorie TNM	FIGO 2009	Definice
TX			Primární nádor nelze hodnotit
T1		I	Nádor omezen na vaječník (jeden nebo oba) nebo vejcovod(y)
	T1a	IA	Nádor omezen na jeden vaječník; pouzdro intaktní, žádný nádor na povrchu vaječníku nebo vejcovodu; v ascitu/peritoneálním výplachu nejsou žádné maligní buňky
	T1b	IB	Nádor omezen na oba vaječníky nebo vejcovody; pouzdro intaktní, žádné známky nádoru na povrchu vaječníků nebo vejcovodů; v ascitu/peritoneálním výplachu nepřítomny maligní buňky
	T1c	IC	Nádor omezen na jeden nebo oba vaječníky nebo vejcovody s čímkoliv následujícím
	T1c1		Narušení pouzdra nádoru – rozsev způsobený chirurgickým výkonem
	T1c2		Ruptura pouzdra nádoru před chirurgickým zákrokem nebo nádor na povrchu vaječníku nebo vejcovodu
	T1c3		Nádorové buňky v peritoneálním výplachu nebo v ascitu
T2		II	Nádor postihuje jeden či oba vaječníky nebo vejcovody, se šířením v pánvi (pod linea terminalis), nebo primární peritoneální karcinom
	T2a	IIA	Šíření a/nebo implantace na dělohu a/nebo vejcovod(y) a/nebo vaječník(y)
	T2b	IIB	Šíření na jiné pánevní tkáně včetně střeva v rámci pánve
T3 a/nebo N1		III	Nádor postihuje jeden nebo oba vaječníky nebo vejcovody nebo primární peritoneální karcinom s mikroskopicky potvrzeným peritoneálním šířením mimo pánev a/nebo metastázy v retroperitoneálních mizních uzlinách
N1			Metastázy pouze v retroperitoneálních uzlinách
	N1a	IIIA1i	Metastázy v mizní uzlině ne více než 10 mm v největším rozměru
	N1b	IIIA1ii	Metastázy v mizní uzlině více než 10 mm v největším rozměru
	T3a a jakékoliv N	IIIA2	Mikroskopické mimopánevní (nad linea terminalis) peritoneální postižení s nebo bez postižení retroperitoneálních mizních uzlin, včetně postižení střeva
	T3b a jakékoliv N	IIIB	Makroskopické peritoneální metastázy pod linea terminalis 2 cm nebo méně v největším rozmětu, včetně postižení střeva mimo pánev s nebo bez retroperitoneálních uzlin
	T3c a jakékoliv N	IIIC	Peritoneální metastázy pod linea terminalis větší než 2 cm v největším rozmětu a/nebo metastázy v retroperitoneálních mizních uzlinách (zahrnuje šíření nádoru do pouzdra jater a sleziny bez šíření do parenchymu těchto orgánů)
M1		IV	Vzdálené metastázy mimo peritoneální metastázy
	M1a	IVA	Pleurální výpotek s pozitivním cytologickým nálezem
	M1b	IVB	Parenchymové metastázy a metastázy do mimobřišních orgánů (včetně inguinálních mizních uzlin a mizních uzlin mimo břišní dutinu)

## 4. Terapie karcinomu ovarii

Možností léčby onemocnění je několik. Postup je však závislý na základních prognostických faktorech jako je klinické stádium, histologický typ, grading a operační nález (ascites, laváž, ruptura pouzdra, pooperační reziduum). Primární cestou stále bývá chirurgický zákrok, kdy se odstraní makroskopicky patrné ložisko (Doubení a kol., 2016).

Provádí se chirurgická cytoredukce, která je kurativním řešením onemocnění, zasahuje do plodnosti a většinou zahrnuje až odejmutí pohlavních orgánů (děloha, vaječníky).

Pak je tu možnost jednostranné salpingooforektomie. Šetrnější operace, která se využívá v raném stádiu invazivního epiteliálního karcinomu, tedy u lézí s histologicky abnormálními buňkami, které ale mají nízkou potencionální malignitu. V tomto případě je děloha zachována a zasahuje se do postiženého vaječníku. Buď se odebírá jeden anebo oba vaječníky.

Nasazení chemoterapeutických léků může být jak předoperačně (neoadjuvantně) anebo až po chirurgickém zákroku (adjuvantně). Mezi chemoterapeutika využívané v léčbě jsou cisplatina nebo karboplatina, tedy látky na bázi platiny a společně s taxany (paclitaxel, docetaxel) (Suetsugu a kol., 2006; McGee kol., 2017).

### 4.1 Chirurgický zákrok s konkomitantní chemoterapií

Chirurgická léčba jde ruku v ruce s léčbou chemoterapeutickou. Je velké množství faktorů, dle kterých se vybírá nejvhodnější kombinace celkové léčby. Cílem je však vždy, aby chirurgická léčba byla provedena s maximální cytoredukcí nádorové tkáně, protože zbytky nádorového rezidua jsou považovány za nejvýznamnější negativní prognostický faktor.

Chirurgický zákrok však nemusí být v určitých případech primární léčbou karcinomu. Pacientka může být v takovém stavu, kdy operativní postup není možný.

#### 4.1.1 Primární chemoterapie

Pokud je pacientka v celkově špatném stavu, je léčba chemoterapeutiky zahájena ještě neoadjuvantně. Využívá se jí v případech, kdy není možné, aby pacientka aktuálně podstoupila rozsáhlý chirurgický výkon anebo je nemoc již v pokročilejším stádiu, kde zobrazovací techniky poukazují na to, že v případě chirurgického zákroku nebude dosaženo potřebného výsledku při odstranění většiny nádorové tkáně. Tento tzv. inoperabilní stav je zjištěn asi u 30% pacientek s nádorem vaječníku. Po aplikaci platinového preparátu se čeká na odpověď organismu, a v případě kladné reakce je doporučena operace a další postup léčby (Vlasák a kol., 2018).

### **4.1.2 Sekundární chemoterapie**

Po odstranění nádorových ložisek a jejich reziduí je zahájena adjuvantní (pooperační) chemoterapie. Zpravidla se podává kombinace taxanu s platinovým preparátem. Bohužel až v 50% této léčby dochází k recidivě a navíc s opakujícími dávkami chemoterapeutik se tělo stává rezistentním, snižuje se tedy odpověď organismu na léčbu a tím je zkrácena doba do relapsu onemocnění. Slibnou metodou pro snížení mortality i morbidity ovariálního karcinomu je kombinace hypertermické intraperitoneální chemoterapie pro primární i recidivující ovariální karcinomy a chirurgické cytoredukce. Cílem je co nejvyšší eliminace mikroskopických reziduí, a to lokalizovanou chemoterapií a následnou hypertermií, která zvýší její účinnost a zároveň může snížit systémové poškození okolních tkání, které jsou zdravé. Už samotná hypertermie způsobuje denaturaci bílkovin a působí tak na biologickou aktivitu tím, že zamezuje rychlému dělení nádorových buněk. Tento léčebný postup není standardizován a využívá se přísně personalizovaného a individuálního přístupu. Zvláště významný je tento léčebný postup u pacientek s rozsáhlým postižením peritoneální dutiny. Pro kompletní cytoredukci touto komplexní metodou je zásadní správná souhra chirurga a onko/gynekologa (Klos, 2019).

### **4.2 Radiologická léčba**

V současnosti se radiologická terapie využívá v případě, že již byly vyčerpány možnosti standardní chemoterapie (pacientka je chemorezistentní) a chirurgické léčby nebo obou možností. Radioterapie může být také indikována v případě vysoké pravděpodobnosti recidivy onemocnění. Radioterapie probíhá podáním melfalanu a ozařováním břišní dutiny. Při ozařování velké části břišní dutiny však převažuje negativní dopad na ostatní orgány nad přínosem terapie. (Rubin, Sabbatini a Randal, 2006).

### **4.3 Hormonální léčba**

Hormonální léčba se doporučuje BRCA pozitivním ženám, které mají za sebou profylaxní oboustrannou adnexektomii, kdy děloha byla ponechána. Může být indikována i v případě, kdy se již pacientka s rakovinou léčila a byly vyčerpány jiné možnosti léčby, tj. chemoterapie a současně se předpokládá recidiva. Užívá se hormonální substituční estrogen-gestační terapie lékem Tamoxifenem. Spekuluje se, jestli z hlediska profylaxe a redukce rizika dalších BRCA mutacím přidružených nádorových onemocnění nepřipojit i hysterektomii. Odebrání vaječníků vede až k 96% redukce rizika a odstraněním dělohy se může riziko ještě snížit (Presl a kol., 2018).

## 5. Sledování léčby

Při monitorování léčby se využívá hlavně především krevních biochemických testů. Mezi tumor markery, kterými se sleduje účinnost léčby patří antigen CA 125 a bílkovina HE4. Přehled zvýšené tvorby nejsledovanějších tumormarkerů je uveden v tabulce 5.

### 5.1 CA 125

Nádorový antigen 125 (cancer antigen 125) je nádorově nespecifický tumor marker, který produkuje epitel ženského pohlavního traktu. Stanovení je založeno na reakci antigenu s monoklonální protilátkou OC 125. Protilátka se naváže na epiteliální buňky karcinomu ovaria a buňky izolované z ascitické tekutiny pacientek s karcinomem ovaria (Miralles a kol., 2003; Madjd a kol., 2009).

Hladina markeru závisí na velikosti nádoru. U nádoru pod 1 cm se koncentrace nezvyšuje. Nárůst koncentrace markeru může předcházet klinickou diagnózu nádorů až o 8 měsíců. Tento analyt se však primárně nevyužívá k diagnostice nádorů, ale spíše pro sledování léčby. Z fyziologického hlediska se CA 125 zvyšuje v těhotenství, při menstruaci, endometrióze nebo třeba u benigních nádorů ovarií. Patologicky u maligních změn mléčné žlázy, plic či žlučových cest (Montagnana, Benati a Danese, 2017).

### 5.2 HE4

Lidská epididymální bílkovina 4 (HE4) je bílkovina řadící se do skupiny proteinů WFDC (whey acidic four-disulfide core), která zahrnuje kyselé, tepelně stabilní proteiny. Vyskytuje se v plicích, endometriálních, ovariálních a prsních adenokarcinomech. Expres HE4 je ve fyziologické tkáni ovaria velice malá. Fyziologická funkce tohoto markeru není doposud známa, spekuluje se však, že je součástí v systému antiproteáz, i když jeho účinek nebyl – plně prokázán (James, Chichester a Ribeiro, 2018).

Bylo prokázáno, že ve zvýšeném množství je HE4 exprimováno v 93 % serózních, 100% endometriálních a 50 % světlobuněčných ovariálních karcinomů. Ve studii 233 pacientů s pánevními nálezy, včetně 67 s epiteliálním ovariálním karcinomem mělo HE4 vyšší citlivost pro detekci rakoviny vaječnicků, než antigen CA 125. Bylo také zjištěno, že HE4 je zvýšené u více než poloviny pacientek postižených karcinomem ovarií. Současně však pacientky neměly zvýšené hladiny CA 125. To znamená, že kombinace nádorových markerů CA 125 a HE4 poskytuje lepší citlivost pro detekci rakoviny vaječnicků. HE4 se uplatňuje stejně jako antigen CA 125 u monitorování efektu terapie (Jacob a kol., 2011).

Tabulka 5: Přehled zvýšené tvorby tumormarkerů CA 125 a HE4 (upraveno z: Fischerová a kol., 2012).

Benigní vs. maligní onemocnění	Typ onemocnění	CA 125	HE4
		(> 35 U/ml) (%)	(> 150 pmol/l) (%)
<b>Maligní gynekologické onemocnění</b>	Časné stadium OC	54–58	58–74
	Pokročilé stadium OC	80–90	75–80
	Ca ovaria (všechna stadia)	83	79,3
	Ca endometrii	82,4	35,3
	Ca colli uteri	57,2	28,6
<b>Benigní gynekologické onemocnění</b>	Myomy	37,5	0
	Endometrióza	44	0
	Další benigní onemocnění	37	12
Maligní extragenitální onemocnění	Ca plic	24	10
	lymfomy	47	10
Benigní extragenitální onemocnění	Výpotky	80	30–36
	Renální onemocnění	59	85
	Jaterní onemocnění	24	5

### ROMA index

Na základě výpočtu ROMA score (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm), který zahrnuje koncentrace CA 125 a HE4 může být odhadnuto riziko epitelového karcinomu ovaria. Hodnota ROMA score je udávána v procentech a určuje pravděpodobnost přítomnosti karcinomu ovaria, pokud je u pacientky zobrazovací metodou zachycena abnormalita v oblasti ovarií. Výsledné hodnoty koncentrace HE 4 a ROMA score musí být posuzovány také vzhledem k hormonálnímu stavu ženy (Salim a kol., 2018).

Cut off pro premenopauzální a postmenopauzální období se výrazně liší. Důležité je také zmínit, že ROMA score není zavedeno pro ženy mladší 18 let a pacientky, které se dříve již léčily s maligním onemocněním anebo jsou právě léčeny chemoterapií.



## 6. Vznik chemorezistence

I když je úspěšnost u iniciační léčby vysoká a to až 90%, stále dochází k recidivě, především vlivem rezistence k lékům při chemoterapii. Tabulka 6 uvádí dělení mechanismů rezistence a jednotlivé procesy, které vedou ke vzniku chemorezistence. Rezistence dělíme na 3 základní možnosti (Sedláková a kol., 2016):

- Přirozená (primární) chemorezistence
- Získaná (sekundární) chemorezistence
- Zkřížená chemorezistence

Tabulka 6 – Mechanismy chemorezistence (upraveno z: Filipits, 2004).

<b>MECHANISMUS REZISTENCE</b>	<b>INDIVIDUÁLNÍ PROCESY</b>
<b>Buněčné změny</b>	Zvýšené vylučování léčiva z buněk
	Snížená absorpce léčiv
	Prerušení dodávání léčiv do buněk
	Změna cíle léčiva
	Zvýšená detoxikační aktivita
	Zvýšená oprava lékem poškozené DNA
	Blokovaná apoptóza
	poruchy signálních drah
	Změny faktorů podílejících se na regulaci buněčného cyklu
<b>Cytokinetika</b>	Růst nádoru
<b>Farmakokinetika</b>	Slabá absorpce léčiva
	Nadměrný metabolismus
	Špatné pronikání do některých míst
	Krevní zásobování nádoru
	Špatné rozptýlení léčiva

### 6.1 Přirozená a získaná chemorezistence

Pokud dochází k necitlivosti na cytostatika u primární léčby, projevuje se primární neboli přirozená chemorezistence. Známé mechanismy zahrnují snížené dodávání platiny do cílové DNA a selhání buněk při zahájení buněčné smrti v reakci na poškození DNA vyvolané platinou (Etemadmoghadam a kol., 2009).

Sekundární chemorezistence se projevuje až v průběhu opakované léčby cytostatiky. Z počátku jsou buňky na léčbu citlivé, ale postupně ztrácí svou citlivost a stávají se rezistentní. Získaná chemorezistence se vyvíjí v důsledku narušení apoptózových drah. Cisplatina inhibuje

proliferaci buněk vytvářením interstrandové vazby na DNA, která indukuje apoptózu nádorů. Pokud je však toto léčivo podáváno často, nádorové buňky postupně získávají rezistenci na léčivo a snižují protinádorovou aktivitu. Mechanismus pro tuto chemorezistenci nebyl dosud objasněn. Rodina Bcl-2 (B-cell lymfoma 2) proteinů reguluje apoptózu. Některé známé dráhy apoptózy zahrnují mitochondrie. Proteiny Bcl-2 slouží jako nevratný kontrolní bod proti směru od mitochondrií. Oba typy chemorezistence často ústí v chemorezistenci zkříženou (Murata a kol., 2004).

## 6.2 Zkřížená chemorezistence

U této možnosti chemorezistence dochází ke ztrátě citlivosti nejen k jednomu léku, ale postupně i k dalším cytostatikům. Na základě vlastností zkřížené chemorezistence, které se mohou lišit strukturálně i mechanismem účinku, ji dělíme na typickou a atypickou mnohočetnou lékovou rezistenci (Multi drug resistance – MDR) (Sedláková a kol., 2016).

Typická MDR je převážně způsobena produktem genu MDR1/ABCB1, membránovým glykoproteinem P (Pgp). Pgp je obsažen v epiteliálních buňkách jater, střev, ledvin, mozku, dělohy, varlat a placenty. Slouží jako ATP řízená efluxní pumpa, která využívá ke své transportní funkci energii z hydrolyzy ATP. Jeho podstatnou funkcí je řízení vstřebávání, přenosu a tvorby xenobiotik včetně dalších významných léků. Substrát Pgp tvoří vinkaalkaloidy, antracykliny, taxany, kolchicin a aktinomycin D. Nadměrnou expresí Pgp, který slouží k transportu ABC proteinů (ATP – binding cassette proteins), se zvýší i propustnost membrány. Dochází ke sníženému vstřebávání cytostatik v nádorových buňkách a zároveň k poškozování normálních buněk. Tím se zvýšená tvorba pgp stává hlavním faktorem rakoviny vaječníků rezistentní na paclitaxel. Důležitým faktem je, že typickou MDR lze obejít podáváním chemosenzitorů, což jsou látky obnovující senzitivitu buněk k terapii. Mezi chemosenzitory patří například verapamil nebo cyklosporin A (Pechandová a kol., 2006; Nosková a kol., 2000; Kuwano a kol., 2003).

Za atypické MDR se považují všechny ostatní mechanismy mnohočetné lékové rezistence, ve kterých nehraje roli glykoprotein P. Mezi atypický typ patří tvorba multirezistentních proteinů asociovaných s mnohočetnou lékovou rezistencí (MRP). I když jsou tyto proteiny jsou transportéry ABC proteinů, mají jisté odlišnosti od glykoproteinu P. Především ve velikosti svých molekul, funkcí každý přenášet určité látky a také místem jejich výskytu (Nooter a Stoter, 1996).

U karcinomu ovarií je významná exprese MRP1 (gen ABCC1) a MRP3 (gen ABCC3). Schopnost těchto membránových proteinů je transport škály protinádorových léčiv z buněk a jejich přítomnost v nádorech z nich dělá hlavní podezřelé v nevysvětlitelných případech rezistence na léky. MRP1 se nachází na bazolaterální membráně epiteálních buněk. Jeho fyziologickou funkcí je transport cisplatinu a leukotrienu C4, tj. protizánětlivý mediátor. MRP3 je homologem proteinu MRP1. Je to organický aniontový transportér například cisplatinu. Podle dostupných studií bylo zjištěno, že inhibováním tvorby MRP1 nebo MRP3 dochází k lepší akumulaci cytostatik v nádorových buňkách vaječníků, a tím se podpoří citlivost na cytostatika (Borst a kol., 2000; Kool a kol., 1999; Wu a kol., 2015).

### 6.3 Výzkum mikroRNA

Rezistence na chemoterapeutika se také spojuje s výzkumem mikroRNA, což je v posledních letech považováno za nový biomarker k diagnostice. MikroRNA je nekódující RNA (ncRNA), to znamená, že se nepřekládá do proteinů, to platí pro všechny druhy RNA kromě mediátorové mRNA. Mediátorová nebo také informační RNA podává informace o primární struktuře určité bílkoviny (Záveský, 2011).

Malé nekódující ncRNA, o 20 až 30 nukleotidech, představují klíčovou složku v procesu RNA interference, což je evolučně starý mechanismus pro regulaci genové exprese na posttranskripční úrovni. Studie zkoumá posttranskripční umlčování genů. Cílem je, aby pomocí mikroRNA byla štěpena cílová homologní mRNA nebo aby došlo ke specifické inhibici syntézy bílkovin a netvořil se tak příslušný protein. MikroRNA je důležitá při regulaci buněčných procesů, například proliferace, diferenciace, rozvoji a při buněčné smrti, a proto je spojována s účastí na dělení buněk nádoru, procesech EMT.

Všechny tumory, které byly analyzovány právě pomocí mikroRNA, vykazovaly výrazně odlišné mikroRNA znaky a vlastnosti, ve srovnání s normálními buňkami ze stejné tkáně. Po provedení analýz pacientů s leukémií a solidními (okem viditelnými, hmatatelnými) nádory byly vytvořeny profily mikroRNA, které by mohly odlišovat vývojové linie nádorů i jejich diferenciaci. Dosud byly diagnostikovány expresní profily desítek jednotlivých mikroRNA (u člověka celkově známo přes 1 100). Což je velkým přínosem při odlišování vývojových linií i diagnostiky karcinomu ovarií (Taylor, Gercel-Taylor, 2008).

MikroRNA má také funkci při vývoji imunitního systému, protože reguluje různé buněčné procesy tím, že regulují mRNA. Samotná mikroRNA je také regulována mnoha procesy a může působit dvěma směry. Prvním směrem je tumor supresorová mikroRNA, která má za cíl onkogeny jako například Myc, K-Ras, HMGA-2. Druhým směrem je skupina

onkogenní mikroRNA, která snižuje tvorbu tumor supresorů nebo genů. Tyto geny a supresory ovlivňují buněčné dělení.

Studie a výzkumy udávají problémy hlavně v rozdílnosti metodik, protože jak se zvyšují znalosti v procesech role mikroRNA, pak se zvyšuje i množství nových molekul mikroRNA a jejich potencionálních cílů a práce se tak velice komplikuje z hlediska přehlednosti. Právě z těchto důvodů zatím není žádný klinický, celosvětově aplikovatelný panel expresních mikroRNA markerů, který by se použil pro diagnostiku karcinomu ovaria. Velkou nadějí jsou momentálně probíhající klinické studie (Záveský, 2011).

## 7. Prognóza

Pacienti s rakovinou vaječníků mají nejvyšší riziko relapsu onemocnění v prvních 5 letech. Pokud pacientka podstoupila druhou laparotomii a nemá již další negativními nálezy, je po chemoterapii, kde byla použita platina, a zůstává po dobu pěti let bez onemocnění, pak má vynikající dlouhodobou šanci na přežití. Riziko recidivující se rakoviny závisí na fázi nádoru, třídě a přítomnosti zbytkového nádoru o více než 2 cm na konci počátečního zákroku.

Rubin a kol. (1999) ve své studii uvádějí, že 47 z 91 žen podstoupilo optimální počáteční cytoredukci. Rekurentní míra přežití pro všechny subjekty byla 75% v 2 letech, 55% v 5 letech a 52% v 10 letech. Pro ženy v I. stádiu rakoviny je míra přežití, bez remise, 90% ve 2,5 a 10 letech. U žen ve II. stádiu rakoviny se míra přežití, bez opakování, pohybuje kolem 66% v 2,5 a 10 letech. Pacientky, které byly ve III. nebo IV. fázi, měli rekurentní míru přežití a 40% ve 2,5 a 10 letech.

## 8. Nové metody v léčbě karcinomu ovaria

Všechny nadcházející možnosti léčby zabraňují poškození buněk, a soustředí se na eradikaci buněk nádorových, souhrně je nazýváme cílenou léčbou. Tyto cílené léčby využívají znaků, které vykazuje maligní buňka (Hanahan a Weinberg, 2000).

Mezi 6 základními znaky maligní buňky jsou:

- Autokrinní produkce růstových faktorů
- Necitlivost k regulaci růstu
- Prolongovaná angiogeneze
- Invaze do tkání a metastazování
- Potlačení apoptózy
- Nekonečný replikační potenciál

### 8.1 Blokáda angiogeneze

Angiogeneze, tvorba nových krevních kapilár, je jedním z dobře charakterizovaných procesů souvisejících s progresí rakoviny, který hraje důležitou úlohu v růstu, invazivitě a metastazování nádoru. Angiogenní inhibitory jsou rozděleny podle cílového místa působení. Angiogeneze je usnadněna interakcí mezi buňkami a mimobuněčnou matrix a je spojena se zvýšenou expresí sad konkrétních genů, včetně matrix metaloproteinázy (MMPs) a vaskulárním endoteliálním růstovým faktorem (VEGF). Dalšími možnými antiangiogenními ději jsou například inhibice endoteliální proliferace, inhibice matrix metaloproteináz nebo látky, které způsobují disrupci, prasknutí, nádorových cév. Naše chápání molekulárních dějů a biologických důsledků angiogeneze v této chorobě je bohužel stále omezené. Řada klinických hodnocení testovala léky zaměřené na angiogenní faktory a ukázalo se, že tyto léky mají protirakovinovou aktivitu u mnoha pacientů, postižených právě rakovinou vaječníků (McMahon, 2000).

#### 8.1.1 Úloha VEGF a jeho receptorů

Vaskulární endoteliální růstový faktor A (VEGFA) je známý i jako faktor propustnosti cév (VPF). Funguje jako multifunkční cytokin, který zvyšuje mikrovaskulární propustnost, stimuluje růst endoteliálních buněk a angiogenezi. Jeho zvýšená exprese se podílí na tvorbě nádorů a metastáz. Specifické receptory VEGF se nacházejí v cévních endoteliálních buňkách.

Syntéza tohoto faktoru probíhá u řady lidských solidních nádorů jako například nádory plic, prsu, gastrointestinálního traktu, ledvin, močového měchýře a také u epitelálního karcinomu ovaria (Yamamoto a kol., 1997).

Právě VEGF a jeho receptory jsou využity v molekulárně biologické léčbě ovariálního karcinomu. Cílem metody je eliminovat nádorové buňky bez toho, aniž by byly zbytečně poškozovány ty zdravé (Vlasák a kol., 2018).

Terapie spočívá v aplikaci monoklonální protilátky, bevacizumabu, který blokuje reakce VEGFA s receptory VEGFR1 a VEGFR2. Léčbu může negativně ovlivnit hypoxie, která způsobuje expresi VEGFA a přispívá tak k selháním angiogenní terapie. Ve srovnání se samotnou chemoterapií bevacizumab významným způsobem ovlivnil přežití bez progresu u pacientů s pokročilejším onemocněním. V poslední době bylo prokázáno, že terapie cílená na práci s VEGF a jeho receptory, zvyšuje jak přežití bez progresu, tak celkové přežití pacientek (OS). Bevacizumab je v Evropě primárně využíván při chemoterapii bez použití platiny, v USA u pacientů rezistentních na platinu. Odezva má krátkou dobu trvání a brzy dochází k recidivám (Sapiezynski a kol., 2016).

### **8.1.2 Inhibice matrix metaloproteináz (MMP)**

Většina MMP je sekretována buňkami jako neaktivní zymogeny, které jsou aktivovány proteolyticky v pericelulárním prostoru tkáňovými, plazmatickými proteinázami, bakteriálními nebo jinými proteinázami. MMP se tvoří díky produkci cytokinů, růstových faktorů, nádorových promotorů, onkogenních transformací, fyzickým stresem a interakcemi mezi buňka–matrix nebo buňka–buňka (Vihinen a Kähäri, 2002).

Matrixová metaloproteinázová rodina u člověka zahrnuje 23 příbuzných proteolytických enzymů, které společně sdílejí strukturální a funkční podobnosti. Funkční podobnosti zahrnují přítomnost zinku v místě aktivity katalytické domény, syntézu enzymu v neaktivní nebo latentní formě, aktivaci latentního zymogenu a inhibici působení enzymu oběma způsoby inhibitory metaloproteinázy odvozené od séra a tkáně v extracelulárním prostředí. Na základě jejich strukturálních podobností jsou MMP klasifikovány do 4 širokých tříd: stromelyziny, enzymy membránového typu (MT-MMP), kolagenázy a gelatinázy (Kleiner a Stetler-Stevenson, 1999; Al-Alem a Curry Jr., 2015).

MMP hrají důležitou úlohu ve fyziologické degradaci extracelulární matrix (ECM), např. při morfogenezi tkáně, opravě tkáně a angiogenezi. MMP mají také funkce v patologických stavech charakterizovaných nadměrnou degradací ECM, jako je revmatoidní

artritida, osteoartritida, periodontitida, autoimunitní puchýřovité poruchy kůže, invaze a metastázy nádorů. MMP jsou regulovány tkáňovými inhibitory metaloproteináz (TIMP).

Jedním z inhibitorů molekul MMP je látka cysteamin, který inhibuje invazivitu nádorových buněk *in vitro* a metastazování *in vivo* v myších modelech lidského karcinomu pankreatu a vaječníků. Sledované metaloproteinázy MMP-2, MMP-9 a MMP-14 byly po systematické léčbě cysteaminem sníženy. Kromě účinnosti na nádorovou progresi a tvorbu metastáz byly sledovány také nežádoucí účinky na léčená zvířata. Nebylo zaznamenáno žádné toxické působení na hlavní životně důležité orgány a orgány gastrointestinálního traktu. Rovněž při histologickém vyšetření nebyly zjištěny žádné změny (Suzuki a kol., 2017).

## 8.2 Imunoterapie

Imunitní systém rozpoznává antigeny spojené s maligním bujením a je tedy schopen vyvolat imunitní odpověď na jejich reakci. Další možností léčby karcinomu ovarií je podání vakcín, která bude stimulovat imunitní systém tak, aby reagoval na nádorové bujení. Nebo podat specifické terapeutické protilátky, které budou potlačovat růst nádorových buněk, určených přímo vlastním imunitním systémem. Zatím, hypotetickým cílem je přímo eliminovat množení nádorové tkáně a vyvinout takovou vakcínu, která by sloužila i preventivně proti relapsu.

Většina žen s karcinomem ovarií měla spontánní imunitní odpověď na onemocnění. V periferní krvi byly nalezeny aktivované T-lymfocyty a specifické protilátky. Co se týká i prognózy pacientek, tak v případě imunoterapie se studie opírají o častou přítomnost T-regulačních buněk (Treg) a množství tumor infiltruujících lymfocytů (TIL) s CD8+. Treg se nacházejí v nádorových buňkách a značí špatnou prognózu pro pacientku, protože způsobují snížení obranné funkce imunitního systému (Mantia-Smaldone, Corr a CHU, 2012).

Stále nejsou objeveny specifické antigeny nádoru (TSA) ovaria, které by vyvolaly takovou imunitní odpověď, která by onemocnění zcela potlačila. Ale jsou známy s tumorem asociované antigeny (TAA), produkované na povrchu buněk spojených jak s ovariálním nádorem, tak i s buňkami zdravými a to např. CA 125 (nebo také MUC-16, MUC-1), OA3, NY-ESO-1, HER2/neu, TAG-72, p53, sialyl-TN, mesothelin, membránový folátový receptor a další. Z těchto antigenů jsou pak izolovány vakcíny.



### **8.2.1 Peptidové vakcíny**

Nejslibnější peptidovou vakcínou v léčbě serózního ovariálního nádoru je antigen z dlaždicových buněk jícnového karcinomu 1 (NY-ESO-1), protože má zatím největší dostatečnou imunogenost, což je schopnost navodit imunitní reakci s následným tvořením protilátek. Tento antigen je produkován zhruba u 40% žen v pokročilejším stádiu karcinomu ovaria. A tvoří se pouze u 30% všech ovariálních nádorů, to je problém z hlediska nedostatečnosti pro vytváření monovalentních vakcín (Liu a kol., 2010).

Studie potvrdila pozitivní a bezpečné účinky při podání vakcíny jak NY-ESO-1 pozitivním, tak i NY-ESO-1 negativním pacientkám, navodila T-buněčnou specifickou imunitní odpověď. Pouze u jedné pacientky po podání vakcíny došlo nejdříve ke kompletní remisi, poté se objevila recidiva s tím, že tento antigen již na povrchu buněk nádoru nebyl exprimován vůbec. Což poukázalo na schopnost nádoru se adaptovat i po dobré počáteční imunitní odpovědi organismu na léčbu (Diefenbach a kol., 2008).

### **8.2.2 Vakcíny založené na protilátkách**

Tyto vakcíny vznikají díky nejvíce zkoumanému antigenu CA 125, známý také jako MUC-16. Po podání dochází k reakci epitopu nádorového antigenu s protilátkou (Záveský, 2012).

Abagovomab je myší protilátka napodobující CA 125 antigen, která indukuje humorální a buněčnou imunitu specifickou právě pro CA 125. Studie prokázaly, že tato anti-idiopatická protilátka (také nazývaná Ab3) navozuje imunitní reakci proti nádorům, které exprimují antigen CA 125. Podáním Abagovomabu se ukázala specifická protilátková odpověď (Ab3) u 68,1% pacientů a statisticky se prodloužila i doba přežití až o 2 roky. Vakcína navíc nevykazovala nějaké zásadní vedlejší účinky (Sabbatini a kol., 2006).

Oregovomab je monoklonální protilátka, též vznikající z myší a vázající se vysokou afinitou na glykoprotein CA 125. U 79% pacientek ve II. fázi s rekurentním nádorem vaječnicků byla po podání Oregovomabu vyvolána humorální odpověď, tvorba protilátek proti vakcíně a tím významně prodloužena doba přežití (Berek a kol., 2009).

Další myší monoklonální protilátkou je HMFG1 (anti-MUC1), jinak také Ab2 protilátka. Při podávání vakcíny nebyly prokázány žádné vážné vedlejší účinky, ale léčba nebyla nijak klinicky významně účinná (Nicholson a kol., 2004).

### 8.2.3 Nádorové vakcíny

Tyto vakcíny se vyrábí z buněk celého nádoru, když nejsou k dispozici specifické antigeny nádoru. Na rozdíl od všech ostatních možností získávání vakcín mají tyto nádorové antigeny potenciál k poskytnutí individuálního rozsahu a mohou zvýšit hostitelské antigen – specifické protinádorové imunitní odpovědi. Lze je vytvořit pomocí nádorových buněk, autologních nádorových lyzátů nebo nádorové RNA. Obecně jelikož jsou slabě imunogenní a to kvůli nedostatečnosti stimulačních signálů imunity, musí se podávat s adjuvans ISA-51 nebo granulocyty-makrofágy-kolonie stimulujícího faktoru (GM-CSF). Nedávné analýzy naznačují, že lepší klinické odpovědi mohou mít jednotlivci po podání vakcíny s celkovým nádorovým antigenem ve srovnání s podáváním vakcín peptidových. Další studie stále probíhají a soustředí na imunogenitu autologního oxidovaného lyzátu nádorových buněk v kombinaci s Ampligenem, což je agonista Toll-like receptoru 3 (Mantia-Smaldone, Corr a Chu, 2012).

### 8.2.4 Cytokiny

Imunoterapie cytokiny je příležitostí k indukci a regulaci imunitního systému a odezvou příznivých imunitních odpovědí. I když se cytokiny vyrábí a podávají snadno, nemají specifické imunomodulační účinky. Intraperitoneální terapie interleukinem 2 (IL-2) je určena ženám, které jsou rezistentní na léčbu platinou nebo mají refrakterní ovariální karcinom v I. nebo II. fázi. Odpověď na léčbu s průměrnou dobou přežití 2,1 roky zaznamenalo 25% pacientek.

Interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) vykazuje také protinádorové imunitní mechanismy, včetně zvýšení exprese hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) na antigen prezentujících buňkách (APC) a aktivaci dráhy, která je zprostředkováná T-lymfocyty. Modifikovaná vakcína prokázala v předklinické studii zvýšení nádorově specifické cytotoxické aktivity, což snížilo růst tumoru, vakcína ale nebyla doteď testována klinicky (Schmeler a kol., 2009).

Tato imunoterapie prokazuje slibné výsledky v léčbě rakoviny vaječníků, ale výsledky je potřeba předávat s opatrností. Důvodem je malé a heterogenní množství vzorků pacientů a kromě toho i standardizace v měření imunologických i klinických účinností těchto terapií (Mantia-Smaldone, Corr a Chu, 2012).

### 8.2.5 Proteiny tepelného šoku

Proteiny tepelného šoku (heat shock protein, HSP) jsou známé jako multifunkční proteiny, nebo také jako chaperony. Pomáhají skládat a rozkládat proteiny, zabráňují agregaci bílkovin v cytosolu, podílejí se na účasti vezikulárních transportních procesů a na signalizačních procesech. HSP jsou zapojeny do autoimunity, imunologii nádorů i do imunity

proti infekcím. Existuje mnoho druhů HSP, ale jen některé mají imunologické vlastnosti, např. HSP70 a Gp96 (Strbo a Podack, 2008).

Molekuly HSP jsou aplikovány do DNA, nebo proteinových vakcín jako antigeny, chaperony nebo adjuvans. Bylo prokázáno, že tyto vakcíny jsou schopné imunizovat proti rakovině a infekčním onemocněním v terapeutickém i profylaktickém ohledu. Imunogenicita vakcínou vydala výsledek dvou vlastností, a to schopnost peptidu záviset na chaperonu a vyvolat adaptivní cytotoxické reakce T-lymfocytů pro antigenním peptidům a pak na peptidu nezávislou imunomodulační kapacitu. Dalším pozitivním přínosem je zjištění, že by HSP mohly sloužit jako imunoregulační látky se silným a širokým terapeutickým použitím (Bolhassani a Rafati, 2008).

### **8.2.6 Vakcíny z dendritických buněk**

Dendritické buňky, přezdívané profesionální antigen prezentující buňky, se díky svým vlastnostem staly přirozenými cíli pro dodávání antigenu. Poskytují základní spojení mezi vrozenou a adaptivní imunitní odpovědí a jsou středem imunitního systému díky jejich schopnosti kontrolování jak tolerance, tak imunitní odpovědi. Tyto klíčové vlastnosti z nich dělají hlavní kandidáty pro přenos antigenu a vakcinaci, zahrnující terapeutické očkování proti rakovině. Studie na myších modelech ukazují, že samotné nádorové buňky jsou špatnými APC, a že tvorba ochranných nádorových imunitních odpovědí je závislá na prezentaci nádorových antigenů, a to pomocí dendritických buněk. DC jsou je srovnání s jinými APC mimořádně účinné v tomto ohledu a tím spouštějí imunitu T-buněk.

Jsou dva směry imunizace. V prvním směru jsou autologní antigen-specifické T-buňky izolovány a poté znovu podány pacientovi. Druhým směrem je očkování podáním antigenu společně s adjuvans pro vyvolání terapeutických T-buněk přímo v organismu (Palucka a Banchereau, 2012).

Podle studie je potenciál DC vakcín především v potlačování metastazování i v pokročilých stádiích onemocnění. A to nejen u ovariálního karcinomu, ale i u gastrointestinálních karcinomů (Cheng a kol., 2020).

### 8.2.7 Adoptivní T-buněčná terapie

Jedná se o další metodu léčebných postupů v imunoterapii nádorů a v posledních letech se zvyšuje i zájem o optimalizaci a zařazení do klinicky proveditelné léčby. Vakcíny pro aktivaci protinádorové imunity, byly vyvinuty buď na základě proteinů, peptidů odvozených od známých TAA anebo celých rakovinných buněk upravených tak, aby zvýšily svoji imunogenicitu. Byly účinné při vyvolání reakcí T-lymfocytů, ale ne při zjištění regrese tumoru.

Jedna ze studií identifikovala protein mesothelin (MSLN) jako potencionální cíl. A to proto, že je nadměrně exprimován v maligní tkáni vaječnicků, podporuje onkogenní fenotyp a má omezenou expresi ve zdravých buňkách. Předklinické studie ukazují, že myši a lidské T-buňky upravené tak, aby exprimovaly T-buněčné receptory (TCR) s vysokou afinitou k usmrcení MSLN myši, respektive lidských nádorových buněk vaječnicků *in vitro*. Kromě toho, studie *in vivo* na myších léčených metastatickým onemocněním vyvíjeným po intraperitoneálním zavedení rakovinných buněk vaječnicků prokázaly, že geneticky upravené adoptivně přenesené T-buňky se usazují v rakovinách vaječnicků, snižují zátěž nádoru a prodlužují přežití (Morse a kol., 2018).

Pomocí této léčby jsou nádorově specifické cytotoxické T-buňky podávány pacientkám s cílem rozpoznání, zacílení a zničení nádorových buněk. Výhodou adoptivní terapie je, že T-buňky jsou specifické, tím se cílí pouze na buňky rakovinné a zdravé zůstávají nedotčené. Reakce T-lymfocytů jsou rychlé a objemné, po aktivaci dochází až k tisícinásobné klonální expanzi. Pak odpověď T-lymfocytů může vést k místům, kde se antigen nachází a tím se zaměřit i na vzdálené metastáze. A protože T-buňky mají paměť, mohou po počáteční reakci udržovat terapeutický účinek ještě mnoho let (Foster, Barrett a Karikó, 2019).

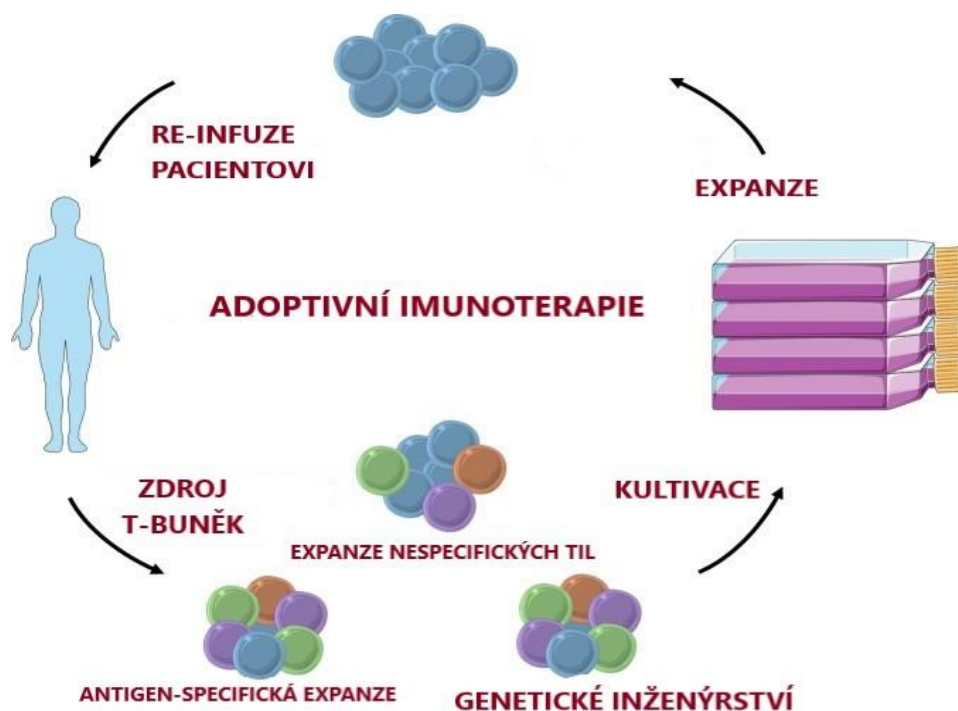
Jako každá jiná metoda, má i tato své nevýhody. Víme, že existují mechanismy centrální a periferní tolerance, které snižují imunitu proti nádoru, i když jsou už v organismu přítomné protinádorové T-buňky. Pro příklad, mezi centrální toleranci řadíme proces, kdy T-buňky rozpoznávající vlastní antigeny jsou vymazávány během vývoje brzlíku. To omezuje sílu T-buněk k reakci, T-buněk, které rozpoznávají vlastní nadexprimované bílkoviny.

Periferní tolerance slouží k ochraně hostitelských tkání před přehnanou imunitní odpovědí, která pak vede k autoimunitní reakci a k postupnému rozvoji kancerogeneze a je zřejmě ještě kritičtější aspektem této léčby než tolerance centrální. Bíže uvedené periferní tolerance vysvětlují, jak imunogenní nádory existují, a to i přesto, že jsou v organismu přítomné cytotoxické T-buňky, zahrnující nádorově specifické buňky. Jejich odstranění se ukazuje jako zásadní krok v přístupu k léčbě rakoviny. Mechanismy periferní tolerance můžeme rozdělit do několika kategorií (Perica a kol., 2015):

- Vnitřní mechanismus T-lymfocytů, zahrnující vyčerpání T-lymfocytů, které snižují svoji účinnost při chronických a malých zánětlivých procesech.
- Tumor – vnitřní mechanismy, jako sekrece imunoregulačních bílkovin například TGF-B a exprese kontrolních bodů jako je PD-1, potlačující imunitní odpovědi.
- Nábor regulačních buněk Treg a od myeloidu odvozené supresorové buňky, potlačující imunitní odpověď pomocí různých mechanismů, které se překrývají.

Pozornost přitahuje blokáda kontrolního bodu, na základě výsledků několika úspěšných klinických studií s melanomem. Blokování inhibičních molekul jako PD-1 (nebo jeho receptory), které jsou exprimovány na T-buňkách nebo jejich receptorech, exprimovaných na buňkách nebo nádorech prezentujících antigen, aktivuje imunitní systém a uvolní už přítomné imunitní odpovědi v organismu. Technika je nespecifická a může uvolnit autoimunitní T-buněčné odpovědi proti zdravé tkáni, což vede k významným autoimunitním toxicitám.

Prostřednictvím jedné z několika technik jsou T-buňky odebírány z krve nebo nádoru pacienta a poté stimulovány k růstu a expanzi v kultivačním systému *in vitro* (obrázek 2). Po dostatečné expanzi *in vitro* jsou tyto buňky podány zpět pacientovi, kde by se měly zaměřit na nádor a destruovat ho. Tento proces je použitelný u většiny pacientů s rakovinou, u nichž už není předchozí protirakovinná odpověď, a proto alespoň teoreticky nebude reagovat na „odblokování“ inhibitory kontrolního bodu (Perica a kol., 2015).



Obrázek 2 – Proces adoptivní terapie T-buněk (upraveno z: Perica a kol., 2015)

T-buňky odebrané z nádoru (lymfocyty infiltrující nádor–TIL) nebo z periferní krve (lymfocyty z periferní krve–PBL). TIL lze expandovat nespecificky, protože jsou přednostní pro svoji specifitu k nádoru. Na rozdíl od toho musí být v PBL indukována specifická nádoru, a to buď antigen-specifickou expanzí nebo genetickým inženýrstvím. Po několika týdnech expanze v kultuře mohou být nádorově specifické T-buňky opětovně vpraveny pacientovi s rakovinou.

### **8.3 Inhibitory transdukčních kaskád**

Přesto, že jsou buněčné epiteliální buňky vaječníků (OSE) zodpovědné za maligní karcinom, je známo poměrně málo o extracelulárním stimulu nebo o intracelulárních mechanismech signalizace, které jsou odpovědné za regulaci proliferace v těchto buňkách. Ze signálních transdukčních drah, které jsou aktivovány ovariálním karcinomem, se řadí dráha fosfositid – 3 – kináza (PI3K) / protein kináza B (neboli Akt) / savčí cíl rapamycinu (mTOR) a homolog virového onkogenu krysího sarkomu (RAS) / extracelulárním signálem regulovaná kináza (ERK) (Gabriel a kol., 2004; Sheppard a kol., 2013).

#### **8.3.1 Dráha PI3K/Akt/mTOR**

Tato cesta je dominantně aktivována u mnoha typů rakoviny, včetně ovariálního karcinomu. Mechanismy pro její aktivaci zahrnují ztrátu funkce PTEN supresoru, zesílení nebo mutaci PI3K, zesílení nebo mutací Akt, aktivaci receptorů růstového faktoru a vystavení nádorovým faktorům. Po aktivaci může být dráha díky Akt rozšířena na řadu substrátů, které zahrnují i mTOR, což je klíčový regulátor translace proteinů (Lopiccolo a kol., 2008).

##### **8.3.1.1 Inhibitory PI3K**

Signální osa PI3K ovlivňuje, jak růst rakovinných buněk, tak jejich přežití, pohyblivost a metabolismus. Dráha je aktivována různými mechanismy v rakovinách, zahrnující i somatické mutace a amplifikace genů kódujících klíčové komponenty. Důležitou roli má tato signalizace v působení na integrální funkce nekancerózní buňky v mikroprostředí nádoru. V důsledku toho se rychle vyvíjí léky, které se zaměřují na inhibici PI3K cesty. Pro hlavní role v celé škále biologických procesů bohužel vyvolává obavy ohledně využití v terapeutických přípravcích, které by mohly negativně ovlivnit i jiné signální dráhy. Proto je potřeba dalších strategií pro bezpečné užití inhibitoru (Courtney, Corcoran a Engelman, 2010).

Selektivní inhibitory PI3K jsou významné svým zaměřením na určité izoformy PI3K p110 zapojené do konkrétních typů rakoviny. Isoforma p110a je častým genetickým faktorem rakoviny vaječníků (mutace PIK3CA). Potenciál těchto inhibitorů tkví v jejich možnosti blokovat relevantní místo účinku, zatímco mají omezené vedlejší účinky (Vanhaesebroeck a Khwaja, 2014).

### **8.3.1.2 Inhibitory protein kinázy B/Akt**

Protein kináza B, jinak také nazývána Akt, je enzym aktivovaný právě fosforylací PI3K a jeho funkcí je podpora v přežívání buněk, a kromě toho podporuje i tvorbu nových kapilár, angiogenezi. Inhibitory Akt dělíme do tří tříd, lipidové fosfatidylinositolové analogy (PI), inhibitory ATP – konkurenční a inhibitory alosterické.

Perifosin, klinicky nejvíce studovaný inhibitor na bázi lipidů, je zacílen na homologickou doménu Akt pleckstrinu a brání její translokaci na buněčnou membránu. Ve všech třídách vykazují alosterické inhibitory vysoce specifickou selektivitu pro izoformy Akt. S ohledem na genetické pozadí karcinomu ovarií mohou být alosterické inhibitory Akt, jako je MK 2206, nejlepšími léky na léčbu tohoto onemocnění. V klinickém obraze vykazují inhibitory Akt podobné toxické účinky jako inhibitory PI3K, tedy hyperglykémie, kožní vyrážky atd. (Mazzoletti a brogini, 2010).

### **8.3.1.3 Inhibitory mTOR**

mTOR je serin/threonin kinázový komplex, který zprostředkovává jak intracelulární, tak extracelulární signály a slouží jako centrální regulátor buněčného metabolismu, růstu, proliferace a přežití. Aktivace probíhá během různých buněčných procesů například tvorba nádoru, inzulínová rezistence, adipogeneze a aktivace T-lymfocytů. Deregulace je způsobená rakovinou a diabetem 2. typu. (Laplante a Sabatini, 2009).

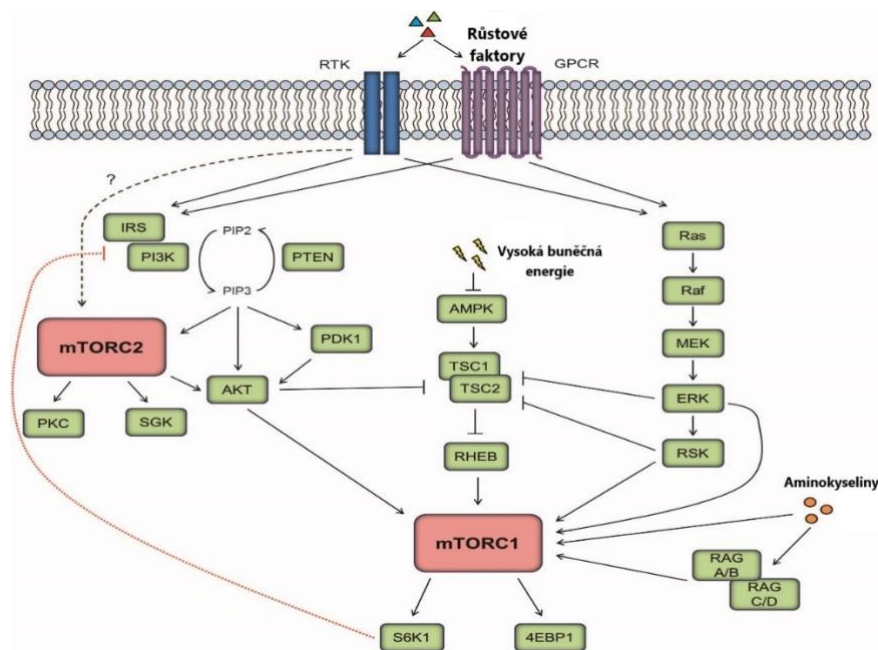
Mezi významné inhibitory řadíme rapamycin a jeho analogy. Byla prokázána jejich souvislost se signalizací mTOR u nádorů vaječníků. Rapamycin (sirolimus), izolovaný poprvé v roce 1975 z bakterie *Streptomyces hygroscopicus*, silně inhibuje mTORC1 první vazbou na intracelulární protein, který váže protein FK50612, poté se tento komplex váže na doménu vázající se na FKBP12-rapamycin (FRB) a inhibuje serin/threonin kinázovou aktivitu mTORC1 prostřednictvím alosterického mechanismu. Komplex FKBP12-rapamycin nemůže reagovat s mTORC2, a proto je mTORC2 rezistentní na léčbu rapamycinem. Rapamycin je velmi špatně rozpustný ve vodě a omezuje tak jeho klinické použití, proto bylo vyvinuto několik

rozpustných analogů rapamycinu (rapalogů). V současnosti rapalogy zahrnují everolimus, temsirolimus, a ridaforolimus. První dva léky jsou uzpůsobeny pro perorální a intravenózní podání. Ridaforolimus je původně intravenózní, ale poté byl přetvořen na perorální užití. Klinicky jsou tyto analogy dobře snášeny, přesto vedlejšími účinky jsou stomatitida, vyrážka, únava, hyperglykémie, hypercholesterolemie a myelosuprese (Griner, Joshi a Nahta, 2013).

Inhibitory ATP na rozdíl od rapalogů nevyžadují, aby se FKBP12 navázal na mTOR. Soutěžením s ATP o ATP-vazebná místa mTOR může tato třída inhibovat kinázovou aktivitu jak mTORC1, tak i mTORC2. Existují obavy, že současná inhibice mTORC1/2 povede k větší toxicitě v normálních tkáních, přesto se ukázalo, že ATP inhibitory vykazují silnější antiproliferativní aktivitu než rapalogy u velké řady rakovin, zahrnující i ovariální karcinom (Hisamatsu a kol., 2013).

Předepisovaným perorálním antidiabetikem je metformin, který snižuje malignity u pacientů s diabetem. Jednou z malignit bývá i ovariální karcinom. Bylo *in vitro* prokázáno, že podáním metforminu dochází k významnému omezení růstu ovariálních nádorových linií (Shank a kol., 2012).

Důležitou roli v účinku léku hraje metforminem aktivovaná 5'adenosin monofosfát kináza (5'AMPK). Následuje fosforylace a aktivace TSC2, což způsobí inhibici na mTORC1. Kromě toho aktivace AMPK metforminem snižuje aktivitu Akt inhibicí inzulinového receptorového substrátu 1 (IRS-1). Aktivace AMPK vede v konečném důsledku k inhibici signální dráhy PI3K/Akt/mTOR, tím se z metforminu stává účinný lék na rakovinu (Hajjar, Habra a Naing, 2013).



Obrázek 3 – Přehled signalizační cesty mTOR (upraveno z: Kim, Cook a Chen, 2017).



Obrázek 3 ukazuje signalizaci dráhy mTOR. Ta je aktivována řadou podnětů, včetně růstových faktorů, vysoké buněčné energie a aminokyselin. Růstové faktory aktivují jak mTORC1, tak mTORC2, prostřednictvím vazby receptorových tyrosin kináz (RTK) nebo receptorů spojených s G-proteiny (GPCR) a aktivací signálních kaskád PI3K nebo Ras-MAPK. PI3K fosforyluje PIP2 za účelem zvýšení množství PIP3 v membráně, což umožňuje kolokalizaci AKT, PDK1 a mTORC2. PDK1 fosforyluje AKT na T308, zatímco mTORC2 fosforyluje AKT na S473 pro úplnou aktivaci. AKT zase aktivuje mTORC1 inhibicí TSC2, GAP pro RHEB, aktivátoru mTORC1. Fosforylace AKT PRAS40 podporuje jeho disociaci z mTORC1 pro plnou aktivaci. ERK a RSK, které jsou součástí signální dráhy Ras-MAPK, mohou také inhibovat TSC2 pro aktivaci mTORC1 nebo aktivaci mTORC1 přímo prostřednictvím fosforylace PRAS40. Vysoké hladiny ATP v buňce inhibují AMPK, aktivátor TSC2, čímž se zvyšují aktivity RHEB a mTORC1. Intralyzozomální arginin a cytoplazmatický leucin stimulují Rag-dependentní lokalizaci mTORC1 k lysozomu, kde RHEB může aktivovat mTORC1. Cytoplazmatický glutamin spouští lyzozomální lokalizaci mTORC1 mechanismem nezávislým na Rag. Cílové cíle mTORC1 zahrnují S6K1 a 4EBP1, zatímco cílové cíle mTORC2 zahrnují AKT, PKC a SGK. S6K1 inhibuje PI3K a dokončuje negativní zpětnou vazbu na signalizaci AKT.

### **8.3.2 Dráha RAS/ERK**

Cesta RAS/ERK je zkoumána už přes 30 let a v neposlední řadě kvůli její roli v patologických stavech člověka. Její aktivace je pozorována u většiny rakovin, včetně ovarii a přibližně u jedné třetiny je způsobena mutací složek v dráze. Pravděpodobně je tato dráha jednou z nejlepších farmakologických cílů, která je na bázi molekul a malých molekulárních inhibitorů v klinickém užití. Rozdíly v časové délce signálu a frekvenci vedou k odlišným rozhodnutím o buněčném výstupu, a proto se musí signály přenášet z plazmatické membrány (RAS) do jádra (ERK), aby byla následná reakce buněk řízena správně. Dráha reguluje i proliferaci, proto mohou změny vlastností přenosu dynamického signálu vést k nesprávným buněčným rozhodnutím a dysfunkcím (Bugaj a kol., 2018).

Díky geneticky upraveným myším modelům došlo k lepšímu pochopení signálních drah ve vývoji, homeostázi tkáně a nemoci. Ze specifického pohledu tyto dráhy odhalily jedinečné biologické role strukturně a funkčně podobných proteinů, efektorů nezávislých na kinázách a další vztahy s jinými kaskádami (Dorard, Vucak a Baccarini, 2017).

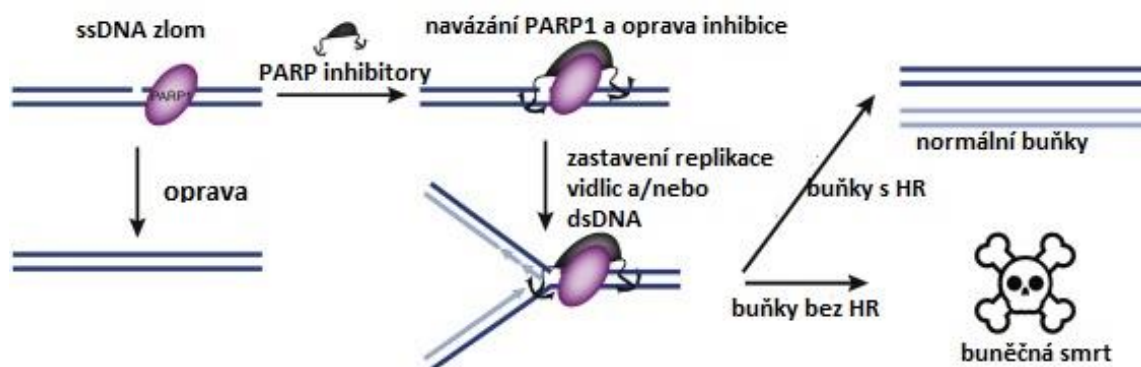
### 8.3.2.1 RAS a jeho PARP inhibitory

RAS je G protein, který je spojen s aktivací receptorové a nerekceptorové tyrosin kinázy následných plazmatických a jaderných dějů. Mutované RAS geny jsou běžné a vedou ke konstitutivní signalizaci, čímž stimuluji proliferaci buněk a inhibují apoptózu. To znamená, že se vyskytují v celé řadě malignit. Serózní karcinom vaječníků, který způsobuje 70-80% úmrtí na rakovinu vaječníků, je charakterizován mutacemi TP53 a asi polovina nádorů vykazuje defekty v opravné genové cestě pro homologní rekombinaci DNA.

PARP (Poly (ADP-ribose) polymeráza) je rodina 17 jaderných proteinů, které jsou součástí opravy SSBs (jednovláknové zlomy) a DSBs (dvouvláknové zlomy). Výpnutí mechanismu opravy, excisí báze (BER) pomocí inhibice PARP, vede ke zvýšené citlivosti rakovinných buněk na chemoterapii nebo přímo k tzv. syntetické letalitě.

Poly (ADP-riboza) polymeráza 1 (PARP-1) je enzym patřící do rodiny primárních jaderných PARP a je nezbytný pro opravu jednovláknových (SSBs) zlomů DNA prostřednictvím cesty opravy základního štěpení. Mechanismus účinku PARP1 je znázorněn na obrázku 4.

Studie prokazují, že inhibitory těchto enzymů zvyšují cytotoxické účinky ionizujícího záření a chemoterapeutik, které poškozují DNA, jako jsou například methylační činidla. Hlavními funkcemi jednotek PARP-1 jsou vysoce konzervovaná DNA vazebná doména (DBD), centrální doména automatické modifikace (AMD) a katalytická doména karboxylového terminálu (CD) (Drew a Calvert, 2008; Curtin, 2015).



Obrázek 4 – Schéma účinku inhibitoru PARP1 (upraveno z: Noordermeer a Van Attikum, 2019).

V současnosti je schválena léčba Olaparibem, inhibitorem PARP-1 i PARP-2 u recidivujícího high-grade serózního karcinomu vaječníků, který je citlivý na léčbu platinou u pacientů s prokázanou zárodečnou linií nebo somatickou mutací v BRCA1 nebo BRCA2 (Klener Jr. a Klener, 2013).

PARP-2 je další enzym patřící do primárních jaderných PARP, který je stimulován zlomy DNA. Tento enzym má katalytickou doménu, která je homologní na poly (ADP-ribosyl) transferázy, ale postrádá N-terminální DNA vazebnou doménu, která aktivuje C-terminál katalytické domény poly (ADP-ribosyl) transferázy. Pro léčbu nádoru ovarií bylo v roce 2017 schváleno použití léku Niraparib, který je inhibítor PARP-1 a PARP-2 (Mirza a kol., 2016)

Protože jsou identifikovány aberantní cesty DNA i v jiných histologických podtypech ovariálního karcinomu, pak kombinací inhibitorů PARP s jinými biologickými činidly se nejspíš rozšíří skupina dalších pacientů, kteří budou mít prospěch z užití inhibitorů (Liu, Konstantinopoulos a Matulonis, 2014).

### **8.3.2.2 ERK a jeho inhibitory**

ERK je proteinkináza, která je podněcována fosforylací tyrosinu a threoninu ve specifické sekvenci Threonin-Kyselina glutamová-Tyrosin (Thr-Glu-Tyr). Za aktivaci transdukční kaskády ERK zodpovídají dvě izoformy, ERK1 a ERK2. Funkční rozdíl mezi ERK1 a ERK2 je téměř žádný, ale podle zkoumaných modelových myši se zjistilo, že myš, která má ERK1 přežívá, přes pár normálních abnormalit. Narozdíl od myši s ERK2, která umírá už při vývoji embrya (Lefloch, Pouyssegur a Lenormand, 2008).

ERK kaskáda je hlavním určujícím faktorem kontroly buněčných procesů, jako proliferace, přežití, diference a motilita. Tato signální dráha je velice aktivní u lidských nádorů, proto se na ni studie zaměřují jako na cestu pro vývoj protinádorových terapeutik. Vzhledem k množství rolí, které ERK má při získávání komplexního maligního fenotypu se očekává, že její inhibice povede nejen k antiproliferativním účinkům, ale i antimetastazujícím a antiangiogenním účinkům na nádorem změněné buňky. Studovaný inhibitor, PD98059, potlačuje ERK cestu a epiteliální mezenzymální proces, a tím narušuje rezistenci na cisplatinu i u nádorových buněk ovarií (Hou a kol., 2018).

## 9. Závěr

Příčinou vzniku rakoviny ovaria stále zůstává genetická mutace genu BRCA1 a BRCA2 anebo počet ovulací. Z nejlepších preventivních opatření proti této nemoci je užívání hormonální antikoncepce. Pokud se u ženy potvrzuje genetická predispozice k tomuto onemocnění a má a/nebo neplánuje potomstvo, pak je doporučeno invazivní preventivní opatření, tj. adnexektomie jednostranná/oboustranná, případně hysterektomie.

Pokud nemoc propukne, vše se odvíjí od stádia, ve kterém se onemocnění nachází a jaké jsou klinické obtíže. I přes dlouhá léta teoretického zkoumání i klinických studií zaměřených na terapii se stále uplatňují nejčastěji chirurgická cytoredukce, chemoterapie, radiologická nebo hormonální léčba. Hlavní problém nastává v případné rezistenci na léčbu, která je především chemoterapeutická. Typickou mnohočetnou lékovou rezistenci lze obejít pomocí chemosenzitorů a ostatní chemorezistence nikoliv. V tom případě je potřeba užití jiných cytostatik nebo dokonce jejich kombinace. Hlavním problémem je zvyšující se rezistence na cytostatika a zároveň invazivita léčby v podobě chirurgického zákroku. To platí i v případě prevence před samotným propuknutím karcinomu. Tyto problémy řeší cílová léčba.

Nové možnosti léčby ovariálního karcinomu využívají poznatků z patologie buňky na molekulární úrovni. Jedním z pokroků v cílové léčbě je podání bevacizumabu, který pracuje na principu inhibice angiogeneze. Konkrétně potlačení vazeb vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) s růstovými receptory, které mají zodpovědnost za růst nádoru a tvorbu metastáz. Inhibicí matrix metaloproteináz (MMP) lze dle studií také předejít tvorbě nádoru. Nadměrná exprese MMP zvyšuje degradaci extracelulární matrix (ECM), což má za následek invazi nádorových buněk. Proti invazi a metastazování nádorových buněk byly vyvinuty tkáňové inhibitory metaloproteináz ovariálního karcinomu, jako je cysteamin.

Nejslibnější cílovou léčbou jsou léky vyvinuté z látek, produkovaných na povrchu nádorových buněk ovariálního karcinomu. Klinické studie se snaží tvořit vakcíny z antigenů asociovaných s tumorem (TTA), tvořených na povrchu buněk ovariálního nádoru. Principem je vyvolání reakce antigen + protilátka při imunizaci vakcínou-imunoterapie. Imunitní systém zacílí přímo na místo bujení nádoru a likviduje pouze – nádorové buňky. Největší potenciál se jednoznačně vkládá do antigenu CA 125, ze kterého vycházejí vakcíny abagovomab a oregovomab. Další potencionální léčiva jsou stále ve vývoji, tyto imunoterapeutické přístupy využívají cytokiny, proteiny tepelného šoku (HSP), látek tvořených z buněk celého nádoru a v neposlední řadě dendritické buňky. Samotnou kapitolu v imunoterapii tvoří adoptivní T-buněčná terapie, která u ovariálního karcinomu zakládá na mesothelinu, nadměrně tvořeného v

nádorové tkáni ovaria. Léčba spočívá ve vytvoření specifických cytotoxických T-buněk nádoru, díky kterým, po vpravení do pacientky, je schopen imunitní systém zacílit přímo na nádorové buňky a zničit je.

Velký terapeutický potenciál pak skýtá inhibice signálních transdukčních kaskád spojených s proliferací buněk ovariálního karcinomu. Nejvýznamnějšími dráhami jsou PI3K/Akt/mTOR a RAS/ERK dráhy. Protože jsou však tyto signální transdukční kaskády propojené i s – dalšími kaskádami, nastávají tak problémy spojené s ovlivněním i těchto drah. Avšak nadějnými inhibitory jsou selektivní inhibitory PI3K, inhibitory PARP, rapamycin, perifosin, metformin nebo inhibitor PD98059.

## 10. SEZNAM POUŽITÉ LITERATUTY

ADAM, Z.; VANÍČEK, J. a VORLÍČEK, J. Diagnostické a léčebné postupy u maligních chorob. 2., Praha: Grada, 2004. ISBN 8024708965.

AL-ALEM, L. a E CURRY, T. Ovarian cancer: involvement of the matrix metalloproteinases. *Reproduction*. 2015, 150(2), R55-R64.

BEREK, J.; TAYLOR, P.; McGUIRE, W.; SMITH, L. M.; SCHULTES, B. a NICODEMUS, Ch. F. Oregovomab Maintenance Monoimmunotherapy Does Not Improve Outcomes in Advanced Ovarian Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 2009, 27.3: 418-425.

BOLHASSANI, A. a RAFATI, S. Heat-shock proteins as powerful weapons in vaccine development. *Expert review of vaccines*, 2008, 7.8: 1185-1199.

BOOCOCK, Ch. A.; CHARNOCK-JONES, D. S.; SHARKEY, A. M.; McLAREN, J.; BARKER, P. J.; WRIGHT, K. A.; TWENTYMAN, P. R. a SMITH, S. K. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptors  $\text{VEGFR}$  and KDR in Ovarian Carcinoma. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 1995, 87.7: 506-516.

BORST, P.; EVERS, R.; KOOL, M. a WIJNHOLDS, J. A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins. *Journal of the National Cancer Institute*, 2000, 92.16: 1295-1302.

BOUDA, J.; PRESL, J.; VLASÁK, P.; KOSTŮN, J. a SLUNÉČKO, R. Nový pohled na etiopatogenezi ovariálního karcinomu. *Actual Gynecology*. 2018; 10:19-22

BUGAJ, L. J.; SABNIS, A. J.; MITCHELL, A.; GARBARINO, J. E.; TOETTCHER, J. E.; BIVONA, T. G. a LIM, W. A. Cancer mutations and targeted drugs can disrupt dynamic signal encoding by the Ras-Erk pathway. *Science*, 2018, 361.6405

BURKMAN, R.; SCHLESSELMAN, J. J. a ZIEMAN, M. Safety concerns and health benefits associated with oral contraception. *American journal of obstetrics and gynecology*, 2004, 190.4: S5-S22.

COHEN, M.; DROMARD, M. a PETIGNAT, P. Heat shock proteins in ovarian cancer: a potential target for therapy. *Gynecologic oncology*, 2010, 119.1: 164-166.

COURTNEY, K. D.; CORCORAN, R. B. a ENGELMAN, J. A. The PI3K pathway as drug target in human cancer. *Journal of clinical oncology*, 2010, 28.6: 1075.

CURTIN, N. J. PARP inhibitors for cancer therapy. *Expert reviews in molecular medicine*, 2005, 7.4: 1-20.

DIEFENBACH, C. S. M.; GNJATIC, S.; SABBATINI, P.; AGHAJANIAN, C.; HENSLEY, M. L.; SPRIGGS, D. R.; LASONOS, A.; LEE, H.; DUPONT, B.; PEZZULLI, S.; JUNGBLUTH, A.; OLD, L. J. a DUPONT, J. Safety and immunogenicity study of NY-ESO-1b peptide and montanide ISA-51 vaccination of patients with epithelial ovarian cancer in high-risk first remission. *Clinical Cancer Research*, 2008, 14.9: 2740-2748.

DORARD, C.; VUCAK, G. a BACCARINI, M. Deciphering the RAS/ERK pathway in vivo. *Biochemical Society Transactions*, 2017, 45.1: 27-36.

DOUBENI, CH. A.; DOUBENI, A. R. a MYERS, A. E. Diagnosis and management of ovarian cancer. *American family physician*, 2016, 93.11:937-944.

DREW, Y. a CALVERT, H. The potential of PARP inhibitors in genetic breast and ovarian cancers. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2008, 1138.1: 136-145.

DUŠEK, L.; MUŽÍK, J.; KUBÁSEK, M.; KOPTÍKOVÁ, J.; ŽALOUĐÍK, J. a VYZULA, R. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita, 2005, [cit. 2020-4-25]. Dostupný z: [www.svod.cz](http://www.svod.cz).

ETEMADMOGHADAM, D.; DeFAZIO, A.; BEROUKHIM, R.; MERMEL, C.; GEORGE, J.; GETZ, G. A.; TOTHILL, R.; OKAMOTO, A.; RAEDER, M. B.; AOCs Study Group; HARNETT, P.; LADE, S.; AKSLEN, L. A.; TINKER, A. V.; LOCANDRO, B.; ALSOP, K.; CHIEW, Y. E.; TRAFICANTE, N.; FEREDAY, S.; JOHNSON, D.; FOX, S.; SELLERS, W.; URASHIMA, M. O.; SALVESEN, H. B.; MEYERSON, M. a BOWTELL, D. Integrated genome-wide DNA copy number and expression analysis identifies distinct mechanisms of primary chemoresistance in ovarian carcinomas. *Clinical cancer research*, 2009, 15.4: 1417-1427.

FAGAN-SOLIS, K. D.; REAVES, D. K.; RANGEL, M. C.; POPOFF, M. R.; STILES, B. G. a FLEMING, J.M. Challenging the roles of CD44 and lipolysis stimulated lipoprotein receptor in conveying *Clostridium perfringens* iota toxin cytotoxicity in breast cancer. *Molecular cancer*, 2014, 13.1: 163.

Fakultní nemocnice Hradec Králové, Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK, Metoda – Human epididymal protein 4 (HE4) [online]. 2009, [cit. 2020-05-04]. Dostupné z: <http://ukbd.fnhk.eu/metoda-antigen-ca-125.html>, <http://ukbd.fnhk.eu/metoda-human-epididymal-protein-4-he4.html>

FANG, X.; ZHOU, X. a WANG, X. Clinical development of phosphatidylinositol 3 – kinase inhibitors for non-Hodgkin lymphoma. *Biomarker research*, 2013, 1.1: 30.

FILIPITS, M. Mechanisms of cancer: multidrug resistance. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 2004, 1.2: 229-234.

FISCHEROVÁ, D.; ZIKÁN, M.; PINKAVOVÁ, I.; SLÁMAL, J.; FREITAG, P.; DUNDR, P.; BURGETOVÁ, A. a CIBULA, D. Předoperační diagnostika ovariálních nádorů. *Onkologie*, 2012, 6.2: 59-64.

FORD, D.; EASTON, D. F.; BISHOP, T.; NAROD, S. A. a GOLDGAR, D. E. Risks of cancer in BRCA1-mutation carriers. *The Lancet*, 1994, 343.8899: 692-695

FOSTER, J. B.; BARRETT, D. M. a KARIKÓ, K. The emerging role of in vitro-transcribed mRNA in adoptive T cell immunotherapy. *Molecular Therapy*, 2019, 27(4), 747-756

GABRIEL, B.; MILDENBERGER, S.; WEISER, CH. W.; METZGER, E.; GITSCH, G.; SCHÜLE, R. a MÜLLER, J. M. Focal adhesion kinase interacts with the transcriptional coactivator FHL2 and both are overexpressed in epithelial ovarian cancer. *Anticancer research*, 2004, 24.2 B: 921-928.

GLASS, K.; QUACKENBUSH, J.; SPENTZOS, D.; HAIBE-KAINS, B. a YUAN, G. CH. A network model for angiogenesis in ovarian cancer. *BMC bioinformatics*, 2015, 16.1: 115.

GRINER, S. E.; JOSHI, J. P. a NAHTA, R. Growth differentiation factor 15 stimulates rapamycin-sensitive ovarian cancer cell growth and invasion. *Biochemical pharmacology*, 2013, 85.1: 46-58.



HAJJAR, J.; HABRA, M. A. a NAING, A. Metformin: an old drug with new potential. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2013, 22(12), 1511-1517

HANAHAHAN, D. a WEINBERG, R. A. The hallmarks of cancer. *cell*, 2000, 100.1: 57-70.

HARRIS, K.; SHI, L.; PEAK, T.; SANDERS, S.; SKARDAL, A. a KERR, B. Abstract 1983: CD117 expression and activation induce prostate cancer metastasis. American Association for Cancer Research, *Tumor Biology*, 2017, 2017-07-02, s. 1983-1983.

HISAMATSU, T.; MABUCHI, S.; MATSUMOTO, Y.; KAWANO, M.; SASANO, T.; TAKAHASHI, R.; SAWADA, K.; ITO, K.; KURACHI, H.; SCHILDER, R. J.; TESTA, J. R a KIMURA, T. Potential role of mTORC2 as a therapeutic target in clear cell carcinoma of the ovary. *Molecular cancer therapeutics*, 2013, 12.7: 1367-1377.

HOU, L.; HOU, X.; WANG, L.; LI, Z.; XIN, B.; CHEN, J.; GAO, X. a MU, H. PD98059 impairs the cisplatin-resistance of ovarian cancer cells by suppressing ERK pathway and epithelial mesenchymal transition process. *Cancer Biomarkers*, 2018, 21.1: 187-194.

HU, X.; LI, D.; ZHANG, W.; ZHOU, J.; TANG, B. a LI, L. Matrix metalloproteinase-9 expression correlates with prognosis and involved in ovarian cancer cell invasion. *Archives of gynecology and obstetrics*, 2012, 286.6: 1537-1543.

CHENG, S.; XU, C.; JIN, Y.; LI, Y.; ZHONG, CH.; MA, J.; YANG, J.; ZHANG, N.; LI, Y.; WANG, CH.; YANG, Z. a WANG, Y. Artificial Mini Dendritic Cells Boost T Cell–Based Immunotherapy for Ovarian Cancer. *Advanced Science*, 2020, 1903301.

JACKSON, A. L.; EISENHAUER, E. L. a HERZOG, T. J. Emerging therapies: angiogenesis inhibitors for ovarian cancer. *Expert opinion on emerging drugs*, 2015, 20.2: 331-346.

JACOB, F.; MEIER, M.; CADUFF, R.; GOLDSTEIN, D.; POCHECHUEVA, T.; HACKER, N.; FINK, D. a HEINZELMANN-SCHWARZ, V. No benefit from combining HE4 and CA125 as ovarian tumor markers in a clinical setting. *Gynecologic oncology*, 2011, 121.3: 487-491.

JAMES, N. E.; CHICHESTER, C. a RIBEIRO, J. R. Beyond the biomarker: understanding the diverse roles of human epididymis protein 4 in the pathogenesis of epithelial ovarian cancer. *Frontiers in oncology*, 2018, 8: 124.

KA, K. a BANCHEREAU, J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nature Reviews Cancer*, 2012, 12.4: 265-277.

KACHLÍK, D. *Anatomie pro nelékařské zdravotnické obory*. Praha: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2018. ISBN 9788024640587.

KIM, L. C.; COOK, R. S.; CHEN, J. mTORC1 and mTORC2 in cancer and the tumor microenvironment. *Oncogene*, 2017, 36.16: 2191-2201.

KLEINER, D. E. a STETLER-STEVENSON, W. G. Matrix metalloproteinases and metastasis. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 1999, 43.1: S42-S51.

KLENER JR, P. a KLENER, P. *Principy systémové protinádorové léčby*. Praha: Grada, 2013. ISBN 9788024741710.

KLOS, D. Peritoneální karcinomatóza ovariálních nádorů—současný pohled na efekt cytoredukční chirurgie a intraperitoneální hypertermické chemoterapie. *Klinická onkologie*, 2019, 32.5.

KOOL, M.; VAN DER LINDEN, M.; DE HAAS, M.; CHEFFER, G. L.; DE VREE, M. L.; SMITH, A. J.; JANSEN, G.; PETERS, G. J.; PONNE, N.; SCHEPER, R. J.; OUDE ELFERING, R. P. J.; BAAS, F. a BORST, P. MRP3, an organic anion transporter able to transport anti-cancer drugs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1999, 96.12: 6914-6919.

KUWANO, M.; UCHIUMI, T.; HAYAKAWA, H.; ONO, M.; WADA, M.; IZUMI, H. a KOHNO, K. The basic and clinical implications of ABC transporters, Y-box-binding protein-1 (YB-1) and angiogenesis-related factors in human malignancies. *Gann Monographs on Cancer Research*, 2004, 52: 247-259.

KUWANO, M.; UCHIUMI, T.; HAYAKAWA, H.; ONO, M.; WADA, M.; IZUMI, H. a KOHNO, K. The basic and clinical implications of ABC transporters, Y-box-binding protein-1 (YB-1) and angiogenesis-related factors in human malignancies. *Cancer science*, 2003, 94.1: 9-14.

LAPLANTE, M. a SABATINI, D. M. mTOR signaling at a glance. *Journal of cell science*, 2009, 122.20: 3589-3594.

LEFLOCH, R.; POUYSSÉGUR, J. a LENORMAND, P. Single and combined silencing of ERK1 and ERK2 reveals their positive contribution to growth signaling depending on their expression levels. *Molecular and cellular biology*, 2008, 28.1: 511-527.

LIU, Bei; NASH, J.; RUNOWICZ, C.; SWEDE, H.; STEVENS, R. a LI, Z. Ovarian cancer immunotherapy: opportunities, progresses and challenges. *Journal of hematology & oncology*, 2010, 3.1: 7.

LIU, J. F.; KONSTANTINOPOULOS, P. A.; MATULONIS, U. A. PARP inhibitors in ovarian cancer: current status and future promise. *Gynecologic oncology*, 2014, 133.2: 362-369.

LIU, P.; CHENG, H.; ROBERTS, T. M. a ZHAO, J. J. Targeting the phosphoinositide 3 – kinase pathway in cancer. *Nature reviews Drug discovery*, 2009, 8.8: 627-644.

LOPICCOLO, J.; BLUMENTHAL, G. M.; BERNSTEIN, W. B. a DENNIS, P. A. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway: effective combinations and clinical considerations. *Drug Resistance Updates*, 2008, 11.1-2: 32-50.

MABUCHI, S.; KURODA, H.; TAKAHASHI, R. a SASANO, T. The PI3K/AKT/mTOR pathway as a therapeutic target in ovarian cancer. *Gynecologic oncology*, 2015, 137.1: 173-179.

MADJD, Z.; MEHRJERDI, A. Z.; SHARIFI, A. M.; MOLANAIEI, S.; SHAHZADI, S. Z. a ASADI-LARI, M. CD44+ cancer cells express higher levels of the anti-apoptotic protein Bcl-2 in breast tumours. *Cancer Immunity Archive*, 2009, 9.1: 4.

MANTIA-SMALDONE, G. M.; CORR, B.; CHU, CH. S. Immunotherapy in ovarian cancer. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 2012, 8.9: 1179-1191.

MATTOX, T. E.; NORTON, T. S.; KEETON, A. B.; WARD, A. B.; MAXUITENKO, Y. Y.; BERRY, K. L.; ZHU, B.; MUSIYENKO, A.; GAVIN, E.; RAMIREZ-ALCANTARA, V.; CHEN, X.; VALIYAVEETIL, J.; SCALICI, J.; ROCCONI, R. P.; PIAZZA, G. A. a MADEIRA DA SILVA, L. Abstract 4822: Targeting RAS and downstream signaling in high-grade serous ovarian carcinoma with novel RAS inhibitors. In: *Experimental and Molecular Therapeutics*. American Association for Cancer Research, 2019, 2019-07-01, s. 4822-4822.

MAZZOLETTI, M. a BROGGINI, M. PI3K/AKT/mTOR inhibitors in ovarian cancer. *Current medicinal chemistry*, 2010, 17.36: 4433-4447.

MCGEE, J.; BOOKMAN, M.; HARTER, P.; MARTH, C.; MCNEISH, I.; MOORE, K. N.; POVEDA, A.; HILPERT, F.; HASEGAWA, K.; BACON, M.; GATSONIS, C.; BRAND, A.; KRIDELKA, F.; BEREK, J.; OTTEVANGER, N.; LEVY, T.; SILVERBERG, S.; KIM, B. G.; OCHIAI, K.; HIRTE, H.; OKAMOTO, A. a STUART, G. Fifth Ovarian Cancer Consensus Conference: individualized therapy and patient factors. *Annals of Oncology*, 2017, 28.4: 702-710.

MCMAHON, G. VEGF receptor signaling in tumor angiogenesis. *The oncologist*, 2000, 5.90001: 3-10.

MIRALLES, C.; OREA, M.; ESPANA, P.; PROVENCIO, M.; SÁNCHEZ, A.; CANTOS, B.; CUBEDO, R.; CARCERENY, E.; BONILLA, F. a GEA, T. Cancer antigen 125 associated with multiple benign and malignant pathologies. *Annals of Surgical Oncology*, 2003, 10.2: 150-154.

MIRZA, M. R.; MONK, B. J.; HERRSTEDT, J.; OZA, A. M.; MAHNER, S.; REDONDO, A.; FABBRO, M.; LEDERMANN, J. A.; LORUSSO, D.; VERGOTE, I.; BENBARUCH, N. E.; MADRY, R.; CHRISTENSEN, R. D.; BEREK, J. S.; DORUM, A.; TINKER, A. V.; DU BOIS, A.; GONZÁLES MARTÍN, A.; FOLLANA, P.; BENIGNO, B.; ROSENBERG, P.; GILBERT, L.; RIMEL, B. J.; BUSCEMA, J.; BALSER, J. P.; AGARWAL, S. a MATULONIS, U. A. Niraparib maintenance therapy in platinum-sensitive, recurrent ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*, 2016, 375.22: 2154-2164.

MONTAGNANA, M.; BENATI, M. a DANESE, E. Circulating biomarkers in epithelial ovarian cancer diagnosis: from present to future perspective. *Annals of translational medicine*, 2017, 5.13.

MORSE, CH. B.; ANDERSON, K. G.; BATES, B. M.; CHIU, E. Y.; GARCIA, N. M. a GREENBERG, P. D. Abstract A57: Adoptive T cell therapy for ovarian cancer. In: *Engineered Immune Cells and Synthetic Immunotherapy*. American Association for Cancer Research, 2018, A57-A57.

MURATA, T.; HAISA, M.; UETSUKA, H.; NOBUHISA, T.; OOKAWA, T.; TABUCHI, Y.; SHIRAKAWA, Y.; YAMATSUJI, T.; MATSUOKA, J.; NISHIYAMA, M.; TANAKA, N. a NAOMOTO, Y. Molecular mechanism of chemoresistance to cisplatin in ovarian cancer cell lines. *International journal of molecular medicine*, 2004, 13.6: 865-868.

NICHOLSON, S.; BOMPHRAY, C. C.; THOMAS, H.; MCINDOE, A.; BARTON, D.; GORE, M. a GEORGE, A. J. T. A phase I trial of idiotypic vaccination with HMFG1 in ovarian cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2004, 53.9: 809-816.

NOOTER, K. a STOTER, G. Molecular mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Pathology-Research and Practice*, 1996, 192.7: 768-780.

NOORDERMEER, S. M.; VAN ATTIKUM, H. PARP inhibitor resistance: a tug-of-war in BRCA-mutated cells. *Trends in cell biology*, 2019.

NOSKOVÁ, V.; HAJDÚCH, M.; MIHÁL, V.; CWIERTKA, K. Mechanisms of Multidrug Resistance and Their Clinical Implications. II. Atypical MDR. *Klinická onkologie*, 2000, 13.2; SPI: 10-17.

PAIJENS, S. T.; LEFFERS, N.; DAEMEN, T.; HELFRICH, W.; BOEZEN, H. M.; COHLEN, B. J.; MELIEF, C. J. M.; DE BRUYN, M. a NIJMAN, H. W. Antigen-specific active immunotherapy for ovarian cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2018, 9.

PECHANDOVÁ, K.; BUZKOVÁ, H.; SLANAŘ, O. a PERLÍK, F. Efluxní transmembránový transporter–P-glycoprotein. *Klinická biochemie a metabolismus*, 2006, 4: 196-201.

PERICA, K; VARELA, J. C.; OELKE, M. a SCHNECK, J. Adoptive T cell immunotherapy for cancer. *Rambam Maimonides medical journal*, 2015, 6.1.

PETERA, J. a SIRÁK, I. Radioterapie epiteliálních nádorů ovarií. *Sborník přednášek*, 2010, 44-50.

PRESL, J.; BOUDA, J.; VLASÁK, P.; KOSTŮN, J. a BEREZOVSKIY, D. Hereditární riziko ovariálního karcinomu a profylaktická opatření. *Aktuální gynekologie a porodnictví*, 2018, 10.

PURÉ, E. a CUFF C. A. A crucial role for CD44 in inflammation. *Trends in molecular medicine*, 2001, 7.5: 213-221.

ROBOVÁ, H.; ROB, L.; SVOBODA, B.; FÍNEK, J.; ŠAFÁŘ, P.; ŠPAČEK, J.; PETRUŽELKA, L. a CHOVANEC, J. Guidelines gynekologických zhoubných nádorů I. Standard–Komplexní léčba ovariálních epiteliálních zhoubných nádorů. *Česká gynekologie*, 2006, 71: 237-246.

RUBIN, S. C.; RANDALL, T. C.; AMSTRONG, K. A.; CHI, D. S. a HOSKINS, W. J. Ten-year follow-up of ovarian cancer patients after second-look laparotomy with negative findings. *Obstetrics & Gynecology*, 1999, 93.1: 21-24.

RUBIN, S. C.; SABBATINI, P. a RANDALL, M. E. Ovarian Cancer. Chap. 22: 409-428. *Pazdur-Coia-Hoshins-Wagman and Ed of the Journal of Oncology. 5th ed. Melville, NY*, 2006.

SABBATINI, P.; DUPONT, J.; AGHAJANIAN, C.; DEROSA, F.; POYNOR, E.; ANDERSON, S.; HENSLEY, M.; LIVINGSTON, P.; LASONOS, A.; SPRIGGS, D.; MCGUIRE, W.; REINARTZ, S.; SCHNEIDER, S.; GRANDE, C.; LELE, S.; RODABAUGH, K.; KEPNER, J.; FERRONE, S. a ODUNSI, K. Phase I study of abagovomab in patients with epithelial ovarian, fallopian tube, or primary peritoneal cancer. *Clinical cancer research*, 2006, 12.18: 5503-5510.

SALIM, E.; ZUBAIRI, M. A.; DANISH, S. H. a ALI, U. Diagnostic Accuracy of Risk of Ovarian Malignancy Algorithm (ROMA) in Post-Menopausal Patients with Ovarian Mass. *Journal of the College of Physicians and Surgeons-Pakistan: JCPSP*, 2018, 28.6: 440-444.

SAPIEZYNSKI, J.; TARATULA, O.; RODRIGUES-RODRIGUES, L. a MINKO, T. Precision targeted therapy of ovarian cancer. *Journal of Controlled Release*, 2016, 243: 250-268.

SEDLÁKOVÁ, I.; LACO, J.; TOŠNER, J. a ŠPAČEK, J. Expres ABC transportérů Pgp, MRP1 a MRP3 u maligních a benigních změn vaječníků. *Klinická onkologie*, 2016, 358-363

SHANK, J. J.; YANG, K.; GHANNAM, J.; CABRERA, L.; JOHNSTON, C. J.; REYNOLDS, K. a BUCKANOVICH, J. Metformin targets ovarian cancer stem cells in vitro and in vivo. *Gynecologic oncology*, 2012, 127.2: 390-397.

SHEPPARD, K. E.; CULLINANE, C.; HANNAN, K. M.; WALL, M.; CHAN, J.; BARBER, F.; FOO, J.; CAMERON, D.; NEILSEN, A.; NG, P.; ELLUL, J.; KLEINSCHMIDT, M.; KINROSS, K. M.; BOWTELL, D. D.; CHRISTENSEN, J. G.; HICKS, J.; JOHNSTONE, R. W.; MCARTHUR, G. A. a PEARSON, R. B. Synergistic inhibition of ovarian cancer cell growth by combining selective PI3K/mTOR and RAS/ERK pathway inhibitors. *European journal of cancer*, 2013, 49.18: 3936-3944.

SCHMELER, K. M.; VADHAN-RAJ, S.; RAMIREZ, P. T.; APTE, S. M.; COHEN, L.; BASSETT, R. L.; LYER, R. B.; WOLF, J. K.; LEVENBACK, CH. L.; GERSHENSON, D. M. a FREEDMAN, R. S. A phase II study of GM-CSF and rIFN- $\gamma$ 1b plus carboplatin for the treatment of recurrent, platinum-sensitive ovarian, fallopian tube and primary peritoneal cancer. *Gynecologic oncology*, 2009, 113.2: 210-215.

SOUKUPOVÁ, J.; LHOTOVÁ, K.; ZEMÁNKOVÁ, P.; VOČKA, M.; JANATOVÁ, M.; STOLAŘOVÁ, L.; BORECKÁ, M.; KLEIBLOVÁ, P.; MACHÁČKOVÁ, E.; FORETOVÁ, L.; KOUDOVÁ, M.; LHOTA, F.; TAVNDZIS, S.; ZIKÁN, M.; STRÁNECKÝ, M.; VESELÁ, K.; PANCZAK, A.; KOTLAS, J. a KLEIBL, Z. Přínos masivního paralelního sekvenování pro diagnostiku dědičných forem nádorů ovaria v České republice. *Klinická onkologie*, 2019, 32.4.

STRBO, N. a PODACK, E. R. Secreted Heat Shock Protein gp96-Ig: An Innovative Vaccine Approach. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2008, 59.5: 407-416.

SUETSUGU, A.; NAGAKI, M.; AOKI, H.; MOTOHASHI, T.; KUNISADA, T. a MORIWAKI, H. Characterization of CD133+ hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 2006, 351.4: 820-824.

SUZUKI, A.; BHARDWAJ, R.; LELAND, P.; JOSHI, B. H. a PURI, R. K. Cysteamine suppresses tumor metastasis by inhibiting activity of matrix metalloproteases without inducing toxicity in mouse models of human ovarian cancer. *Tumor Biology*. American Association for Cancer Research, 2017, s. 4900-4900.

TANYI, J. L.; BOBISSE, S.; OPHIR, E.; TUYAERTS, S.; ROBERTI, A.; GENOLET, R.; BAUMGARTNER, P.; STEVENSON, B. J.; ISELI, CH.; DANGAJ, D.; CZERNIECKI, B.; SEMILIEF, A.; RACLE, J.; MICHEL, A.; XENARIOS, I.; CHIANG, CH.; MONOS, D. S.; TORIGIAN, D. A.; NISENBAUM, H. L.; MICHIELIN, O.; JUNE, C. H.; LEVINE, B. L.; POWELL JR., D. J.; GFELLER, D.; MICK, R.; DAFNI, U.; ZOETE, V.; HARARI, A.; COUKOS, G. a KANDALA, L. E. Personalized cancer vaccine effectively mobilizes antitumor T cell immunity in ovarian cancer. *Science translational medicine*, 2018, 10.436: eaao5931.

TAYLOR, D. D. a GERCEL-TAYLOR, C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecologic oncology*, 2008, 110.1: 13-21.

TOMŠOVÁ, M.; MELICHAR, B.; SEDLÁKOVÁ, I. a NOVÁ, M. Prognostické markery u ovariálního karcinomu – retrospektivní studie. *Česko-Slovenská patologie*, 2005, 51-9.

VANHAESEBROECK, B. a KHWAJA, A. PI3K $\delta$  inhibition hits a sensitive spot in B cell malignancies. *Cancer cell*, 2014, 25.3: 269-271.

VIHINEN, P. a KÄHÄRI, V. M. Matrix metalloproteinases in cancer: prognostic markers and therapeutic targets. *International journal of cancer*, 2002, 99.2: 157-166.

VLASÁK, P.; BOUDA, J.; KOSTŮN, J.; BEREZOVSKIY, D. a PRESL, J. Nové trendy v systémové léčbě ovariálního karcinomu. *Aktuální gynekologie a porodnictví*, 2018. 10:4-9.

WOOSTER, R.; NEUHAUSEN, S. L.; MANGION, J.; QUIRK, Y.; FORD, D.; COLLINS, N.; NGUYEN, K.; SEAL, S.; TRAN, T. a AVERILL, D. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science*, 1994, 265.5181: 2088-2090.

WU, X.; ZHI, X.; JI, M.; WANG, Q.; LI, Y.; XIE, J. a ZHAO, S. Midkine as a potential diagnostic marker in epithelial ovarian cancer for cisplatin/paclitaxel combination clinical therapy. *American journal of cancer research*, 2015, 5.2: 629.

YAMAMOTO, S.; KONISHI, I.; MANDAI, M.; KURODA, H.; KOMATSU, T.; NANBU, K.; SAKAHARA, H. a MORI, T. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in epithelial ovarian neoplasms: correlation with clinicopathology and patient survival, and analysis of serum VEGF levels. *British journal of cancer*, 1997, 76.9: 1221-1227.

ZÁVESKÝ, L. Karcinom ovaria – na cestě k lepší diagnostice a léčbě. *Interní Medicína*, 2011, 13: 12., 490-492.

ZÁVESKÝ, L.; JANČÁRKOVÁ, N. a KOHOUTOVÁ, M. Ovarian cancer: Origin and factors involved in carcinogenesis with potential use in diagnosis, treatment and prognosis of the disease. *Neoplasma*, 2011; 58(6): 457–468.

ZÁVESKÝ, LCA125/MUC16 jako diagnostický a prognostický marker pro karcinom ovaria. *Onkologie*, 2012, 6.2: 65-67.

ZHANG, Y.; SRIRAMAN, S. K.; KENNY, H. A.; LUTHER, E.; TORCHILIN, V. a LENGYEL, E. Reversal of chemoresistance in ovarian cancer by co-delivery of a P-glycoprotein inhibitor and paclitaxel in a liposomal platform. *Molecular cancer therapeutics*, 2016, 15.10: 2282-2293.