

**Univerzita Palackého v Olomouci  
Lékařská fakulta**

**Nové sérové biomarkery u karcinomu  
hrdla děložního a cervikálních intraepiteliálních neoplázií**

**Disertační práce**

**MUDr. Martin Maděrka**

**Školitel: prof. MUDr. Radovan Pilka, Ph.D.**

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou v seznamu použité literatury.

V Olomouci dne .....

.....  
Vlastnoruční podpis

## **Poděkování**

Děkuji svému školiteli, prof. MUDr. Radovanu Pilkovi, Ph.D., který mě po celou dobu studia vedl a předával mi své rady a zkušenosti při vědecké práci.

Dále děkuji Mgr. Kateřině Langové z Ústavu lékařské biofyziky Univerzity Palackého v Olomouci za statistické vyhodnocení získaných dat.

Velké poděkování patří také mé manželce a celé rodině za podporu při studiu.

# Obsah

<b>1. Seznam použitých zkratk</b> .....	1
<b>2. Úvod</b> .....	4
<b>2.1 Karcinom hrdla děložního</b> .....	4
2.1.1 Incidence a mortalita .....	4
2.1.2 Rizikové faktory .....	8
2.1.3 Patogeneze .....	9
2.1.4 Prognostické faktory .....	9
<b>2.2 Cervikální intraepiteliální neoplázie</b> .....	9
2.2.1 Terminologie .....	10
2.2.2 Patogeneze .....	11
<b>2.3 Sérové biomarkery v onkogynekologii</b> .....	12
<b>2.4 Sérové biomarkery u karcinomu hrdla děložního</b> .....	13
<b>2.5 Sérové biomarkery u cervikálních intraepiteliálních neoplázií</b> .....	19
<b>2.6 Studované biomarkery TFF3, AIF-1, S100-A11 a DKK1</b> .....	20
2.6.1 TFF3 .....	20
2.6.2 AIF-1 .....	22
2.6.3 Proteiny rodiny S100 .....	25
2.6.4 DKK1 .....	33
<b>3. Cíl disertační práce</b> .....	34
<b>4. Zvýšení sérových hladin S100-A11 a AIF-1 u patientek s cervikálním karcinodem a cervikální intraepiteliální neoplázií</b> .....	35
<b>4.1 Materiál a metodika</b> .....	35
<b>4.2 Charakteristika souborů</b> .....	35

4.2.1 Karcinom hrdla děložního .....	35
4.2.2 Metastázy v lymfatických uzlinách .....	36
4.2.3 CIN 1 .....	36
4.2.4 CIN 2/3 .....	36
4.2.5 Kontrolní skupina .....	36
<b>4.3 Statistické vyhodnocení dat .....</b>	<b>37</b>
<b>4.4 Výsledky .....</b>	<b>37</b>
4.4.1 Karcinom hrdla děložního vs. kontroly .....	37
4.4.2 Pozitivní vs. negativní lymfatické uzliny .....	43
4.4.3 CIN 1 vs. kontroly .....	47
4.4.4 CIN 2/3 vs. kontroly .....	49
4.4.5 Korelace s věkem .....	51
<b>5. Diskuze .....</b>	<b>54</b>
<b>6. Závěr .....</b>	<b>59</b>
<b>7. Souhrn .....</b>	<b>60</b>
<b>8. Summary .....</b>	<b>62</b>
<b>9. Literatura .....</b>	<b>64</b>
<b>10. Seznam publikací a přednášek .....</b>	<b>80</b>
<b>10.1 Práce související s disertační prací .....</b>	<b>81</b>
10.1.1 Původní vědecké publikace in extenso v daném oboru uveřejněné v časopise s IF .....	80
10.1.2 Původní vědecké publikace in extenso v daném oboru uveřejněné v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech .....	80
10.1.3 Přehledné/souborné vědecké práce v daném oboru v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech .....	81

10.1.4 Publikovaná abstrakta .....	81
10.1.5 Přednášky – hlavní autor .....	81
10.1.6 Postery – hlavní autor .....	81
<b>10.2 Ostatní publikace .....</b>	<b>82</b>
10.2.1 Původní vědecké publikace in extenso uveřejněné v časopise s IF ...	82
10.2.2 Původní vědecké publikace in extenso uveřejněné v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech .....	82
10.2.3 Přehledné/souborné vědecké práce v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech .....	82
10.2.4 Publikovaná abstrakta .....	83
10.2.5 Přednášky – hlavní autor .....	83
10.2.6 Postery – hlavní autor .....	84
<b>11. Grantové projekty .....</b>	<b>85</b>
<b>12. Přílohy .....</b>	<b>86</b>

# 1. Seznam použitých zkratk

AGC	- atypical glandular cells - atypické žlázné buňky
AIF-1	- allograft inflammatory factor 1
ASC-US	- atypical squamous cells of undetermined significance - atypické dleňdicové buňky neurčitého významu
beta-hCG	- beta-human chorionic gonadotropin - beta-lidský choriový gonadotropin
bFGF	- basic fibroblast growth factor - bazický fibroblastový růstový faktor
CA 15-3	- cancer antigen 15-3
CA 19-9	- cancer antigen 19-9
CA 72-4	- cancer antigen 72-4
CA 125	- cancer antigen 125
CEA	- carcinoembryonic antigen - karcinoembryonální antigen
CHI3L1	- chitinase-3-like protein 1 - protein 1 podobný chitináze-3
CIN	- cervical intraepithelial neoplasia - cervikální intraepiteliální neoplázie
COC	- combined oral contraception - kombinovaná orální kontracepce
CYFRA 21-1	- cytokeratin fragment 19 - cytokeratinový fragment 19
CXCR2	- C-X-C motif chemokine receptor 2
DKK	- Dickkopf-related proteins
DKK1	- Dickkopf-related protein 1
EGFR	- epidermal growth factor receptor - receptor epidermálního růstového faktoru
FGA	- fibrinogen alpha chain - fibrinogenový alfa řetězec
FGFR1	- fibroblast growth factor receptor 1 - receptor 1 fibroblastového růstového faktoru

HER2/neu	- human epidermal growth factor receptor 2 - receptor 2 lidského epidermálního růstového faktoru
HE4	- human epididymis-specific 4-disulfide core protein
HPV	- human papilloma virus - lidský papilomavirus
HSPG	- heparan sulfate proteoglykan - heparan sulfát proteoglykan
IAP	- immunosuppressive acidic protein
IDO	- indoleamine 2,3-dioxygenase - indolamin 2,3-dioxygenáza
IGF-2	- insuline-like growth factor 2 - inzulinu podobný růstový faktor 2
IL-6	- interleukin 6
IL-8	- interleukin 8
LAST	- Lower anogenital squamous terminology
LCoR	- ligand-dependent corepressor
LSIL	- low-grade squamous intraepithelial lesion - skvamózní intraepiteliální léze nízkého stupně
LU	- lymfatické uzliny
LVSI	- lymphovascular space invasion - invaze lymfovaskulárního prostoru
M-CSF	- macrophage colony-stimulating factor - faktor stimulující kolonie makrofágů
OC	- oncological cytology - onkologická cytologie
ORM2	- orosomucoid 2 - orosomukoid 2
PANC-1	- pancreatic cancer cell line
PBK	- PDZ-binding kinase - kináza vázající PDZ
PD L1	- programmed death ligand 1
PFS	- progression free survival - přežití bez progresse
p16	- protein p16



qRT-PCR	- quantitative real time – polymerase chain reaction
RAGE	- receptor for advanced glycation endproducts
RIP 140	- receptor-interacting protein 140 - protein 140 interagující s receptorem
SCC-Ag	- squamous cell carcinoma antigen - antigen spinocelulárního karcinomu
SCJ	- squamo-columnar junction - skvamokolumnární junkce
sFas	- soluble Fas
STAT 3	- signal transducer and activator of transcription 3
TFF3	- trefoil factor 3 - trefoil faktor 3
TLR-4	- toll-like receptor 4
TNF- $\alpha$	- tumor necrosis factor alpha - faktor nádorové nekrózy alfa
TOPK	- T-LAK cell-originated protein kinase
ÚZIS	- Ústav zdravotnických informací a statistiky
VaIN	- vaginal intraepithelial neoplasia - vaginální intraepiteliální neoplázie
VEGF-A	- vascular endothelial growth factor A - cévní endoteliální růstový faktor A
VEGF-C	- vascular endothelial growth factor C - cévní endoteliální růstový faktor C
VEGFR-2	- vascular endothelial growth factor receptor 2 - receptor 2 cévního endoteliálního růstového faktoru
VIN	- vulvar intraepithelial neoplasia - vulvární intraepiteliální neoplázie
2D-DIGE	- two-dimensional differential in-gel electrophoresis - dvourozměrná diferenciatní elektroforéza v gelu

## 2. Úvod

### 2.1 Karcinom hrdla děložního

Karcinom hrdla děložního je celosvětově čtvrtým nejčastějším zhoubným nádorem u žen [14]. Incidence v České republice byla v roce 2016 15,3/100 000 žen, což je 822 nových případů za rok [173]. Incidence tohoto nádorového onemocnění je v České republice zhruba o 50 % vyšší než v západních evropských zemích a mortalita (počet žen na 100 000, které na dané onemocnění zemřou za rok) byla v roce 2016 6,28 (384 žen) [173]. Pánevní lymfatické uzliny jsou primárními lymfatickými uzlinami u tohoto nádorového onemocnění [17]. V roce 2018 byla publikována nová FIGO klasifikace pro toto nádorové onemocnění, která obsahuje mnoho důležitých změn [8]. Nejčastějšími histologickými typy jsou spinocelulární karcinom (70 %) a adenokarcinom (25 %) [174].

Hlavním etiologickým faktorem je infekce HPV (human papilloma virus, lidský papilomavirus) a to především typy 16 a 18 (high-risk), které mají nejvyšší riziko maligní transformace buněk děložního čípku. HPV infekce genitálního traktu je velmi běžná, nicméně cervikální karcinom vznikne pouze u velmi malého množství těchto žen [147]. Před 50. rokem věku je HPV infikováno 75-80 % sexuálně aktivních dospělých. Po 35. roce života perzistuje virus pouze u 5-10 % žen, což je způsobeno neschopností imunitního systému virus eliminovat [82]. Rizikovými faktory (nádorovými promotory) jsou nemoci přenášené pohlavním stykem (herpes, chlamydie, HIV infekce), časná koitarché, pohlavní promiskuita, neošetřené porodní poranění čípku děložního, kouření a poruchy imunity [122][151][160][20].

#### 2.1.1 Incidence a mortalita

Karcinom hrdla děložního je celosvětově čtvrtým nejčastějším zhoubným nádorovým onemocněním u žen, a to za karcinomem prsu, kolorektálním karcinomem a karcinomem plic. Průměrná incidence celosvětově je 13,1/100 000 žen a velmi se mezi jednotlivými zeměmi liší (2-75/100 000 žen). Nejhuře je na tom Svazisko v jižní Africe, kde cervikálním karcinomem onemocní zhruba 6,5 % žen do 75 let věku. Více než jedna třetina cervikálních karcinomů byla v roce 2018 diagnostikována v Číně a Indii, v Číně

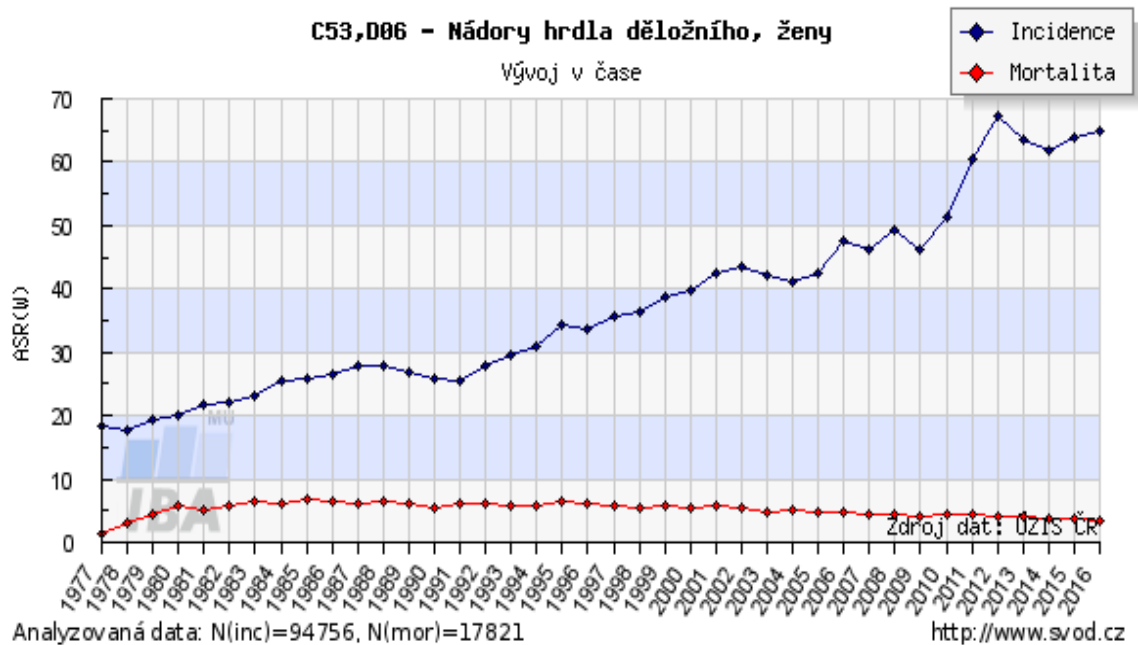
106 000 nových případů a v Indii 97 000. V Číně zemřelo v roce 2018 na toto onemocnění 48 000 žen a v Indii 60 000. Celosvětově je průměrný věk v době diagnózy 53 let a průměrný věk úmrtí na toto onemocnění je 59 let [4][14].

Incidenčí je Česká republika na úrovni rozvojových zemí, v roce 2016 byla incidence 15,3/100 000 žen. V roce 2016 byla mortalita na toto onemocnění v České republice 6,28 (384 žen). Incidence a mortalita karcinomu hrdla děložního v České republice je znázorněna na obrázku č. 1. Srovnání s ostatními zeměmi světa je znázorněno na obrázku č. 2 [173].

### Obrázek 1

Incidence a mortalita nádoru hrdla děložního v České republice od roku 1977 do roku 2017.

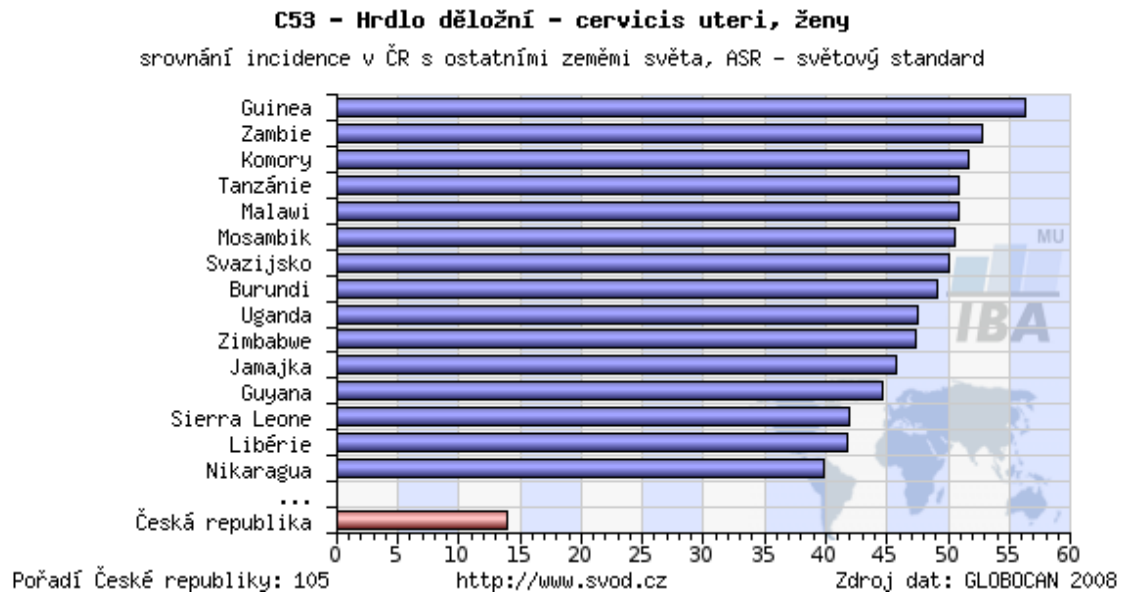
Zdroj: <http://www.svod.cz>



## Obrázek 2

Srovnání incidence karcinomu děložního hrdla v České republice s vybranými zeměmi světa. Údaje z roku 2008.

Zdroj: <http://www.svod.cz>



V Africe a Střední Americe je karcinom hrdla děložního hlavní příčinou úmrtí žen na nádorové onemocnění [4]. Snížení incidence a mortality je možné jen zvýšením počtu screenovaných pacientek, zlepšením kvality jeho provedení a rozšířením očkování proti HPV. V Austrálii se při proočkovanosti více než 70 % snížil výskyt těžkých dysplázií o 38 % [16].

### **2.1.2 Rizikové faktory**

Rizikovým faktorem je časné zahájení pohlavního života, více sexuálních partnerů, vysoce rizikový sexuální partner (promiskuitní, HPV infekce), pohlavně přenosná choroba v osobní anamnéze (např. chlamydie, herpes genitalis), nízký věk při prvním porodu (méně než 20 let), multiparita (tři a více porodů), anamnéza vaginální intraepiteliální neoplázie (VaIN) a vulvární intraepiteliální neoplázie (VIN) a také imunosuprese [127][101][3][33][31][160][128][156][106][81].

Rizikovým faktorem je i nízký socioekonomický statut, a to zřejmě z důvodu nižšího využívání screeningového programu u těchto žen. Dalším rizikovým faktorem je užívání kombinované orální antikoncepce (COC). Metaanalýzou bylo prokázáno, že u současných uživatelék COC narůstá riziko invazivního cervikálního karcinomu s dobou užívání COC (více než 5 let užívání vs. bez užívání: RR 1,90, 95 % CI 1,69-2,13). Riziko se po 10 letech od ukončení užívání COC snížilo na úroveň pacientek, které COC nikdy neužívaly [52]. Kouření cigaret je asociováno se zvýšeným rizikem spinocelulárního karcinomu, v jedné studii bylo prokázáno zvýšení rizika až o 50%, u adenokarcinomu toto prokázáno nebylo [53]. Populační studie ukazují zvýšenou incidenci cervikálního karcinomu v některých rodinách, což bylo dříve přisuzováno společnému životnímu prostředí. Novější studie toto vyvracejí, dokazují to na srovnání sourozenců, kteří mají oba rodiče stejné a na sourozencích, kteří mají pouze jednoho rodiče společného [48]. Karcinom hrdla děložního je asociován s velkým množstvím polymorfismů širokého spektra genů, které regulují např. imunitní odpověď, produkci cytokinů, angiogenezi, tumor supresorové dráhy nebo aktivátory transkripčních drah [152][43][24]. Bylo prokázáno, že cervikální karcinom je méně častý u žen, jejichž sexuální partneři mají obrázku [19].

### **2.1.3 Patogeneze**

HPV je detekován u 99,7 % pacientek s cervikálním karcinomem a má hlavní roli při vzniku tohoto nádorového onemocnění [151]. Bylo identifikováno již více než 40 typů HPV, které postihují sliznici genitálu a asi 15 z nich je považováno za onkogenní, typy 16 a 18 jsou nalezeny u více než 70 % pacientek s cervikálním karcinomem. Nejprve dochází k infekci metaplastického epitelu transformační zóny hrdla děložního onkogenním HPV, kde tato infekce musí perzistovat, dále vzniká prekanceróza a invazí přes bazální membránu vzniká nakonec invazivní karcinom [122]. HPV infekce genitálního traktu je velmi běžná, nicméně cervikální karcinom vznikne pouze u velmi malého množství těchto žen. Před 50. rokem věku je HPV infikováno 75-80 % sexuálně aktivních dospělých [82]. Většina infekcí je přechodných, pokud infekce perzistuje, tak invazivní karcinom vzniká průměrně za 15 let [131]. HPV infekce způsobuje také genitální bradavice, karcinom vulvy, pochvy, anu a penisu [15].

### **2.1.4 Prognostické faktory**

Mezi prognostické faktory patří stádium nádorového onemocnění dle TNM a FIGO klasifikace. Objemnější tumory mají horší prognózu a vyšší výskyt postižení lymfatických uzlin, s velikostí tumoru také souvisí prorůstání karcinomu do hloubky děložního hrdla a do lymfovaskulárního prostoru. Horší prognózu mají tumory s nízkou diferenciací (adenokarcinomy), malobuněčné neuroendokrinní karcinomy a adenokarcinomy se světlobuněčnou a mezonefroidní složkou [105].

## **2.2 Cervikální intraepiteliální neoplázie**

Cervikální intraepiteliální neoplázie (CIN) je přednádorové postižení děložního čípku, které může s určitým časovým odstupem vést ke vzniku invazivního karcinomu. Ektocervix je pokryt vrstevnatým dlaždicovým epitelem a endocervix je pokryt žláznovým epitelem. CIN označuje abnormality vrstevnatého dlaždicového epitelu a má tři stupně závažnosti: CIN 1 (LSIL- low grade squamous intraepithelial lesion), CIN 2 a CIN 3 (HSIL- high grade squamous intraepithelial lesion). Glandulární cervikální neoplázie může být low-grade a high-grade. High-grade glandulární cervikální neoplázie zahrnují i

adenokarcinom in situ [132][76][154]. CIN 1 je léze nízkého stupně, jedná se o atypické buněčné změny v dolní třetině epitelu. CIN 2 je považována za lézi vysokého stupně, jedná se o středně atypické buněčné změny omezené na bazální dvě třetiny epitelu se zachováním epiteliálního zrání. CIN 3 je léze vysokého stupně, kde atypické buněčné změny zahrnují více než dvě třetiny tloušťky epitelu a zahrnuje též léze postihující celou tloušťku epitelu [132][76][154].

### 2.2.1 Terminologie

Historicky byly přednádorové změny vrstevnatého dlaždicového epitelu děložního hrdla popisovány jako mírná, středně těžká nebo těžká cervikální dysplázie. V roce 1988 byl zaveden nový terminologický systém, systém Bethesda, který byl poté revidován v letech 1991 a 2001. V tomto systému byla použita odlišná terminologie pro cytologické a histologické nálezy. Cytologické nálezy byly popsány termínem „skvamózní intraepiteliální léze“ (SIL) a histologické změny byly popsány termínem „cervikální intraepiteliální neoplázie“ (CIN). CIN 1 je léze nízkého stupně, jedná se o atypické buněčné změny v dolní třetině epitelu. Často je přítomen cytopatický efekt HPV-koilocyty. Koilocyty jsou velké buňky s pyknotickým hyperchromním jádrem a perinukleárním projasněním. CIN 2 je považována za lézi vysokého stupně, jedná se o středně atypické buněčné změny omezené na bazální dvě třetiny epitelu se zachováním epiteliálního zrání. CIN 3 je léze vysokého stupně kde atypické buněčné změny zahrnují více než dvě třetiny tloušťky epitelu a zahrnuje též léze postihující celou tloušťku epitelu [132][76].

CIN 2 a CIN 3 jsou často klasifikovány společně jako CIN 2/3, je to tak z důvodu obtížné reprodukovatelnosti nálezů CIN 2. V roce 2012 byla publikována klasifikace LAST (Lower Anogenital Squamous Terminology) Americké společnosti patologie a Americké společnosti pro kolposkopii a cervikální patologii. V této klasifikaci byla navržena nová terminologie pro popis lézí asociovaných s HPV infekcí vrstevnatého dlaždicového epitelu anogenitálního traktu. V klasifikaci LAST se u histologických nálezů užívá stejná terminologie jako u nálezů cytologických. CIN 1 je v LAST klasifikaci označována jako LSIL. Léze CIN 2, které jsou p16 negativní jsou označovány jako LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion). CIN 2 léze které jsou p16 pozitivní jsou označovány



jako HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion). Léze CIN 3 jsou označovány jako HSIL [154]. V této práci užíváme terminologii CIN (Bethesda, 2001).

### 2.2.2 Patogeneze

Hlavním etiologickým faktorem prekanceróz hrdla děložního je HPV [123][151][161][20]. Existuje cca 200 typů HPV, z toho přibližně 120 typů bylo izolováno u člověka [7][71], typ HPV určuje klinické projevy infekce a onkogenní potenciál viru [158][109]. Low risk typy se neintegrují do hostitelského genomu a způsobují pouze léze nízkého stupně a benigní genitální bradavice [83]. High risk typy HPV jsou silně asociovány s high grade lézemi a s progresí k invazivnímu karcinomu, ale jsou asociovány i s low grade lézemi [13][27].

Většina HPV infekcí je přechodných a vyskytuje se u mladých pacientek. Perzistentní infekce high risk typy HPV je klíčovým faktorem v rozvoji high grade lézí a karcinomu [62], zatímco clearance HPV predikuje regresi prekancerózy [100][94][158][115]. Vyšší pravděpodobnost perzistence je asociována s několika faktory: vyšší věk, trvání infekce a high-risk HPV typy [13][49]. HPV se přenáší sexuálním kontaktem. Prekancerózy a karcinom hrdla děložního se téměř nevyskytují u žen, které neměly pohlavní styk [127][159]. HPV je epiteliotropní, jakmile je epitel infikován, virus může buď přetrvávat v cytoplazmě, nebo se integrovat do genomu hostitele. Pokud HPV zůstává v epizomálním neintegrovaném stavu, výsledkem je low grade léze. Jakmile se virus integruje do lidského genomu, mohou se vyvinout high grade léze a karcinom [107].

Vnímavost jedince k onkogenním typům HPV je určena imunitním systémem hostitele [130][96][25][63]. Výskyt CIN se zvyšuje u pacientek HIV pozitivních. Riziko infekce HPV i CIN se zvyšuje se zvyšujícím se stupněm imunosuprese [3][33][31][161]. Karcinom děložního hrdla je jednou z nejčastějších malignit u pacientek se syndromem získané imunodeficiencie (AIDS) [79]. U pacientek s chronickým onemocněním vyžadujícím dlouhodobou imunosupresivní léčbu je zvýšené riziko vzniku CIN [128][156][106][81].

Kouření cigaret a infekce HPV mají synergické účinky na vývoj CIN a cervikálního karcinomu [20]. V jedné studii s pacientkami HPV pozitivními bylo riziko cervikálního

karcinomu u kuřáček dvojnásobné až čtyřnásobné než u nekuřáček [21][112][117][5][41]. Dlouhodobé užívání perorálních kontraceptiv je považováno za kofaktor, který zvyšuje riziko karcinomu děložního hrdla u HPV pozitivních pacientek [77][52]. Nezdá se ovšem, že by se jednalo o kauzální faktor, stejně jako infekce virem herpes simplex a chlamydie [55].

### **2.3 Sérové biomarkery v onkogynekologii**

Tumor markery, které mohou být získány z krevního séra nebo z plazmy, mají v porovnání s jinými diagnostickými nástroji poměrně nízkou cenu a minimální invazivitu. Nádorové markery se staly již standardem v managementu onkologických pacientů, a tedy i pacientek s nádory reprodukčních orgánů. Pokud používáme pouze jeden tumor marker, senzitivita i specificita jsou poměrně nízké, to je možné zlepšit, použitím kombinace několika tumor markerů. Termín tumor markery je tradičně používán pro látky, většinou proteiny, jež jsou produkovány buď samotnými nádorovými buňkami nebo jinými buňkami v odpovědi na nádorový proces. Tumor markery mohou být extracelulární matrix, molekuly buněčné adheze, receptory, růstové faktory nebo třeba cytokiny. Dokonce i vlastní protilátky těla proti nádorovým markerům mohou být tumor markery. Nádorové markery jsou vylučovány do intersticiální tekutiny a nakonec (nebo přímo) do krevního řečiště, kde jsou detekovatelné ve vzorcích séra. Tumor marker může být asociován s nádorem konkrétního orgánu, nicméně většinou jsou orgánově nespecifické a jejich hladiny jsou zvýšené u nádorů různého typu a různých orgánů. Termín biomarker bývá definován jako měřitelný indikátor určitého biologického stavu či podmínky [30][88][143][148].

Na základě dřívějších studií, které hodnotily prediktivní hodnotu jednotlivých nádorových markerů, je nyní zkoumána aplikace kombinace biomarkerů. Jsou vyvíjeny statistické a matematické metody k hodnocení senzitivity a specificity těchto kombinací markerů [142]. U všech nádorů, včetně těch gynekologických, je zásadní detekovat onemocnění v co nejčasnějším stádiu. Hledání užitečných sérových biomarkerů pro časnou detekci má tedy vysokou prioritu.

Běžně používanými tumor markery v onkogynekologii jsou: CEA – carcinoembryonic antigen / karcinoembryonální antigen (karcinom prsu, karcinom endometria,

adenokarcinom hrdla děložního), CA 125 - cancer antigen 125 (karcinom ovaria, karcinom prsu, karcinom endometria), HE4 – human epididymis-specific 4-disulfide core protein (karcinom ovaria, karcinom endometria), beta-HCG – beta-human chorionic gonadotropin (tumory z germinálních buněk, choriokarcinom), alfa-fetoprotein (tumory z germinálních buněk), SCC-Ag – squamous cell carcinoma antigen / antigen skvamocelulárního karcinomu (spinoceleulární karcinom hrdla děložního), CA 15-3 - cancer antigen 15-3 (karcinom prsu, karcinom ovaria, karcinom endometria), CA 19-9 - cancer antigen 19-9 (karcinom ovaria, karcinom endometria), IAP - immunosuppressive acidic protein (karcinom endometria, karcinom hrdla děložního, karcinom ovaria), CA 72-4 - cancer antigen 72-4 (karcinom ovaria, karcinom endometria) a HER-2/neu – epidermal growth factor receptor / receptor epidermálního růstového faktoru (karcinom prsu) [93].

## **2.4 Sérové biomarkery u karcinomu hrdla děložního**

SCC-Ag je sérový marker pro cervikální karcinom, který je běžně používán v klinické praxi. Je to marker buněčné diferenciaci dlaždicových buněk, který byl poprvé izolován jako jedna ze 14 subfrakcí nádorového antigenu TA-4 (tumor-associated antigen 4) [59]. SCC-Ag obsahuje dva téměř identické proteiny, SCC-1 a SCC-2, které mají jedinečné inhibiční vlastnosti vůči proteinázám [39]. SCC-1 inhibuje chymotrypsin a katepsin L a má antiapoptotický účinek. SCC-2 inhibuje katepsin G a chymázu žírných buněk, čímž chrání epiteliální buňky před zánětem vyvolaným těmito proteázami [134]. SCC-1 a SCC-2 se nacházejí v cytosolu skvamózních buněk a jejich přítomnost v séru pacientek s pokročilými spinoceleulárními karcinomy je způsobena hlavně pasivním uvolňováním než aktivní sekrecí do cirkulace [143]. SCC-Ag je přítomen ve vysokých hladinách u 20-60 % pacientek s časným stádiem cervikálního karcinomu. Zvýšené hladiny SCC-Ag jsou přítomny u 64 % pacientek se spinoceleulárním karcinomem a 25 % pacientek s adenokarcinomem hrdla děložního [61]. Sérová hladina SCC-Ag před léčbou je asociována s velikostí tumoru, stádiem onemocnění, hloubkou stromální invaze, invazí lymfovaskulárního prostoru (LVSI) i postižením lymfatických uzlin, což bylo potvrzeno ve více studiích. Se zvýšenými sérovými hladinami SCC-Ag bylo signifikantně asociováno postižení společných ilických a paraaortálních uzlin. Velikost nádoru, stádium onemocnění, hloubka stromální invaze a sérová hladina SCC-Ag jsou významně

asociovány s recidivou cervikálního karcinomu. Zvýšení sérových hladin SCC-Ag může předcházet klinické diagnóze recidivujícího onemocnění ve 46-92 % případů, přičemž průměrná doba se pohybuje od 2 do 8 měsíců. SCC-Ag může být použit jako referenční faktor pro pooperační adjuvantní radioterapii [68][69][61][39]. SCC-Ag před léčbou je dobrým prediktorem odpovědi na neoadjuvantní chemoterapii u pacientek s pokročilým onemocněním. Scambia a kol. publikovali, že hladiny SCC-Ag >5 ng/ml souvisejí se špatnou odpovědí na chemoterapii u pacientek s lokálně pokročilým karcinomem děložního hrdla [121]. Pacientky, které mají normální sérové hladiny SCC-Ag po radioterapii nebo konkomitantní chemoradioterapii mají lepší klinické výsledky ve srovnání s těmi, které mají hladiny zvýšené [103][51]. Podle některých autorů SCC-Ag v séru během dispenzarizace nezlepšuje míru vyléčených pacientek, u kterých se nakonec vyvine recidiva [39]. Bylo však i publikováno, že provedení pozitronové emisní tomografie u pacientek s asymptomatickým zvýšením SCC-Ag, může někdy umožnit dřívější diagnózu relapsu s přínosem pro přežití [39]. SCC-Ag má u spinocelulárního karcinomu hrdla děložního vyšší senzitivitu než CYFRA 21-1 (cytokeratinový fragment 19) [39]. SCC-Ag bývá také zvýšený v séru pacientek s jinými chorobami dlaždicových buněk, včetně rakoviny jícnu, plic, hlavy a krku, stejně jako u benigních kožních onemocnění, jako je ekzém, a tento nedostatek specifity omezuje všeobecné využití SCC-Ag u cervikálního karcinomu [32]. Experimentální studie ukázaly, že expozicí TNF- $\alpha$  o koncentraci 100 IU/ml po dobu 72 hodin významně vzrostla produkce SCC-Ag v normálních lidských epidermálních keratinocytech [102].

CYFRA 21-1 je využíván jako diagnostický i prognostický marker u cervikálního karcinomu, zejména u spinocelulárního [108]. CYFRA 21-1 je v séru rozpustný fragment cytokeratinu 19, který patří mezi kyselá keratiny typu I, váží asi 40 kDa a byl poprvé popsán v roce 1981 [162]. Zvýšené sérové hladiny CYFRA 21-1 byly detekovány u 42–52 % pacientek se spinocelulárním karcinomem děložního hrdla [37][34][136]. Sérové hladiny CYFRA 21-1 před léčbou souvisejí se stádiem onemocnění, velikostí nádoru, hloubkou stromální invaze, LVSI a metastázami lymfatických uzlin [37][93][113]. Zvýšená hladina CYFRA 21-1 po léčbě, může znamenat přítomnost reziduální nádorové tkáně a můžeme takto predikovat recidivu onemocnění. Ve studii se 114 pacientkami s cervikálním karcinomem stádia IB-IV, které podstoupily radioterapii nebo konkomitantní chemoradioterapii, byly zvýšené sérové hladiny CYFRA 21-1 po léčbě spojeny s reziduálním nádorem v 70 % případů [111]. Kainz a kol. našli zvýšené sérové

hladiny CYFRA 21-1 u 8 ze 13 pacientek (61,5 %), u kterých došlo k lokální rekurenci spinocelulárního karcinomu cervixu [57]. Ve většině publikací byly u spinocelulárního karcinomu sérové hladiny CYFRA 21-1 méně senzitivní než SCC-Ag pro detekci, rozpoznání progresu i recidivy onemocnění [111][11][34][146][136]. Například Suzuki a kol. publikovali zvýšené sérové hladiny SCC-Ag u 7 (87,5 %) z 8 pacientek s rekurentním spinocelulárním karcinomem děložního hrdla, zatímco sérová hladina CYFRA 21-1 byla zvýšená pouze u 3 (37,5 %) těchto pacientek [137].

CA 125 je znám hlavně jako tumor marker ovariálního karcinomu. Sérové hladiny CA 125 se zvyšují u 20–75 % pacientek s adenokarcinomem děložního hrdla a odrážejí stádium onemocnění, velikost nádoru, histologický typ, stromální invazi, LVSI a stav lymfatických uzlin [39]. Zvýšená hladina CA 125 v séru byla detekována také u pacientek se spinocelulárním karcinomem děložního hrdla, ale s mírou positivity nižší než u pacientek s cervikálním adenokarcinomem. Zdá se, že hladiny CA 125 před léčbou mají prognostickou hodnotu a vzestup sérového CA 125 během sledování může předcházet nebo být shodný s klinickou diagnózou rekurentního cervikálního adenokarcinomu [39]. Zvýšené hladiny CA 125 jsou asociovány s vyšším stádiem karcinomu hrdla děložního a to u 42,6 % pacientek s adenokarcinomem a 18,9 % pacientek se spinocelulárním karcinomem [47]. Bylo zjištěno, že hladina CA 125 je významně vyšší u pacientek s metastázami pánevních a paraaortálních lymfatických uzlin než u pacientek bez postižení lymfatických uzlin [65]. Specificita CA 125 není optimální, protože zvýšené sérové hladiny lze někdy nalézt i u benigních gynekologických stavů, jako je endometrióza a zánětlivé onemocnění pánve, karcinomu endometria, benigních negynekologických onemocnění, jako je hepatitida, pankreatitida, renální selhání a pleurální výpotek a negynekologických malignit, včetně karcinomu plic, pankreatu a non-Hodgkinova lymfomu [39]. CA 19-9 lze využít při detekci recidivy karcinomu hrdla děložního u pacientek, které podstoupily radioterapii [1]. Hladiny CA 19-9 jsou signifikantně vyšší u pacientek s adenokarcinomem než u pacientek se spinocelulárním karcinomem hrdla děložního [12]. Kombinace CA 125 s CA 19-9 může zvýšit senzitivitu u cervikálního karcinomu na 60 % a kombinace CA 125 s CEA a SCC-Ag až na 70 % [12][92]. Vyšší sérové hladiny TNF- $\alpha$ , SCC-Ag a CA15-3 před léčbou, jsou nezávisle na sobě asociovány se špatnou prognózou pacientek s karcinomem hrdla děložního v I. a II. stádiu onemocnění. Kombinované použití těchto tří biomarkerů umožňuje efektivní vyhodnocení výsledků léčby u pacientek s cervikálním karcinomem [70].

Dalším biomarkerem je IAP (immunosuppressive acidic protein), který je zvýšen u 43–51 % karcinomů děložního hrdla [120][6]. Battaglia zjistil zvýšení IAP před léčbou u 53 % spinocelulárních karcinomů a u 40 % adenokarcinomů [6]. Hladina IAP souvisí se stádiem onemocnění a metastázami v lymfatických uzlinách a má prediktivní hodnotu pro prognózu [6].

VEGF (vaskulární endoteliální růstové faktory) jsou dimerní glykoproteiny, které se vážou na konkrétní tyrosin kinázové receptory (VEGFR) a modulují důležité funkce endoteliální buňky [70][84]. Sérové hladiny VEGF jsou často zvýšené u pacientek s rakovinou děložního hrdla a po úspěšné léčbě významně klesají. Klinický význam sérových hladin VEGF je však stále zkoumán [39]. Bylo prokázáno, že VEGF, zejména izoforma VEGF-C, je zvýšen v séru pacientek se spinocelulárním karcinomem hrdla děložního a CIN ve srovnání se zdravými ženami. U pacientek s cervikálním spinocelulárním karcinomem byly hladiny VEGF-C v séru spojeny se stádiem onemocnění, ale ne s prognózou [84][67]. Sérové hladiny VEGF-C po úspěšné léčbě těchto pacientek významně klesají [39][9]. Výsledky jedné práce naznačují, že i sérové hladiny VEGF-A a VEGFR-2 mohou být slibnými prognostickými biomarkery u cervikálního karcinomu. Sérové hladiny VEGF-A u pacientek s objemným nádorem, postižením pánevních lymfatických uzlin a infiltrací parametrií byly významně vyšší než u pacientek bez těchto faktorů. Celkové přežití pacientek s vysokými sérovými hladinami VEGF-A a VEGFR-2 bylo významně nižší než celkové přežití pacientek s nízkými hladinami [119].

Jedním z mediátorů, který je zvýšeně exprimován během protizánětlivé odpovědi, je YKL-40/CHI3L1, který je exprimován v mikroprostředí různých solidních nádorů. Expres YKL-40/CHI3L1 je také zvýšena během růstu nádoru a zvýšené sérové hladiny tohoto glykoproteinu jsou asociovány s horším přežitím a horší prognózou pacientů s nádorovým onemocněním. YKL-40/CHI3L1 je exprimován a produkován imunitními buňkami, jako jsou makrofágy a neutrofilové a neimunitními buňkami, mimo jiné např. fibroblasty [72]. Zvýšené sérové hladiny YKL-40/CHI3L1 byly nalezeny u 75 % pacientek se spinocelulárním karcinomem hrdla děložního a 78 % pacientek s adenokarcinomem hrdla děložního. Navíc se ukázalo, že zvýšené sérové hladiny YKL-40/CHI3L1 před léčbou předpovídají nepříznivou prognózu, nezávisle na stádiu onemocnění [91].

Bylo zjištěno, že angiopoetiny hrají zásadní roli v angiogenezi nádoru. Poměr sérového angiopoetinu-1 k angiopoetinu-2 může být cenným diagnostickým a prognostickým biomarkerem u cervikálního karcinomu [167]. Také apolipoprotein A1 a fibrinogen alpha chain (FGA) jsou považovány za prognostické sérové biomarkery u cervikálního karcinomu [23]. Apolipoprotein A1 je hlavní proteinová složka HDL (high density lipoprotein) a hraje důležitou roli v homeostáze cholesterolu [150]. FGA je lidský fibrinogen, který je syntetizován v játrech a tvořen 2 symetrickými molekulami doprovázenými 3 různými polypeptidovými řetězci [129] a je biomarkerem různých nádorů [166][152][26]. Uvádí se, že FGA je asociován také s patogenezí endometriózy [172]. Apolipoprotein C2 by mohl být využit jako biomarker pro predikci výsledku radioterapie u pacientek s cervikálním karcinomem [45]. Bylo zjištěno, že sérová hladina lipocalinu-2 je spojena s infekcí high risk typu HPV, bez ohledu na stupeň CIN a také s pokročilým stádiem cervikálního karcinomu. Lipocalin-2 lze použít k identifikaci pacientek s pokročilým nádorovým onemocněním cervixu, které potřebují agresivnější léčbu. Lipocalin 2 má onkogenní roli jako promotor tumorogeneze prostřednictvím zvyšování proliferace nádorových buněk a metastatického potenciálu [149].

Faktor stimulující kolonie 1 (CSF1), známý také jako faktor stimulující kolonie makrofágů (M-CSF), je cytokin, který způsobuje diferenciaci hematopoetických kmenových buněk na makrofágy nebo jiné příbuzné buněčné typy [175]. Suzuki a kol. prokázali, že sérový M-CSF byl zvýšen u 27 % případů cervikálních karcinomů [135]. IL-6 je rozpustný mediátor s pleiotropním účinkem na zánět, imunitní odpověď a hematopoézu [141]. U cervikálního karcinomu bylo zjištěno, že hladina IL-6 je významně vyšší u pacientek s metastázami pánevních a paraaortálních lymfatických uzlin než u pacientek bez postižení lymfatických uzlin [65]. Fas je široce exprimovaný protein zakotvený v membráně, který indukuje apoptózu buněk. Solubilní Fas (sFas) generovaný alternativním sestřihem mRNA, může antagonizovat funkci Fas na povrchu buňky [89]. U pacientek se spinocelulárním karcinomem hrdla děložního bylo ve srovnání s hladinami zdravých žen ( $p < 0,0001$ ) prokázáno významné zvýšení sérové hladiny sFas [64].

Expresí imunomodulačního enzymu indolamin 2,3- dioxygenázy (IDO) potlačuje funkci T-lymfocytů, což koreluje se zhoršeným přežitím u pacientů s různým nádorovým onemocněním. IDO degraduje esenciální aminokyselinu tryptofan, což vede k

imunopresivní produkci kynureninů. Koncentrace tryptofanu, 3-hydroxykynureninu a kynureninu byly měřeny ve vzorcích séra pacientek před léčbou cervikálního karcinomu a aktivita IDO byla stanovena poměrem kynurenin/tryptofan. Bylo zjištěno, že nízká koncentrace tryptofanu je signifikantně asociována s tumory většími než 4 cm a metastatickým postižením lymfatických uzlin. Dále byly nalezeny signifikantně pozitivní korelace mezi vysokými koncentracemi metabolitů tryptofanu, kynureninu a 3-hydroxykynureninu, a pokročilým stádiem onemocnění a metastázami v lymfatických uzlinách. Vysoké hladiny kynureninu byly dále asociovány s šířením tumoru do parametří a velikostí nádoru. Vysoký poměr kynurenin/tryptofan byl asociován s metastázami do lymfatických uzlin, stádiem onemocnění, velikostí nádoru, invazí do parametří a špatným přežitím pacientek. Tyto výsledky naznačují, že aktivace IDO souvisí se špatnými klinicko-patologickými parametry a horším přežitím u cervikálního karcinomu [36].

Ke kvantitativní analýze plazmatických proteinů zdravých ujkurských žen a žen s časným stádiem cervikálního karcinomu byla použita komparativní proteomika založená na dvourozměrné diferenciatní elektroforéze v gelu (2D-DIGE). Bioinformatická analýza ukázala 10 plazmatických proteinů jako kandidáty biomarkerů, zejména proteiny souvisejících s lipidovým metabolismem (apolipoprotein A4, apolipoprotein A1, apolipoprotein E), proteiny komplementu (epiplakin 1, protein 1 související s komplementovým faktorem H), metabolické enzymy (např. serózová proteáza 2 spojená s manosou) nebo proteiny související s imunitou (IGK@ protein) a další [44].

MBL asociované serinové proteázy (MASP-1, MASP-2, MASP-3, MAp-44 a MAp-19) jsou klíčové faktory při aktivaci lektinové dráhy komplementu. Sérové hladiny těchto proteáz byly asociovány s recidivou a horším přežitím u některých typů karcinomů, např. u kolorektálního a ovariálního. V jedné studii byly hodnoceny sérové hladiny MASP-1, MASP-2, MASP-3, MAp-44 a MAp-19 u pacientek s cervikálním karcinomem a CIN. Do studie bylo zařazeno celkem 351 brazilských žen. Na základě výsledků biopsie byly rozděleny do čtyř skupin: CIN 1, CIN 2, CIN 3 a invazivní karcinom. Pacientky s invazivním karcinomem vykazovaly významně vyšší sérové hladiny MASP-2, MASP-1 a MAp-19 než skupiny s CIN. Mezi čtyřmi studovanými skupinami nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly v sérových hladinách MASP-3 a MAp-44. Vysoké hladiny MASP-2, MASP-1 a MAp-19 v séru byly významně asociovány se špatným přežitím u



pacientek s invazivním karcinomem a s recidivou onemocnění. Vysoké hladiny MASP-2, MASP-1 a MAp-19 v séru jsou tedy asociovány s progresí cervikálního karcinomu a horší prognózou onemocnění. Serinové proteázy se účastní lektinové dráhy v patogenezi cervikálního karcinomu [78].

Z námi studovaných proteinů byla prokázána asociace s cervikálním karcinomem u DKK1 (Dickkopf-related protein 1). Hladiny DKK1 v séru byly významně zvýšeny u pacientek s cervikálním karcinomem ve srovnání se zdravými ženami. Expresí DKK1 v séru u cervikálního karcinomu korelovala s lymfatickými metastázami a průměrem nádoru [56].

## **2.5 Sérové biomarkery u cervikálních intraepiteliálních neoplázií**

Dosud neexistuje spolehlivý sérový biomarker pro diagnostiku cervikálních intraepiteliálních neoplázií. U pacientek s CIN byla prokázána zvýšená sérová hladina ORM2 (orosomucoid 2) a proteinu F9 [114]. ORM2 jako člen rodiny proteinů akutní fáze hraje klíčovou roli při akutním zánětu. ORM2, produkovaný endotelovými buňkami, je nezbytný pro permeabilitu kapilár, tuto roli má u zdravých i nádorových buněk [133]. U proteinu ORM2 byla prokázána zvýšená sérová hladina u pacientek s cervikální prekancerózou ve srovnání s kontrolní skupinou zdravých žen [23]. Expresí ORM2 byla významně zvýšena dále třeba i u pacientů s rakovinou močového měchýře v porovnání se zdravými kontrolami [54]. U proteinu F9 bylo prokázáno konzistentní zvyšování jeho sérové hladiny při progresi léze z LSIL na HSIL a do cervikálního karcinomu [23]. Bylo prokázáno, že VEGF, zejména jeho izoforma VEGF-C, je zvýšen v séru pacientek s CIN ve srovnání se zdravými ženami [84][67]. Poměr sérového angiopoetinu-1 k angiopoetinu-2 může být také cenným diagnostickým biomarkerem u CIN [167]. Apolipoprotein A1 a TOR (target of rapamycin) jsou biomarkery pro HSIL léze děložního hrdla [44]. Bylo zjištěno, že sérová hladina lipocalinu-2 je spojena s infekcí high risk typu HPV, bez ohledu na stupeň CIN [149]. Je snaha o identifikaci sad proteinů, které jsou regulovány v séru pacientek s CIN za využití hmotnostní spektrometrie. Například v jedné studii vykazoval panel šesti proteinů 67 % senzitivitu a 88 % specifitu při rozlišení pacientek s CIN od zdravých kontrol [10]. Z námi studovaných proteinů bylo

prokázáno, že hladiny DKK1 v séru jsou významně zvýšeny u pacientek s CIN v porovnání s pacientkami bez nálezu na děložním hrdle [56].

## **2.6 Studované biomarkery TFF3, AIF-1, S100-A11 a DKK1**

### **2.6.1 TFF3 (trefoil faktor 3)**

Trifoláty jsou skupinou malých polypeptidů bohatých na cystein, jsou exprimovány v tkáních, které obsahují buňky produkující hlen, obzvláště v gastrointestinální traktu a jiných epiteliálních tkáních. V roce 1989 byly pojmenovány Thimem jako „trefoil“ peptidy a dosud byly identifikovány tři: TFF1, TFF2 a TFF3. Zdá se, že mají rozhodující roli v přestavbě epitelu, čehož dosahují vícero mechanismy, což bylo prokázáno in vitro studiiemi [87]. TFF3 je protein, který je u lidí kódován genem se stejným názvem TFF3 a byl v roce 1991 objeven u krys. TFF3 je exprimován ve tkáních ženského genitálu a exprese je regulována estrogenem, nicméně absence fluktuace sérových hladin TFF3 v průběhu menstruačního cyklu ukazuje na to, že TFF3 pochází převážně z tkání, které nejsou pod vlivem estrogenu [144].

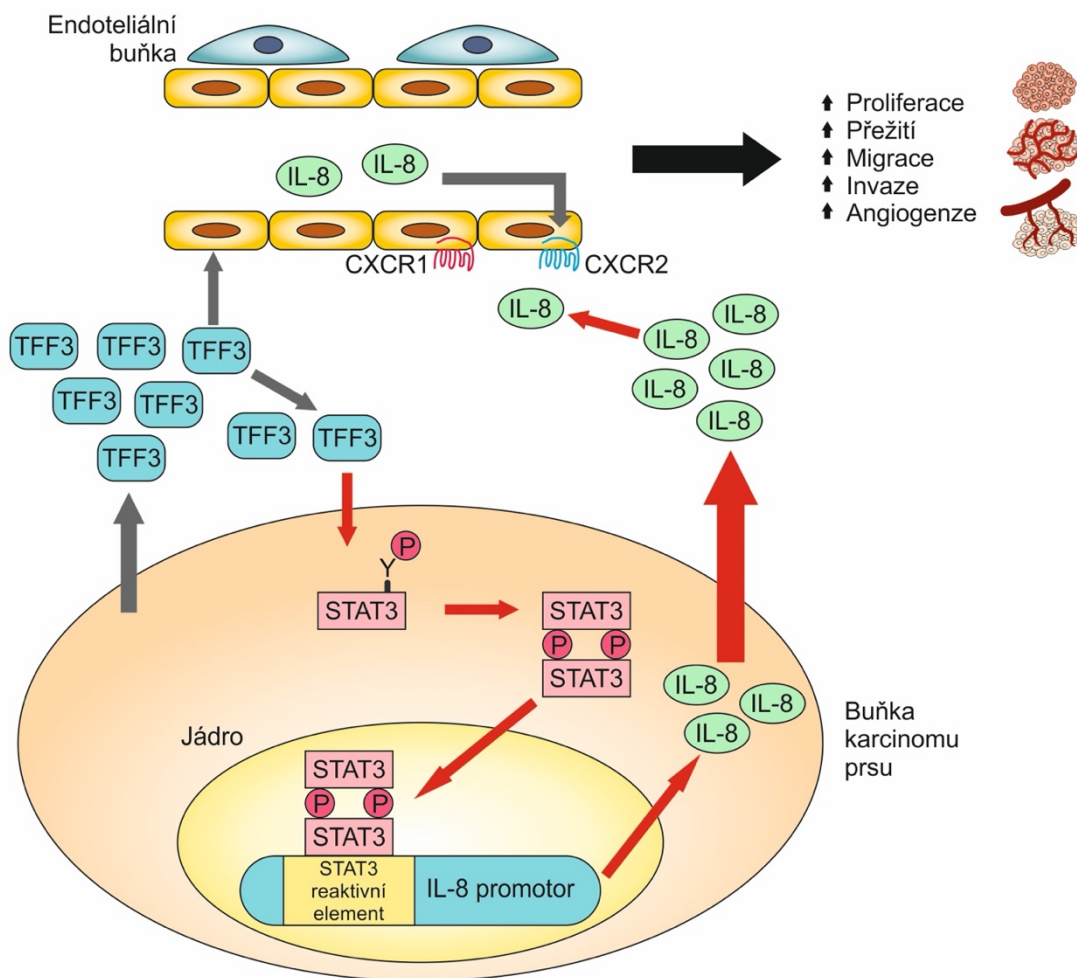
U karcinomu gastrointestinálního traktu byla prokázána asociace TFF3 s horší prognózou. TFF3 hraje zřejmě roli v progresi karcinomu žaludku [164]. U karcinomu prsu je exprese TFF3 vyšší u estrogen dependentního typu. TFF3 byl identifikován jako promotor nádorové angiogeneze, což je znázorněno graficky na obrázku č. 3 [66]. U karcinomu prsu je exprese TFF3 spojena s horším přežitím pacientek, šířením do lymfatických uzlin a vzdálenými metastázami. Existují důkazy o tom, že exprese TFF3 by u karcinomu prsu mohla být asociována s chemorezistencí [92].

### Obrázek 3

**TFF3 je secernován buňkami nádoru prsu a nepřímo podporuje angiogenní chování endoteliálních buněk cestou osy IL-8/CXCR2. STAT 3 je transkripční faktor zodpovědný za zvýšenou expresi IL-8 cestou TFF3.**

Vysvětlivky: IL-8- interleukin 8, CXCR2- C-X-C motif chemokine receptor 2, STAT 3- signal transducer and activator of transcription 3.

Upraveno podle: Lau, W. et al., 2016.



V jedné studii byla hodnocena exprese TFF3 u 91 pacientek s karcinomem ovaria pomocí imunohistochemického vyšetření. Exprese TFF3 byla zvýšená u pacientek s lepším celkovým přežitím a s lepším přežitím bez progresu (PFS, progression free survival). Byla prokázána asociace vyššího gradingu karcinomu ovaria s negativitou TFF3. Je prokázána vysoká korelace mezi vyšší expresí TFF3 u karcinomu ovaria a nižším rizikem recidivy tohoto onemocnění. Zdá se tedy, že TFF3 je u epiteliálních karcinomů ovaria spíše protektivním markerem [87].

V jiné studii bylo zkoumáno potenciální využití TFF3 jako nádorového markeru u špatně diferencovaného endometroidního karcinomu endometria. K hodnocení exprese TFF3 bylo využito kvantitativní real-time PCR (qRT-PCR) a imunohistochemické vyšetření. Byla potvrzena zvýšená genová exprese i signifikantně vyšší sérové hladiny TFF3 u pacientek se špatně diferencovaným karcinomem endometria v porovnání se zdravými pacientkami [87].

V klinické praxi je ke sledování pacientek s karcinomem endometria často používán nádorový marker CA 125, který má však jen limitované využití při sledování efektu adjuvantní terapie nebo v predikci recidivy onemocnění [87]. U pacientek s endometroidním karcinomem endometria byly sérové hladiny TFF 3 signifikantně vyšší než u pacientek normálními buňkami endometria, a i v porovnání s pacientkami s hyperplázií endometria [87][97]. Byly analyzovány hladiny CA 125 a TFF3 u pacientek se špatně diferencovaným karcinomem endometria a u zdravých kontrol a byla takto prokázána vyšší senzitivita TFF3 v porovnání s CA125 [87].

### **2.6.2 AIF-1 (allograft inflammatory factor 1)**

AIF-1 je protein nacházející se v cytoplazmě buněk, který byl objeven Utansem roku 1995 u krys [88]. AIF-1 je kódován genem AIF1, který je výrazně exprimován ve varlatech a ve slezině a slabě exprimován v mozku, plicích a ledvinách [18][153]. AIF-1 je specificky exprimován v makrofázích a mikrogliích a při aktivaci těchto buněk dochází k jeho zvýšené expresi. Aktivované makrofágy nacházíme obecně v zánětlivé tkáni. Ke zvýšené expresi AIF-1 v mikrogliích dochází následkem poškození nervu nebo ischemie CNS [88]. AIF-1 podporuje proliferaci a aktivaci endoteliálních buněk v četných vaskulárních procesech, jako je např. hojení ran, angiogeneze nebo ateroskleróza [145].

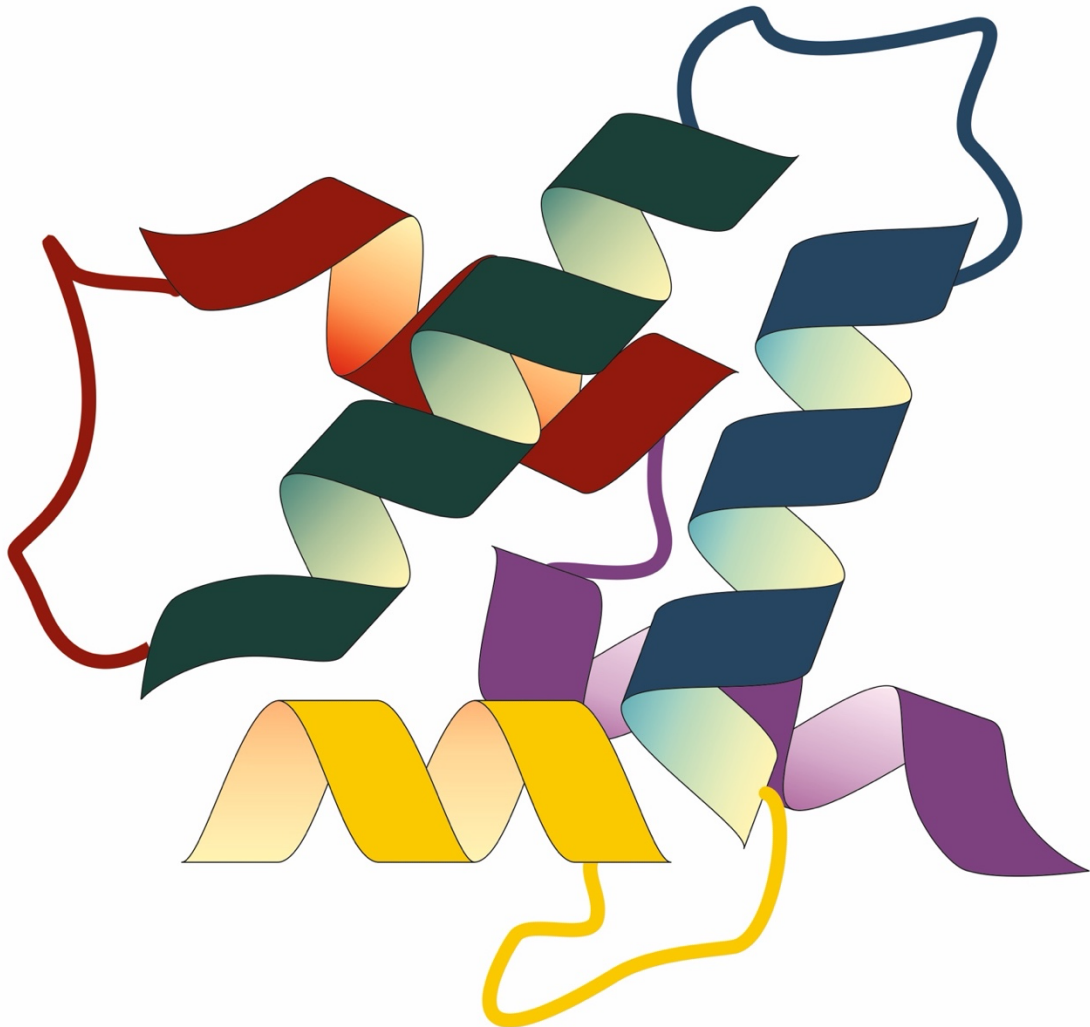
AIF-1 je jedním ze 20 proteinů, u kterých byla prokázána zvýšená exprese u karcinomu hrdla děložního. Jak se podílí na patogenezi tohoto onemocnění nebylo dosud objasněno [30]. Struktura proteinu AIF-1 je znázorněna na obrázku č. 4.

#### Obrázek 4

#### Struktura proteinu AIF-1.

Upraveno podle:

[https://en.wikipedia.org/wiki/Allograft\\_inflammatory\\_factor\\_1#/media/File:Protein\\_AIF1\\_PDB\\_2d58.png](https://en.wikipedia.org/wiki/Allograft_inflammatory_factor_1#/media/File:Protein_AIF1_PDB_2d58.png)



### 2.6.3 Proteiny rodiny S100

V současnosti bylo objeveno již 25 proteinů rodiny S100 a první byl popsán v roce 1965 Moorem v hovězím mozku [93]. S100 je označení skupiny proteinů s nízkou molekulovou hmotností (9–13 kDa), které jsou charakterizovány přítomností dvou tzv. EF-hand domén (závit-smyčka-závit). S100 proteiny váží kalcium, některé typy mohou vázat i zinek a měď. Lokalizovány jsou především intracelulárně, některé typy S100 proteinů se vyskytují i extracelulárně. Proteiny S100 mají různé funkce a jsou zastoupeny v širokém spektru biologických procesů jako je proliferace, apoptóza, migrace, zánětlivá reakce, diferenciací a jiné. Název S100 je odvozen od vlastnosti těchto proteinů rozpouštět se v nasyceném roztoku síranu amonného. V tabulce č. 1 můžeme vidět lokalizaci specifických genů S100 proteinů [93]. V tabulce č. 2 je shrnuta asociace S100 proteinů s různými typy nádorů.

**Tabulka 1****Proteiny skupiny S100 a lokace jejich specifických genů.**

<b>Proteiny S100</b>	<b>Lokace na chromozomu</b>
S100A1-S100A18 Trichohylin Fillagrin Repetin	1q21
S100B	21q22
S100G	Xp22
S100P	4p16
S100Z	5q14



## Tabulka 2

Shrnutí asociací, které byly zaznamenány mezi různými typy nádorů a proteiny S100.

Nádor	S100 proteiny
Melanom	S100B (zavedené využití v praxi), S100A2, S100A4
Prsu	<b>S100A2, S100A4, S100A6, S100A7, S100A8, S100A9, S100A11</b>
Slinivky břišní	S100A4, S100A10, <b>S100A11</b> , S100P
Kolorekta	S100A4, S100A6, S100A8, S100A9, <b>S100A11</b>
Žaludku	S100A2, S100A4, S100A8, S100A9, <b>S100A11</b>
Močového měchýře	S100A4, <b>S100A11</b> (down regulace spojena s horším přežitím)
Ovaria	<b>S100A2, S100A4, S100A6, S100A7A, S100A10, S100A14, S100A16, S100B, S100P (up-regulace spojena s horším přežitím)</b> <b>S100A1, S100A3, S100A5, S100A13 a S100G (up-regulace spojena s lepším přežitím)</b>
Prostaty	S100A2, S100A4, <b>S100A11</b> (up-regulace spojena s vyššími stádii onemocnění)
Plic	S100A2, S100A4, <b>S100A11</b> , S100P
Ledvin	S100A1, S100A2, <b>S100A11</b>
Štítné žlázy	S100A2, S100A4
Lymfom	S100A2, S100P
Hrdla děložního	<b>S100A9</b>
Karcinom endometria	<b>S100A11</b>

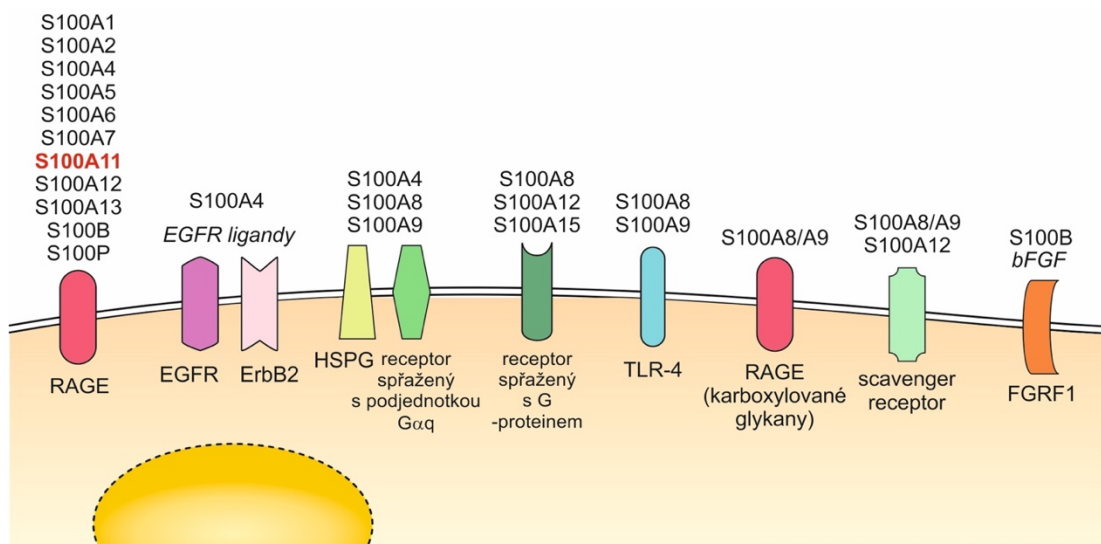
Nejvíce studovaný zástupce této rodiny proteinů, protein S100B, vykazuje neurotrofickou (při fyziologické koncentraci) nebo neurotoxickou (při vyšší koncentraci) aktivitu a jeho imunohistochemická exprese nebo hladiny v séru byly stanoveny u různých klinických poruch. Ukázalo se, že protein S100B způsobuje down-regulaci p53. Extracelulárně lokalizované S100 proteiny zasahují především do imunitních dějů, např. některé S100 proteiny působí chemotakticky, jiné mají angiogenní efekt a jiné se váží na receptory RAGE (receptor for advanced glycation endproducts). Schematické znázornění receptorů podílejících se na přenosu signálů proteinů S100 je zobrazeno na obrázku č. 5 [125].

## Obrázek 5

RAGE je jedním z receptorů nacházející se v různých typech buněk. Proteiny S100A4 a S100B interagují s ligandy EGFR a s bFGF a mohou takto aktivovat EGFR a FGFR1. Proteiny S100A4, S100A8 a S100A9 interakcí s HSPG aktivují receptory spřažené s podjednotkou G alfa q. Proteiny S100A8, S100A12 a S100A15 zase mohou aktivovat receptory spřažené s G proteinem. Proteiny S100A8 a/nebo S100A9 interagují ve fagocytech s TLR4 a jako heterokomplex S100A8/S100A9 se mohou vázat ke karboxylovanému RAGE. Proteiny S100A8/S100A9 a S100A12 také aktivují scavenger receptory.

Vysvětlivky: RAGE – receptor for advanced glycation endproducts, EGFR – epidermal growth factor receptor, HSPG – heparan sulfate proteoglykan, TLR-4 – toll-like receptor 4, bFGF – basic fibroblast growth factor, FGFR1 – fibroblast growth factor receptor 1.

Upraveno podle: Sedeghat, F. et al., 2008.



Bylo již opakovaně prokázáno, že proteiny S100 jsou asociovány s různými nádorovými onemocněními. Ačkoli ve většině případů není funkce S100 proteinů v rakoviných buňkách stále známá, specifické vzorce exprese těchto proteinů mohou být použity jako hodnotný prognostický nástroj. Přibývá důkazů o tom, že BRCA1 negativní karcinomy prsu vykazují zvýšenou expresi proteinu S100A7 [93]. S100A8 a S100A9 tvoří heterodimerový komplex, který se podílí na regulaci proliferace buněk v metastatickém procesu. Zvyšuje motilitu rakoviných buněk a usnadňuje přemístění migrujících buněk do pre-metastatických "výklenků" v cílových tkáních [50]. Proteiny S100A4 a S100B se váží na supresorový gen p53 a inhibují jeho fosforylaci, což vede k down regulaci p53, protein S100A2 zase podporuje transkripční aktivitu p53 [35].

Byla studována asociace některých S100 proteinů u pacientek s karcinomem hrdla děložního. Například exprese proteinu S100A9 v nádorových buňkách byla spojena s vyšší senzitivitou k neoadjuvantní chemoterapii u karcinomu hrdla děložního, protein S100A9 reguluje chemosenzitivitu nádorových buněk k cisplatině. V jedné studii byl použit lentivirus pro up regulaci a down regulaci exprese proteinu S100A9 v buňkách SiHa (buněčné linie odvozené od karcinomu děložního hrdla). Bylo prokázáno, že down regulace exprese proteinu S100A9 by mohla významně zvýšit míru apoptózy, což by vedlo ke zvýšení citlivosti SiHa buněk na cisplatinu [171].

Z nádorů reprodukčních orgánů byla nejvíce zkoumána asociace S100 proteinů a karcinomu ovaria. Celkem 75 % pacientek s karcinomem ovaria je diagnostikováno až v pozdním stádiu onemocnění a tento nádor je celosvětově hlavní příčinou úmrtí na gynekologické nádorové onemocnění. Role jednotlivých S100 proteinů u karcinomu ovaria je v současnosti nejasná. V roce 2018 byla publikována studie, kde byla hodnocena prognostická hodnota proteinů S100 u karcinomu ovaria. V této studii byla použita data 1657 pacientek s karcinomem ovaria, u kterých byla hodnocena asociace exprese mRNA S100 proteinů a celkového přežití těchto pacientek u různých histotypů karcinomu ovaria. Detailní pochopení úlohy proteinů S100 může mít rozhodující roli pro diagnózu a výsledky léčby pacientek s karcinomem ovaria. Bylo zjištěno, že vysoká exprese S100A2, S100A7A, S100A10 a S100A16 byla v signifikantní korelaci s horším celkovým přežitím u všech pacientek s karcinomem ovaria, zatímco exprese S100A1, S100A3, S100A5, S100A13 a S100G byla asociována s lepší prognózou. Dále bylo zjištěno, že sérová koncentrace S100A6 predikuje nádorové postižení peritonea a je

asociována s pokročilými stádii karcinomu ovaria [155]. V jiné studii byla exprese proteinů S100A4, S100A14, S100B a S100P spojena se špatnou prognózou pacientek s ovariálním karcinomem. Zvýšené cytoplazmatické barvení S100A10 je významně asociováno se sníženým celkovým přežitím a PFS u pacientek se serózním karcinomem ovarii. Další proteiny S100, jako např. S100A3, S100A5, S100A7, S100A8, S100A16 a S100G, jsou u karcinomu vaječnicků méně prozkoumány. Komplexní pochopení proteinů S100 může mít význam pro diagnózu a výsledky léčby pacientek s karcinomem ovaria a sloužit jako cíl genetické léčby [125].

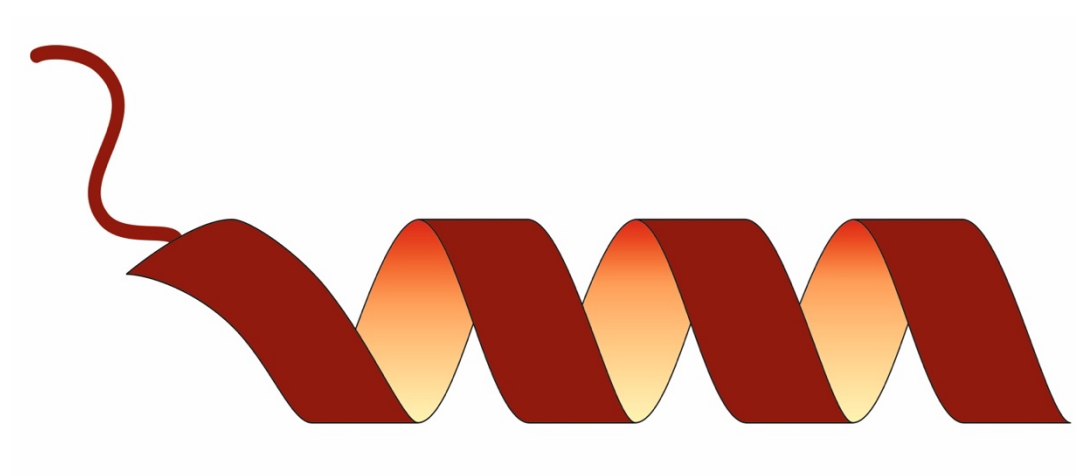
Protein S100A11, také známý jako calgizzarin nebo S100C, je důležitým členem rodiny proteinů S100, který se podílí na zahájení a progresi nádorového onemocnění [46]. S100A11 hraje klíčovou regulační roli v různých buněčných nádorových procesech, jako je proliferace, apoptóza, buněčný cyklus, migrace, invaze a epiteliálně-mezenchymální transformace. Například nadměrná exprese S100A11 podporuje proliferaci buněk PANC-1 (pancreatic cancer cell line), snižuje procento časných apoptotických buněk a zvyšuje procento buněk v S fázi [163]. Vyřazení S100A11 inhibuje migraci a invazi 786-0 buněk (karcinom ledvin) prostřednictvím upregulace E-kadherinu [73]. Zvýšená exprese S100A11 byla prokázána u karcinomu plic, ovarii, ledvin, pankreatu, žaludku [75] a prsu [58][170][17][157][73][104]. Exprese S100A11 byla významně vyšší v tkáních spinocelulárního cervikálního karcinomu než v sousedních nádorem nepostížených tkáních, tkáních s CIN a normálních cervikálních tkáních [86]. Specifická regulační role S100A11 u cervikálního karcinomu však zůstává nejasná. Protein S100A11 je považován za možný sérový marker karcinomu endometria [28]. Sérová hladina S100A11 u cervikálního karcinomu doposud studována nebyla. Na obrázku č. 6 je znázorněna struktura proteinu S100A11.

## Obrázek 6

### Struktura proteinu S100A11.

Upraveno podle:

[https://en.wikipedia.org/wiki/S100A11#/media/File:Protein\\_S100A11\\_PDB\\_1V4Z.png](https://en.wikipedia.org/wiki/S100A11#/media/File:Protein_S100A11_PDB_1V4Z.png)



#### 2.6.4 DKK1

DKK (Dickkopf-related proteins) jsou rodina sekrečních proteinů, jsou celkem čtyři: DKK1, DKK2, DKK3, DKK4 a mají molekulovou hmotnost 24-38 kDa [98]. DKK1 (Dickkopf-related protein 1) je protein, který je exprimován převážně osteoblasty a stromálními buňkami kostní dřene a je u lidí kódován genem DKK1 [99]. Byl objeven roku 1998 Glinkou u drápatky vodní (*Xenopus laevis*) a podílí se na embryonálním vývoji prostřednictvím inhibice signální dráhy Wnt [42][95]. Tato inhibice hraje klíčovou roli při embryonálním vývoji srdce, hlavy a horních končetin [124]. Signální dráha Wnt hraje důležitou roli také v tumorogenezi [110][99]. Jako negativní regulátor signální dráhy Wnt je DKK-1 downregulován u kolorektálního karcinomu, karcinomu žaludku a prsu [2][118][90]. Naproti tomu jiné studie ukázaly, že exprese DKK1 byla zvýšena u karcinomu plic, pankreatu, jícnu a hepatocelulárního karcinomu, což naznačuje potenciální onkogenní funkci DKK1 [126][80][138][169]. Bylo prokázáno, že hladiny DKK1 v séru byly významně zvýšeny u pacientek s cervikálním karcinomem v porovnání se zdravými ženami, a i u pacientek s CIN. Expres DKK1 v séru u cervikálního karcinomu korelovala s lymfatickými metastázami a průměrem nádoru a byla asociována s horší prognózou těchto pacientek. Odlišná funkce DKK1 v různých typech nádorů závisí zřejmě na histologickém typu nádoru a mikroprostředí nádorové tkáně [56]. Zvýšené hladiny DKK1 v kostní dřeni, plazmě a periferní krvi jsou spojeny s přítomností osteolytických kostních lézí u pacientů s mnohočetným myelomem, protože DKK1 zřejmě blokuje diferenciaci osteoblastů. Protože DKK1 hraje určitou roli při zánětu, který je indukován ztrátou kostní hmoty, je DKK1 cílem výzkumu terapeutických možností [85][116][60]. DKK1 se také podílí na rozvoji osteoporózy a artritidy [56]. DKK1 se pravděpodobně uplatňuje fyziologicky v lidské kůži v pigmentačních vzorcích končetin, palmární a plantární fibroblasty vylučují DKK1, který inhibuje melanocyty, jejich růst a diferenciaci, a to může vysvětlit charakteristicky lehčí pigmentaci na palmě rukou a plantě nohou [165].

### **3. Cíl disertační práce**

Hlavním cílem této práce bylo porovnat sérové hladiny TFF3, AIF-1, S100-A11 a DKK1 u pacientek s karcinomem hrdla děložního a s dysplázií hrdla děložního se zdravými pacientkami. Záměrem bylo přispět novými informacemi k pochopení patofyziologie cervikálních dysplázií a karcinomu hrdla děložního a najít nový biomarker, který by bylo možné v budoucnosti využít v onkogynekologické praxi. Dále jsme porovnávali sérové hladiny těchto biomarkerů u cervikálního karcinomu s pozitivitou a negativitou lymfatických uzlin. Hodnotili jsme závislost sérových hladin biomarkerů na věku pacientek. V současné době není dostupný žádný způsob, který by umožňoval spolehlivě predikovat individuální riziko progresu cervikální dysplázie LSIL směrem k HSIL, případně ke karcinomu. Dosud neexistuje možnost spolehlivé laboratorní predikce případného metastatického postižení lymfatických uzlin u pacientek s karcinom hrdla děložního. Studované biomarkery jsme si vybrali proto, že se jeví jako nadějně markery u různých nádorových onemocnění.



## **4. Zvýšení sérových hladin S100-A11 a AIF-1 u pacientek s karcinomem hrdla děložního a cervikální intraepiteliální neoplázií**

### **4.1 Materiál a metodika**

Naše prospektivní studie probíhala od října roku 2012 do června roku 2015 na Porodnicko-gynekologické klinice Fakultní nemocnice v Olomouci. Studie byla schválena lokální etickou komisí a všechny pacientky potvrdily svou účast ve studii podpisem informovaného souhlasu.

U všech pacientek byly předoperačně odebrány vzorky séra po 12 hodinách lačnění. Poté byly vzorky centrifugovány (1600 x g, 10 min, +4 °C) a následně provedena separace séra. Dále bylo 200 µl séra rozředěno s 100 µl fosfátového pufru (15mmol/L, pH 6,5) a dále deproteinizováno pomocí 100 µL chlazeného ethanolu (10 minut, -25 °C). Po další centrifugaci (14 000 x g, 10 minut) byl supernatant filtrován za použití titračních filtrů a vakuován, filtrovaný roztok byl vložen do HPLC (high-performance liquid chromatography) sloupce. Všechna séra byla skladována při teplotě -80 °C až do analýzy hladin TFF3, AIF-1, S100-A11 a DKK1.

### **4.2 Charakteristika souborů**

#### **4.2.1 Karcinom hrdla děložního**

Celkem bylo zařazeno do tohoto souboru 85 pacientek s karcinomem děložního hrdla, které podstoupily radikální hysterektomii nebo fertilitu zachovávající operaci s pánevní lymfadenektomií. Histopatologicky byl diagnostikován spinocelulární karcinom u 68 (80 %), adenokarcinom u 13 (15 %), mukoepidermoidní karcinom u 2 (2 %), adenoskvamózní karcinom u 1 (1 %), a 1 (1 %) pacientka měla clear cell karcinom. Dle klasifikace FIGO 2009 bylo 45 (53 %) pacientek v I. stádiu, 31 (36 %) ve II. stádiu, 7 (8 %) ve III. stádiu a 2 (2 %) pacientky ve IV. stádiu onemocnění. Průměrný věk

pacientek v tomto souboru byl 48,1 let (SD 13,6), medián 45 let, nejmladší pacientka měla 29 let a nejstarší 83 let.

#### **4.2.2 Metastázy v lymfatických uzlinách**

Celkem bylo do tohoto souboru zařazeno 79 pacientek s invazivním karcinomem hrdla děložního různého stádia, u kterých bylo provedeno histologické vyšetření lymfatických uzlin. U 32 pacientek byla prokázána metastáza v lymfatické uzlině, průměrný věk pacientek v této skupině byl 46,4 let (SD 11,9), medián 46 let, nejmladší pacientka měla 29 let a nejstarší 77 let. U 47 pacientek metastáza v lymfatické uzlině histologicky potvrzena nebyla, průměrný věk pacientek v této skupině byl 49,3 let (SD 14,3), medián 44 let, nejmladší pacientka měla 30 let a nejstarší 83 let.

#### **4.2.3 CIN 1**

Celkem bylo do tohoto souboru zařazeno 59 pacientek s histologickou diagnózou prekancerózy CIN 1. Tyto pacientky podstoupily konizaci hrdla děložního. Průměrný věk pacientek v tomto souboru byl 37,9 let (SD 11,2), medián 37 let, nejmladší pacientka měla 19 let a nejstarší 69 let.

#### **4.2.4 CIN 2/3**

Celkem bylo do tohoto souboru zařazeno 198 pacientek s histologickou diagnózou prekancerózy CIN 2 nebo CIN 3. Tyto pacientky podstoupily konizaci hrdla děložního. Průměrný věk pacientek v tomto souboru byl 34,6 let (SD 10,9), medián 32,5 let, nejmladší pacientka měla 18 let a nejstarší 87 let.

#### **4.2.5 Kontrolní skupina**

Kontrolní skupinu tvořilo 90 pacientek, které podstoupily jakoukoliv hysterektomií pro nemaligní gynekologické onemocnění. Průměrný věk pacientek v tomto souboru byl 41,6 let (SD 11,9), medián 41 let, nejmladší pacientka měla 15 let a nejstarší 77 let.

### 4.3 Statistické vyhodnocení dat

Statistické vyhodnocení dat bylo provedeno ve spolupráci s Ústavem lékařské biofyziky Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Ke statistickému zpracování dat byl použit statistický software IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.

Shapiro-Wilkovými testy normality bylo prokázáno, že data nemají normální distribuci. Data byla prezentována jako medián, variační rozpětí (minimum-maximum), průměr a směrodatná odchylka. Nezávislé skupiny (pacientky s karcinomem hrdla děložního, pacientky s CIN 1, pacientky s CIN 2/3 a kontrolní skupina s nemaligním onemocněním) byly porovnány Kruskal-Wallisovými testy. Následně byly provedeny post-hoc testy mnohonásobného porovnání pomocí Mann-Whitneyova U-testu s Bonferroniho korekcí. Graficky je distribuce dat ukázána krabicovými grafy viz níže. Vodorovná čára v krabici znázorňuje hodnotu mediánu, dolní hrana krabice hodnotu 1. kvartilu (25. percentilu), horní hrana hodnotu 3. kvartilu (75. percentilu). Anténky ukazují maximální a minimální naměřené hodnoty, pokud byly v souboru nalezeny odlehlé a extrémní hodnoty, jsou zakresleny kroužky a hvězdičkami. Všechny testy byly provedeny na hladině signifikance 0,05.

### 4.4 Výsledky

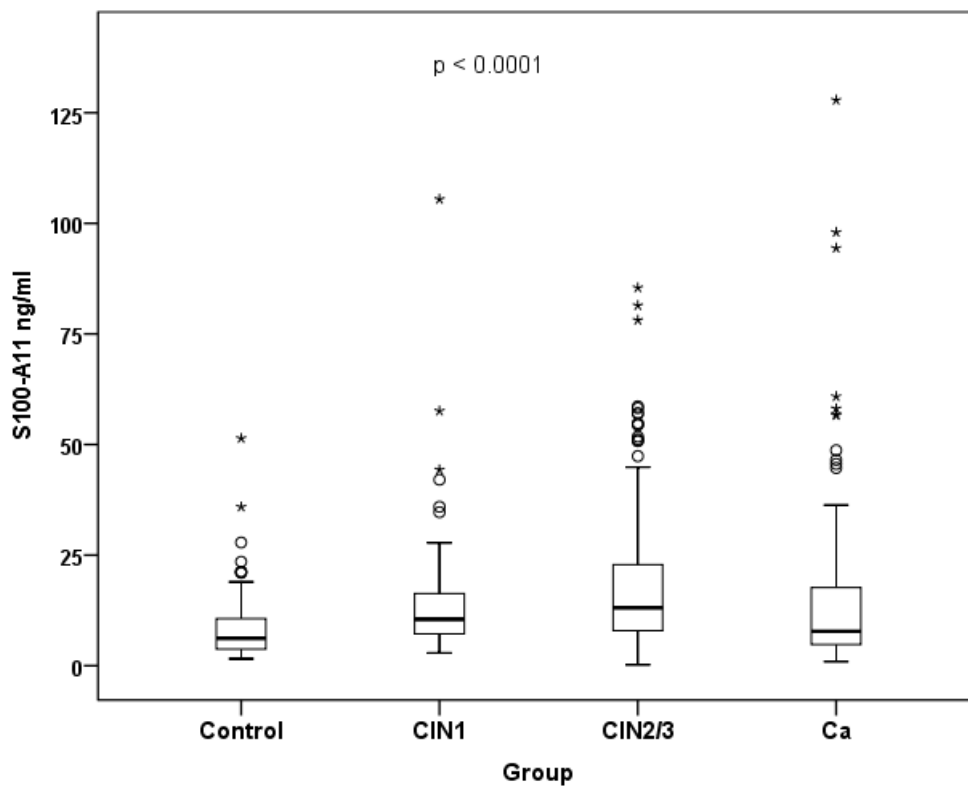
#### 4.4.1 Karcinom hrdla děložního vs. kontroly

Sérové hladiny S100-A11 ( $p < 0,0001$ ) a AIF-1 ( $p < 0,0001$ ) byly statisticky významně vyšší u pacientek s karcinomem děložního hrdla než u kontrol, což je znázorněno na krabicovém grafu č. 1 a 2. Hladiny TFF3 a DKK1 byly vyšší ( $p < 0,0001$ ) u kontrol než u pacientek s karcinomem hrdla děložního, což je znázorněno na grafu č. 3 a č. 4 a v tabulce č. 3.

### Graf 1

Na tomto grafu je znázorněno zvýšení sérové hladiny S100-A11 u pacientek s CIN 1, CIN 2/3 a karcinomem hrdla děložního (Ca) v porovnání s kontrolami (Control) ( $p < 0,0001$ ).

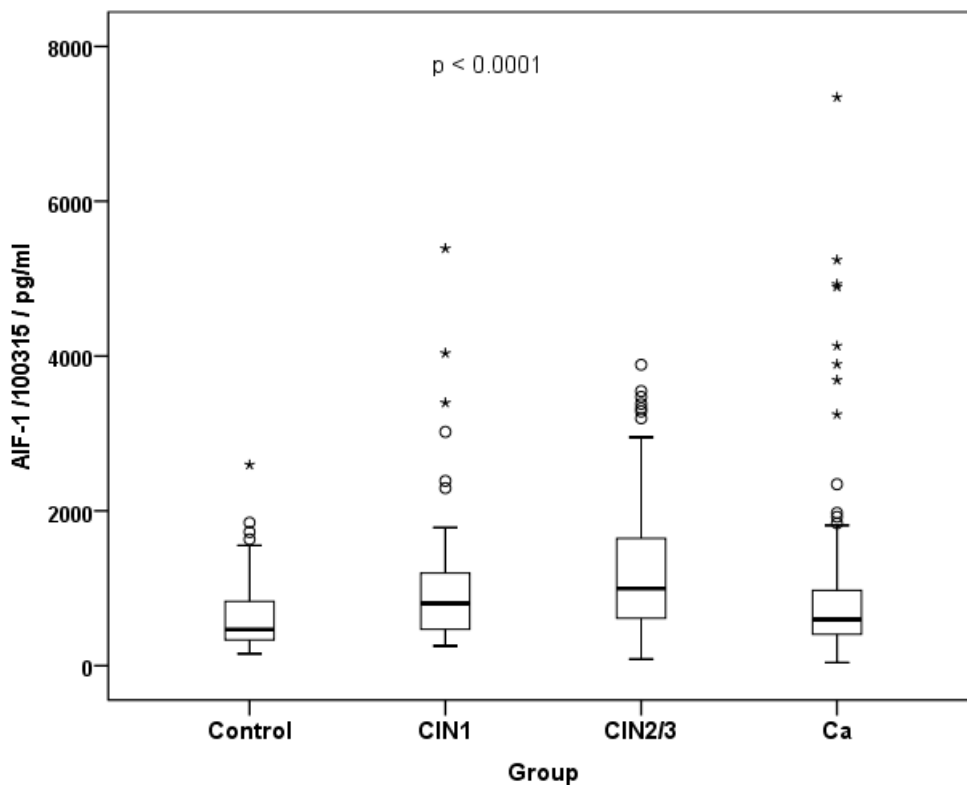
Vodorovná čára v krabicovém grafu znázorňuje hodnotu mediánu, dolní hrana krabice hodnotu 1. kvartilu (25. percentilu), horní hrana hodnotu 3. kvartilu (75. percentilu). Anténky ukazují maximální a minimální naměřené hodnoty, pokud byly v souboru nalezeny odlehle a extrémní hodnoty, jsou zakresleny kroužky a hvězdičkami.



## Graf 2

Na tomto grafu je znázorněno zvýšení sérové hladiny AIF-1 u pacientek s CIN 1, CIN 2/3 a karcinomem hrdla děložního (Ca) v porovnání s kontrolami (Control) ( $p < 0,0001$ ).

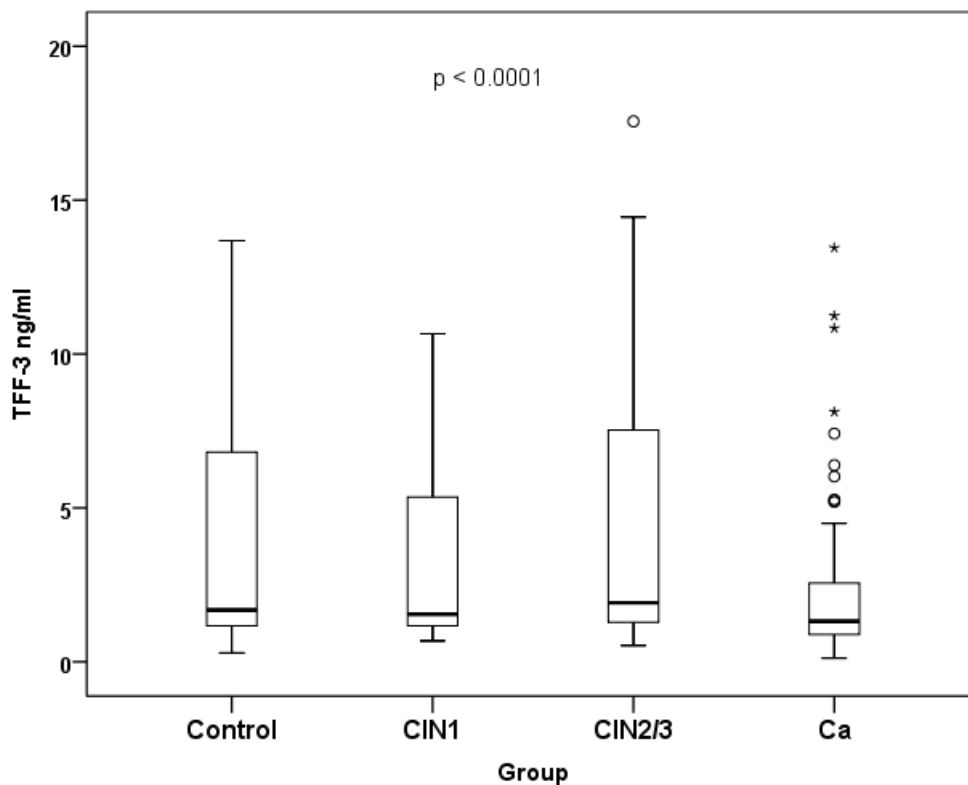
Vodorovná čára v krabicovém grafu znázorňuje hodnotu mediánu, dolní hrana krabice hodnotu 1. kvartilu (25. percentilu), horní hrana hodnotu 3. kvartilu (75. percentilu). Anténky ukazují maximální a minimální naměřené hodnoty, pokud byly v souboru nalezeny odlehle a extrémní hodnoty, jsou zakresleny kroužky a hvězdičkami.



### Graf 3

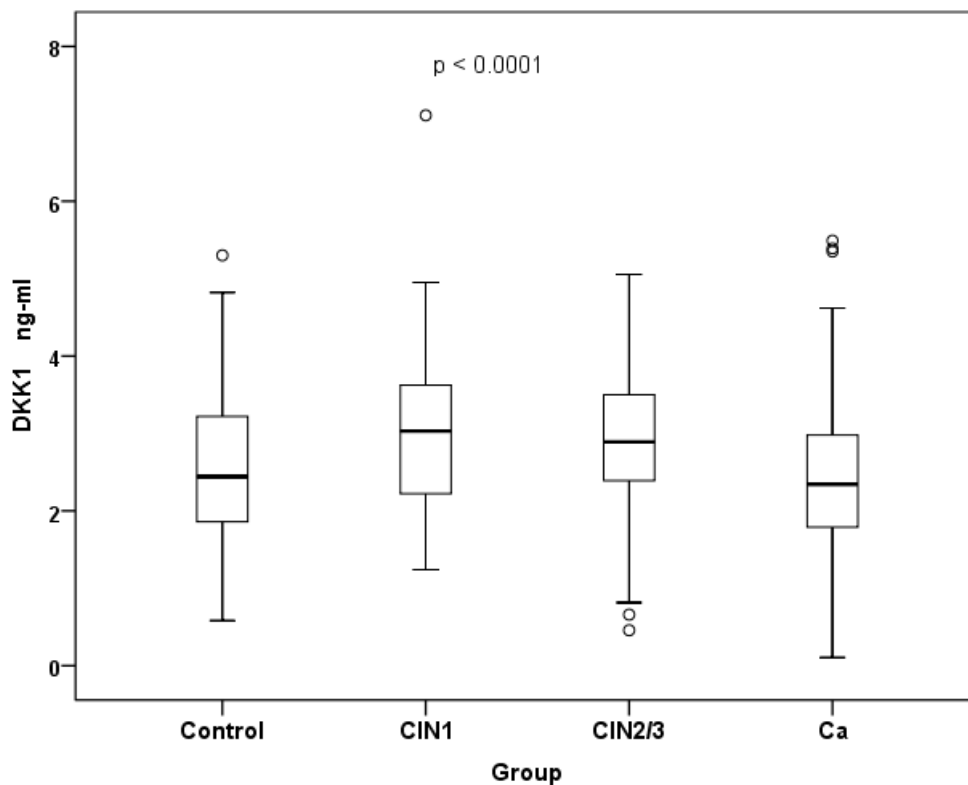
Na tomto grafu je znázorněno, že sérové hladiny TFF3 byly vyšší ( $p < 0,0001$ ) u kontrol (Control) než u pacientek s karcinomem hrdla děložního (Ca). Sérové hladiny TFF3 se mezi pacientkami s CIN1 a CIN2/3 v porovnání s kontrolami (Control) významně nelišily.

Vodorovná čára v krabicovém grafu znázorňuje hodnotu mediánu, dolní hrana krabice hodnotu 1. kvartilu (25. percentilu), horní hrana hodnotu 3. kvartilu (75. percentilu). Anténky ukazují maximální a minimální naměřené hodnoty, pokud byly v souboru nalezeny odlehle a extrémní hodnoty, jsou zakresleny kroužky a hvězdičkami.



#### Graf 4

Na tomto krabicovém grafu je znázorněno, že sérové hladiny DKK1 byly vyšší ( $p < 0,0001$ ) u kontrol (Control) než u pacientek s karcinomem hrdla děložního (Ca). Vodorovná čára v krabicovém grafu znázorňuje hodnotu mediánu, dolní hrana krabice hodnotu 1. kvartilu (25. percentilu), horní hrana hodnotu 3. kvartilu (75. percentilu). Anténky ukazují maximální a minimální naměřené hodnoty, pokud byly v souboru nalezeny odlehle a extrémní hodnoty, jsou zakresleny kroužky a hvězdičkami.



**Tabulka 3**

V tabulce je prezentován medián, minimální a maximální hodnota, průměr a směrodatná odchylka sérových hladin TFF-3, S100-A11, AIF-1 a DKK1 a věk v době odběru (jednotky SI soustavy jsou uvedeny v závorce) u pacientek s karcinomem hrdla děložního a u kontrolní skupiny.

Vysvětlivky: n- počet, SD- směrodatná odchylka, *p*- *p*-hodnota, Min- minimální hodnota, Max- maximální hodnota.

	Skupina										<i>p</i>
	Karcinom (n = 85)					Kontroly (n = 90)					
	Medián	Min	Max	Průměr	SD	Medián	Min	Max	Průměr	SD	
<b>Věk v době vyšetření (roky)</b>	45,0	29,0	83,0	48,1	13,6	41,0	15,0	77,0	41,6	11,9	<0,0001
<b>TFF-3 (ng/ml)</b>	1,3	0,1	13,5	2,2	2,4	1,7	0,3	13,7	3,7	3,6	<0,0001
<b>S100-A11 (ng/ml)</b>	7,8	0,9	127,9	16,9	22,6	6,2	1,6	51,4	8,5	7,8	<0,0001
<b>AIF-1 (pg/ml)</b>	598,1	41,1	7344,0	1068,2	1308,4	468,9	155,0	2595,1	629,3	426,8	<0,0001
<b>DKK1 (ng/ml)</b>	2,3	0,1	5,5	2,4	1,1	2,4	0,6	5,3	2,6	1,1	<0,0001



Sérové hladiny S100-A11 byly ve skupině s karcinomem hrdla děložního na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $16,9 \pm 22,6$  ng/ml (0,9-127,9), ve skupině kontrolní byly  $8,5 \pm 7,8$  ng/ml (1,6-51,4). Sérové hladiny AIF-1 byly ve skupině s karcinomem hrdla děložního na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $1068,2 \pm 1308,4$  pg/ml (41,1-598,1), ve skupině kontrolní byly  $629,3 \pm 426,8$  pg/ml (155,0-2595,1). Sérové hladiny TFF3 byly ve skupině s karcinomem hrdla děložního na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $2,2 \pm 2,4$  ng/ml (0,1-13,5), ve skupině kontrolní byly  $3,7 \pm 3,6$  ng/ml (0,3-13,7). Sérové hladiny DKK1 byly ve skupině s karcinomem hrdla děložního na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $2,4 \pm 1,1$  ng/ml (0,1-5,5), ve skupině kontrolní byly  $2,6 \pm 1,1$  ng/ml (0,6-5,3).

#### **4.4.2 Metastázy v lymfatických uzlinách vs. negativní lymfatické uzliny**

Ve 32 případech (40,5 %) ze 79 pacientek s karcinomem děložního hrdla, u kterých byly lymfatické uzliny histologicky vyšetřeny, byly pozitivní lymfatické uzliny. Sérové hladiny S100-A11 ( $p > 0,04$ ) a AIF-1 ( $p > 0,01$ ) byly významně vyšší u pacientek s pozitivními lymfatickými uzlinami ve srovnání s pacientkami s negativními lymfatickými uzlinami (viz tabulka č. 4 a graf č. 5 a č. 6).

#### Tabulka 4

V tabulce je prezentován medián, minimální a maximální hodnota, průměr a směrodatná odchylka sérových hladin TFF-3, S100-A11, AIF-1 a DKK1 a věk v době odběru (jednotky SI soustavy jsou uvedeny v závorce) u pacientek s karcinomem hrdla děložního s pozitivními a negativními lymfatickými uzlinami.

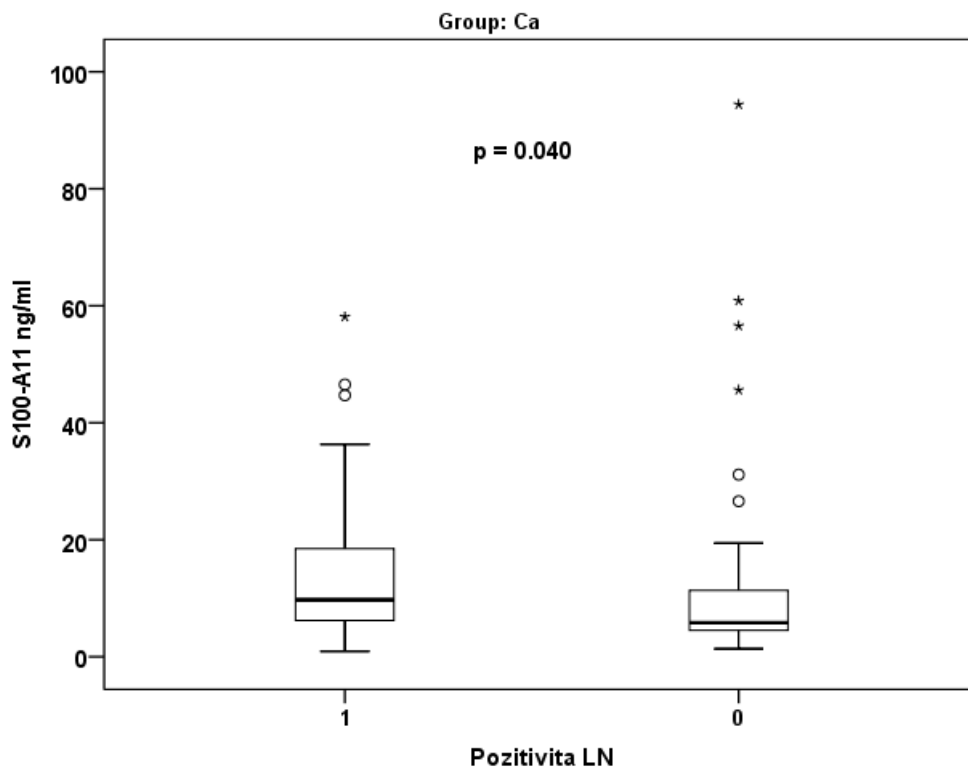
Vysvětlivky: LU- lymfatické uzliny, n- počet, SD- směrodatná odchylka, *p*- *p*-hodnota, Min- minimální hodnota, Max- maximální hodnota.

	Pozitivita LU										<i>p</i>
	ano (n = 32)					ne (n = 47)					
	Medián	Min	Max	Průměr	SD	Medián	Min	Max	Průměr	SD	
Věk v době vyšetření (roky)	46,0	29,0	77,0	46,4	11,9	44,0	30,0	83,0	49,3	14,3	0,472
TFF-3 (ng/ml)	1,2	0,7	13,5	2,2	2,6	1,2	0,1	8,1	1,9	1,7	0,814
S100-A11 (ng/ml)	9,7	0,9	58,1	14,8	13,7	5,8	1,4	94,4	12,6	17,8	0,040
AIF-1 (pg/ml)	743,2	167,0	3689,0	939,6	733,5	467,9	41,1	5242,0	778,2	991,5	0,010
DKK1 (ng/ml)	2,4	0,5	5,4	2,2	1,1	2,2	0,1	5,5	2,3	1,1	0,804

## Graf 5

Na tomto grafu je znázorněno významné zvýšení sérové hladiny S100-A11 ( $p > 0,04$ ) u patientek s pozitivními lymfatickými uzlinami (1) ve srovnání s patientkami s negativními lymfatickými uzlinami (0).

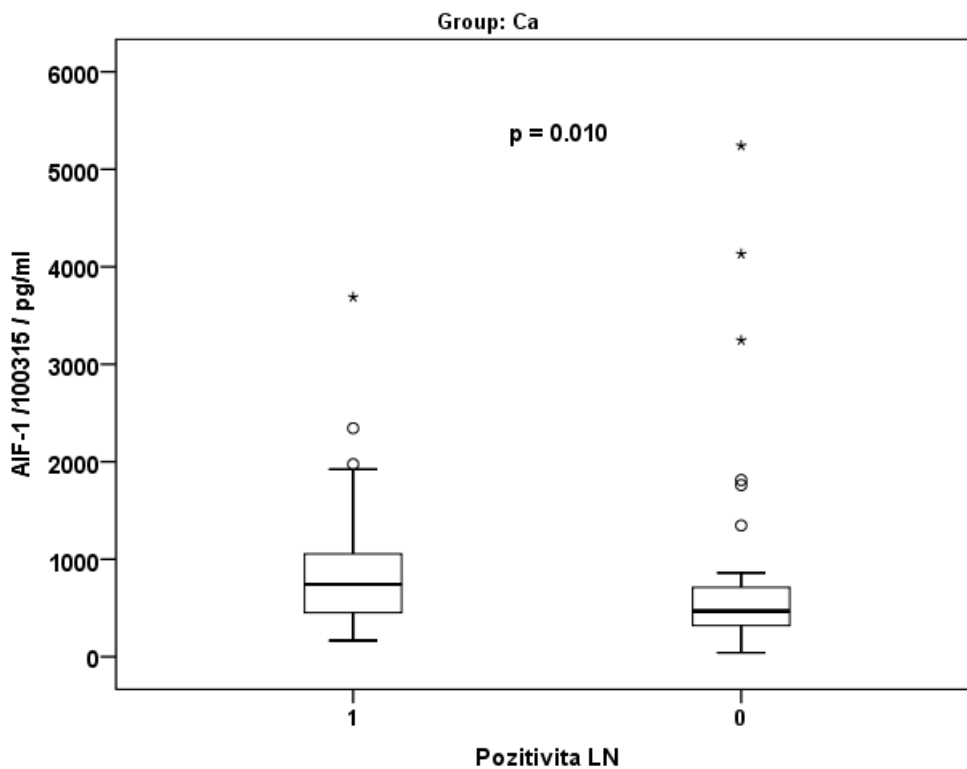
Vodorovná čára v krabicovém grafu znázorňuje hodnotu mediánu, dolní hrana krabice hodnotu 1. kvartilu (25. percentilu), horní hrana hodnotu 3. kvartilu (75. percentilu). Anténky ukazují maximální a minimální naměřené hodnoty, pokud byly v souboru nalezeny odlehle a extrémní hodnoty, jsou zakresleny kroužky a hvězdičkami.



## Graf 6

Na tomto grafu je znázorněno významné zvýšení sérové hladiny AIF-1 ( $p > 0,01$ ) u pacientek s pozitivními lymfatickými uzlinami (1) ve srovnání s pacientkami s negativními lymfatickými uzlinami (0).

Vodorovná čára v krabicovém grafu znázorňuje hodnotu mediánu, dolní hrana krabice hodnotu 1. kvartilu (25. percentilu), horní hrana hodnotu 3. kvartilu (75. percentilu). Anténky ukazují maximální a minimální naměřené hodnoty, pokud byly v souboru nalezeny odlehle a extrémní hodnoty, jsou zakresleny kroužky a hvězdičkami.



Hladiny TFF3 a DKK1 se u pacientek s karcinomem hrdla děložního nelišily ve skupinách s postižením lymfatických uzlin nebo bez něj. Sérové hladiny S100-A11 byly ve skupině s pozitivními lymfatickými uzlinami na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $14,8 \pm 13,7$  ng/ml (0,9-58,1), ve skupině s negativními lymfatickými uzlinami  $12,6 \pm 17,8$  ng/ml (1,4-94,4). Sérové hladiny AIF-1 byly ve skupině s pozitivními lymfatickými uzlinami na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $939,6 \pm 733,5$  pg/ml (167,0-3689,0), ve skupině s negativními lymfatickými uzlinami byly  $778,2 \pm 991,5$  pg/ml (41,1-5242,0). Sérové hladiny TFF3 byly ve skupině s pozitivními lymfatickými uzlinami na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $2,2 \pm 2,6$  ng/ml (0,7-13,5), ve skupině s negativními lymfatickými uzlinami byly  $1,9 \pm 1,7$  ng/ml (0,1-8,1). Sérové hladiny DKK1 byly ve skupině s pozitivními lymfatickými uzlinami na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $2,2 \pm 1,1$  ng/ml (0,5-5,4), ve skupině s negativními lymfatickými uzlinami byly  $2,3 \pm 1,1$  ng/ml (0,1-5,5).

#### **4.4.3 CIN 1 vs. kontroly**

Sérové hladiny S100-A11 ( $p < 0,0001$ ) a AIF-1 ( $p < 0,0001$ ) byly statisticky významně vyšší u pacientek s CIN 1 než u kontrolní skupiny, což je znázorněno na krabicovém grafu č. 1 a č. 2. Vodorovná čára v krabicovém grafu znázorňuje hodnotu mediánu, dolní hrana krabice hodnotu 1. kvartilu (25. percentilu), horní hrana hodnotu 3. kvartilu (75. percentilu). Anténky ukazují maximální a minimální naměřené hodnoty, pokud byly v souboru nalezeny odlehlé a extrémní hodnoty, jsou zakresleny kroužky a hvězdičkami. Hladiny TFF3 a DKK1 se u pacientek s CIN 1 a kontrolní skupinou statisticky významně nelišily, což je znázorněno na grafu č. 3 a č. 4 (viz výše). Všechna data jsou uvedena v tabulce č. 5.

## Tabulka 5

V tabulce je prezentován medián, minimální a maximální hodnota, průměr a směrodatná odchylka sérových hladin TFF-3, S100-A11, AIF-1 a DKK1 a věk v době odběru (jednotky SI soustavy jsou uvedeny v závorce) u pacientek s CIN 1 a u kontrolní skupiny.

Vysvětlivky: n- počet, SD- směrodatná odchylka, *p*- *p*-hodnota, Min- minimální hodnota, Max- maximální hodnota.

	Skupina										<i>p</i>
	CIN 1 (n = 59)					Kontroly (n = 90)					
	Medián	Min	Max	Průměr	SD	Medián	Min	Max	Průměr	SD	
<b>Věk v době vyšetření (roky)</b>	37,0	19,0	69,0	37,9	11,2	41,0	15,0	77,0	41,6	11,9	<0,0001
<b>TFF-3 (ng/ml)</b>	1,5	0,7	10,7	3,3	3,2	1,7	0,3	13,7	3,7	3,6	<0,0001
<b>S100-A11 (ng/ml)</b>	10,5	2,9	105,5	15,3	16,2	6,2	1,6	51,4	8,5	7,8	<0,0001
<b>AIF-1 (pg/ml)</b>	805,6	256,0	5389,0	1056,6	943,2	468,9	155,0	2595,1	629,3	426,8	<0,0001
<b>DKK1 (ng/ml)</b>	3,0	1,2	7,1	2,9	1,0	2,4	0,6	5,3	2,6	1,1	<0,0001

Následně provedené post hoc testy ukazují statisticky významné rozdíly sérových hladin S100-A11 a AIF-1 mezi porovnávanými skupinami (CIN 1 vs. kontroly). Sérové hladiny S100-A11 byly ve skupině s CIN 1 na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $15,3 \pm 16,2$  ng/ml (2,9-105,5), ve skupině kontrolní byly  $8,5 \pm 7,8$  ng/ml (1,6-51,4). Sérové hladiny AIF-1 byly ve skupině s CIN 1 na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $1056,6 \pm 943,2$  pg/ml (256,0-5389,0), ve skupině kontrolní byly  $629,3 \pm 426,8$  pg/ml (155,0-2595,1). Sérové hladiny TFF3 byly ve skupině s CIN 1 na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $3,3 \pm 3,2$  ng/ml (0,7-10,7), ve skupině kontrolní byly  $3,7 \pm 3,6$  ng/ml (0,3-13,7). Sérové hladiny DKK1 byly ve skupině s CIN 1 na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $2,9 \pm 1,0$  ng/ml (1,2-7,1), ve skupině kontrolní byly  $2,6 \pm 1,1$  ng/ml (0,6-5,3).

#### **4.4.4 CIN 2/3 vs. kontroly**

Sérové hladiny S100-A11 ( $p < 0,0001$ ) a AIF-1 ( $p < 0,0001$ ) byly statisticky významně vyšší u pacientek s CIN 2/3 než u kontrol, což je znázorněno na krabicovém grafu č. 1 a č. 2 (viz výše). Vodorovná čára v krabicovém grafu znázorňuje hodnotu mediánu, dolní hrana krabice hodnotu 1. kvartilu (25. percentilu), horní hrana hodnotu 3. kvartilu (75. percentilu). Anténky ukazují maximální a minimální naměřené hodnoty, pokud byly v souboru nalezeny odlehlé a extrémní hodnoty, jsou zakresleny kroužky a hvězdičkami. Hladiny TFF3 a DKK1 se u pacientek s CIN 2/3 a kontrolní skupinou statisticky významně nelišily. Všechna data jsou uvedena v tabulce č. 6.

**Tabulka 6**

V tabulce je prezentován medián, minimální a maximální hodnota, průměr a směrodatná odchylka sérových hladin TFF-3, S100-A11, AIF-1 a DKK1 a věk v době odběru (jednotky SI soustavy jsou uvedeny v závorce) u pacientek s CIN 2/3 a u kontrolní skupiny.

Vysvětlivky: n- počet, SD- směrodatná odchylka, *p*- *p*-hodnota, Min- minimální hodnota, Max- maximální hodnota.

	Skupina										<i>p</i>
	CIN 2/3 (n = 198)					Kontroly (n = 90)					
	Medián	Min	Max	Průměr	SD	Medián	Min	Max	Průměr	SD	
<b>Věk v době vyšetření (roky)</b>	32,5	18,0	87,0	34,6	10,9	41,0	15,0	77,0	41,6	11,9	<0,0001
<b>TFF-3 (ng/ml)</b>	1,9	0,5	17,6	4,0	3,6	1,7	0,3	13,7	3,7	3,6	<0,0001
<b>S100-A11 (ng/ml)</b>	13,1	0,2	85,5	18,0	15,4	6,2	1,6	51,4	8,5	7,8	<0,0001
<b>AIF-1 (pg/ml)</b>	997,4	83,7	3887,9	1188,2	777,7	468,9	155,0	2595,1	629,3	426,8	<0,0001
<b>DKK1 (ng/ml)</b>	2,9	0,5	5,1	2,9	0,9	2,4	0,6	5,3	2,6	1,1	<0,0001



Sérové hladiny S100-A11 byly ve skupině s CIN 2/3 na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $18,0 \pm 15,4$  ng/ml (0,2-85,5), ve skupině kontrolní byly  $8,5 \pm 7,8$  ng/ml (1,6-51,4). Sérové hladiny AIF-1 byly ve skupině s CIN 2/3 na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $1188,2 \pm 777,7$  pg/ml (83,7-3887,9), ve skupině kontrolní byly  $629,3 \pm 426,8$  pg/ml (155,0-2595,1). Sérové hladiny TFF3 byly ve skupině s CIN 2/3 na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $4,0 \pm 3,6$  ng/ml (0,5-17,6), ve skupině kontrolní byly  $3,7 \pm 3,6$  ng/ml (0,3-13,7). Sérové hladiny DKK1 byly ve skupině s CIN 2/3 na úrovni (průměr ± směrodatná odchylka)  $2,9 \pm 0,9$  ng/ml (0,1-5,5), ve skupině kontrolní byly  $2,6 \pm 1,1$  ng/ml (0,6-5,3).

#### **4.4.5 Korelace s věkem**

Porovnávali jsme korelaci sérových hladin vyšetřovaných biomarkerů s věkem všech 432 pacientek (CIN 1, CIN 2/3, karcinom, kontroly). Spearmanovým korelačním koeficientem byla ukázána statisticky významná slabá negativní korelace mezi věkem pacientek a všemi sledovanými markery (S100-A11, AIF-1, TFF-3 a DKK1). Z čehož lze usuzovat, že se zvyšujícím se věkem produkce všech těchto proteinů klesá a jsou tedy i nižší sérové hladiny (viz tabulka č. 7 a obrázek č. 7).

### Tabulka 7

Spearmanovým korelačním koeficientem byla prokázána statisticky významná slabá negativní korelace mezi věkem pacientek a všemi sledovanými markery (S100-A11, AIF-1, TFF-3 a DKK1).

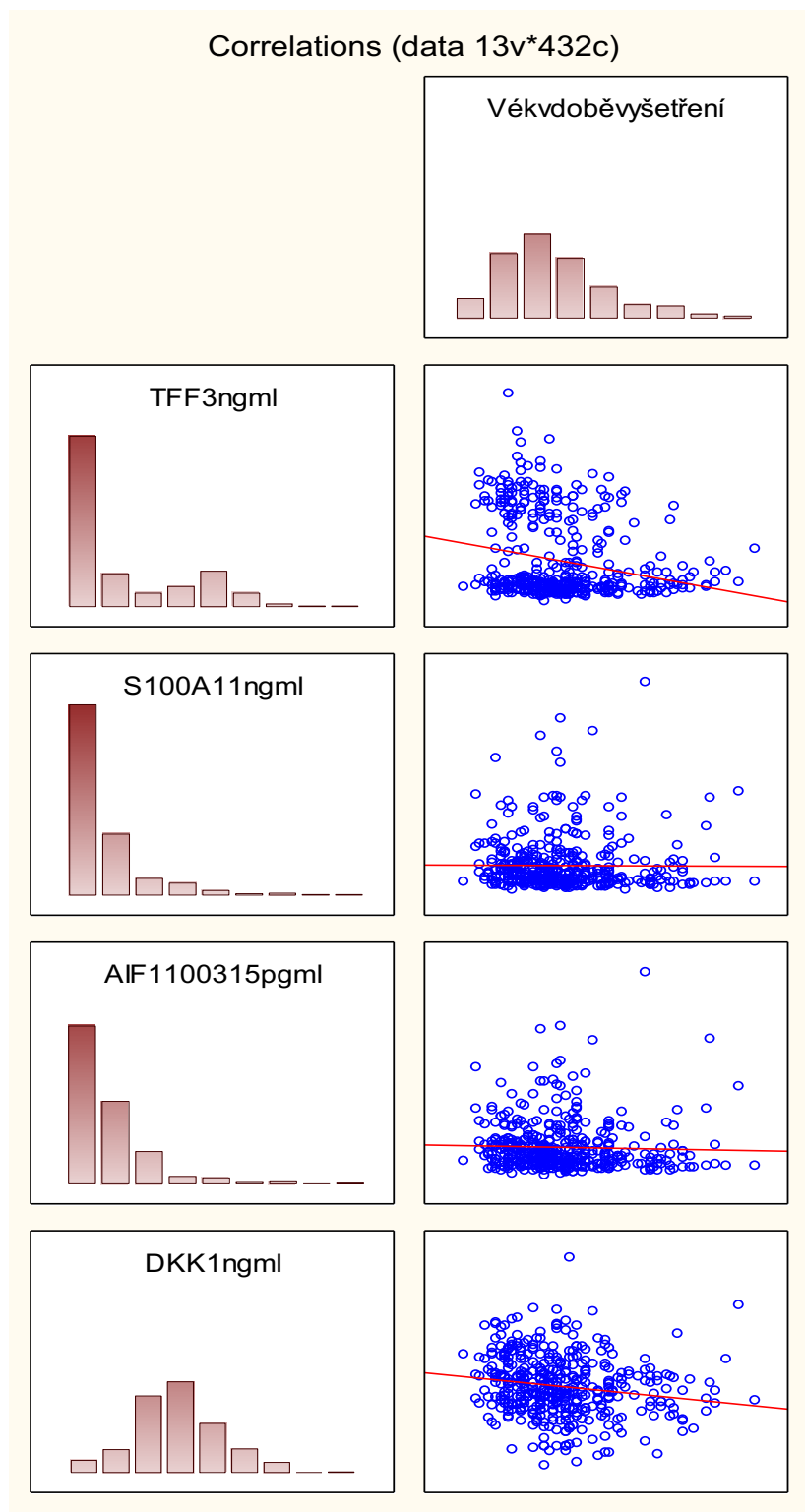
Vysvětlivky: N- počet pacientek.

Korelace			
			Věk v době vyšetření
<b>Spearmanův koeficient pořadové korelace</b>	TFF-3 (ng/ml)	Korelační koeficient	-0,205
		p-hodnota	<0,0001
		N	432
	S100-A11 (ng/ml)	Korelační koeficient	-0,124
		p-hodnota	0,010
		N	432
	AIF-1 (pg/ml)	Korelační koeficient	-0,157
		p-hodnota	0,001
		N	432
	DKK1 (ng/ml)	Korelační koeficient	-0,204
		p-hodnota	<0,0001
		N	425

## Obrázek 7

**Porovnání sérových hladin TFF3, S100-A11, AIF-1 a DKK1 s věkem všech 432 pacientek (karcinom, CIN 1, CIN 2/3, kontroly).**

Spearmanovým korelačním koeficientem byla ukázána statisticky významná slabá negativní korelace mezi věkem pacientek a všemi sledovanými markery.



## 5. Diskuze

Karcinom hrdla děložního je v České republice čtvrtým nejčastějším gynekologickým nádorem po karcinomu prsu, endometria a ovaria [173]. Metastáza v lymfatických uzlinách je u pacientek s cervikálním karcinodem jedním z důležitých prognostických faktorů. Dalšími jsou stádium onemocnění, objem tumoru, stromální invaze, grading, histologický typ (špatná prognóza např. u neuroendokrinního karcinomu a clear cell karcinomu) a také poruchy imunity [8][105].

Cervikální intraepiteliální neoplázie je přednádorové poškození děložního čípku, které může s určitým časovým odstupem vést ke vzniku karcinomu. Hlavním etiologickým faktorem prekanceróz i karcinomu hrdla děložního je HPV infekce [122]. Pokud se nepodaří zajistit celoplošnou primární prevenci tohoto onemocnění, bude nadále nutné zlepšovat sekundární prevenci formou screeningu, diagnostiku i follow-up již nemocných pacientek.

Tumor markery hrají důležitou roli v diagnostice, léčbě i sledování recidiv nádorových onemocnění. Nízká senzitivita a specifita většiny současných nádorových markerů je důvodem jejich nedostatečné prediktivní hodnoty. V ideálním případě by se sérový tumor marker objevil pouze v krvi pacientek se skutečnou malignitou, koreloval by s nádorovým stádiem a odpovědí na léčbu a mohl by být snadno, levně a reprodukovatelně měřen. Tak jako u jiných onkologických onemocnění, jsou i u cervikálního karcinomu centrem zájmu nové potenciální biomarkery. Nedávný pokrok v proteomice nás přivedl do vzrušujícího období objevování nových biomarkerů, ačkoli dostupné proteomické technologie mají svá omezení. Principy proteomické technologie vyžadují přísná guidelines pro sběr klinického materiálu, používání analytických technik i pro interpretaci výsledků.

SCC-Ag je glykoprotein, jehož zvýšená sérová hladina je asociována s cervikálním karcinodem a jeho klinické využití nabývá na významu. Zvýšené sérové hladiny SCC-Ag jsou přítomny u 64 % pacientek se spinocelulárním karcinodem a 25 % pacientek s adenokarcinodem hrdla děložního [61]. Se zvýšenými sérovými hladinami SCC-Ag bylo signifikantně asociováno poškození společných ilických a paraaortálních uzlin [68][69][61]. Některé studie uvádějí SCC-Ag jako prediktor metastáz v lymfatických

uzlinách a hladiny vyšší než 4 ng/ml nebo 8 ng/ml byly kategorizovány jako vysoce rizikové pro metastázy lymfatických uzlinách [139][140]. Gaarenstroom a kol. dospěli ovšem k závěru, že sérové hladiny SCC-Ag jsou sice asociovány s objemem nádoru, ale nejsou spolehlivým prediktorem metastáz v lymfatických uzlinách [38]. Dále například také Yoon a kol. popsali asociaci mezi sérovou hladinou SCC-Ag a objemem nádoru [168]. Zvýšené sérové hladiny CYFRA 21-1 byly detekovány u 42–52 % patientek se spinocelulárním karcinomem děložního hrdla [37][34][136] a jeho hladiny před léčbou souvisejí i s metastázami lymfatických uzlin [38][93][113]. Sérové hladiny CA 125 před léčbou se zvyšují u 20–75 % patientek s adenokarcinomem děložního hrdla a odrážejí stádium onemocnění, velikost nádoru, histologický typ, stromální invazi, LVSI a stav lymfatických uzlin [39]. Zvýšená hladina CA 125 v séru byla detekována také u patientek se spinocelulárním karcinomem děložního hrdla, ale s mírou pozitivivity nižší než u patientek s cervikálním adenokarcinomem. Zdá se, že hladiny CA 125 před léčbou mají prognostickou hodnotu a vzestup sérového CA 125 během sledování může předcházet nebo být shodný s klinickou diagnózou rekurentního cervikálního adenokarcinomu [40]. Zvýšené hladiny CA 125 jsou asociovány s vyšším stádiem karcinomu hrdla děložního a to u 42,6 % patientek s adenokarcinomem a 18,9 % patientek se spinocelulárním karcinomem [47]. Bylo zjištěno, že hladina CA 125 je významně vyšší u patientek s metastázami pánevních a paraaortálních lymfatických uzlin než u patientek bez postižení lymfatických uzlin [65]. CA 19-9 lze využít pro detekci recidivy karcinomu hrdla děložního u patientek, které podstoupily radioterapii [1]. IAP je zvýšen u 43–51 % karcinomů děložního hrdla [120][6] a jeho hladina souvisí s metastázami v lymfatických uzlinách a má prediktivní hodnotu pro prognózu [6]. VEGF-C je zvýšen u karcinomu hrdla děložního ve srovnání se zdravými ženami a je asociován se stádiem onemocnění [84][67]. Výsledky jedné práce naznačují, že i sérové hladiny VEGF-A a VEGFR-2 mohou být slibnými prognostickými biomarkery u cervikálního karcinomu. Hladiny VEGF-A u patientek s objemným nádorem, postižením pánevních lymfatických uzlin a infiltrací parametrií byly významně vyšší než u patientek bez těchto faktorů [119]. YKL-40/CHI3L1 je zvýšeno u 75 % patientek se spinocelulárním karcinomem hrdla děložního a 78 % patientek s adenokarcinomem [91]. M-CSF byl zvýšen u 27 % případů cervikálních karcinomů [135]. Hladina IL-6 je významně vyšší u patientek s metastázami pánevních a paraaortálních lymfatických uzlin než u patientek bez postižení lymfatických uzlin [65]. U patientek se spinocelulárním karcinomem hrdla děložního bylo prokázáno významné zvýšení sérové hladiny sFas [64]. Také poměr sérového

angiopoetinu-1 k angiopoetinu-2 může být cenným diagnostickým a prognostickým biomarkerem u cervikálního karcinomu [167]. Apolipoprotein A1 a FGA jsou považovány za prognostické sérové biomarkery u cervikálního karcinomu [23]. Apolipoprotein C2 by zase mohl být používán jako biomarker pro predikci výsledku radioterapie u pacientek s cervikálním karcinomem [45]. Bylo zjištěno, že sérová hladina lipocalinu-2 je spojena s infekcí high risk typu HPV, bez ohledu na stupeň CIN a také s pokročilým stádiem cervikálního karcinomu. Lipocalin-2 lze použít k identifikaci pacientek s pokročilým nádorovým onemocněním cervixu, které potřebují agresivnější léčbu [149]. Výsledky jedné práce naznačují, že aktivaceIDO souvisí se špatnými klinicko-patologickými parametry a horším přežitím u cervikálního karcinomu [36]. Asociace zvýšených sérových hladin s metastázami lymfatických uzlin byla u cervikálního karcinomu prokázána u SCC-Ag, CYFRA 21-1, CA 125, IAP, VEGF-A a IL-6. Nicméně nelze tvrdit, že by sérová hladina některého z těchto biomarkerů byla dobrým a spolehlivým prediktorem metastázy v pánevních či paraaortálních lymfatických uzlinách a výsledky různých studií si často odporují.

V současné době nejsou známy žádné spolehlivé sérové biomarkery cervikální intraepitelilální neoplázie. U cervikálních dysplázií byla studována sérová hladina ORM2 a proteinu F9. Bylo publikováno, že zvýšená sérová hladina ORM 2 je asociována s cervikální dysplázií [74]. Stejně tak bylo prokázáno zvyšování sérové hladiny proteinu F9 při progresi léze ze stádia LSIL do HSIL a cervikální karcinom [114][22]. Také poměr sérového angiopoetinu-1 k angiopoetinu-2 může být diagnostickým biomarkerem u CIN [167]. Apolipoprotein A1 a TOR (target of rapamycin) jsou možné biomarkery pro HSIL léze děložního hrdla [44]. Bylo zjištěno, že sérová hladina lipocalinu-2 je spojena s infekcí high risk typu HPV, bez ohledu na stupeň CIN. Ačkoli má lipocalin-2 onkogenní roli jako promotor tumorogeneze, není to specifický marker. Vysoké koncentrace lipocalinu-2 v séru lze nalézt u různých onemocnění, zejména v případě vzniku zánětu, infekce nebo ischemie tkáně [149].

Námi studovanými biomarkery jsou TFF-3, S100-A11, AIF-1 a DKK1. Expres TFF3 je u karcinomu prsu asociována s šířením do lymfatických uzlin a vzdálenými metastázami [93]. U pacientek s endometroidním karcinomem endometria byly sérové hladiny TFF-3 signifikantně vyšší než u pacientek s normálními buňkami endometria, a i v porovnání s pacientkami s hyperplázií endometria [87][97]. U pacientek se špatně diferencovaným

karcinomem endometria byla prokázána vyšší senzitivita TFF-3 v porovnání s CA 125 [87]. AIF-1 je proteinem, u kterého již byla prokázána zvýšená exprese u karcinomu hrdla děložního [30]. Asociace zvýšených sérových hladin AIF-1 s metastázami lymfatických uzlin byla u cervikálního karcinomu poprvé prokázána až v naší práci. Expresí proteinu S100A9 v nádorových buňkách byla u cervikálního karcinomu spojena s vyšší senzitivitou k neoadjuvantní chemoterapii. Protein S100A9 reguluje chemosenzitivitu nádorových buněk k cisplatině [171]. Dále byla například hodnocena prognostická hodnota proteinů S100 u karcinomu ovaria. Zvýšená exprese S100A2, S100A7A, S100A10 a S100A16 byla v signifikantní korelaci s horším celkovým přežitím u všech pacientek s karcinomem ovaria, zatímco exprese S100A1, S100A3, S100A5, S100A13 a S100G byla asociována s lepší prognózou. Sérová koncentrace S100A6 predikuje nádorové postižení peritonea a je asociována s pokročilými stádii karcinomu ovaria [155]. Expresí DKK1 byla zvýšena u karcinomu plic, pankreatu, jícnu a hepatocelulárního karcinomu, což naznačuje potenciální onkogenní funkci DKK1 [126][80][138][169]. Bylo prokázáno, že hladiny DKK1 v séru byly významně zvýšeny u pacientek s cervikálním karcinomem v porovnání se zdravými ženami, a i u pacientek s CIN. Expresí DKK1 v séru u cervikálního karcinomu korelovala s lymfatickými metastázami a průměrem nádoru a byla asociována s horší prognózou těchto pacientek [56]. V naší práci jsme asociaci sérových hladin DKK1 s CIN ani cervikálním karcinomem neprokázali, hladiny DKK1 byly vyšší ( $p < 0,0001$ ) u kontrol než u pacientek s karcinomem hrdla děložního.

Naše data prokazují zvýšené sérové hladiny S100-A11 a AIF-1 u pacientek s karcinomem hrdla děložního a s dysplázií hrdla děložního oproti kontrolní skupině pacientek s fyziologickým nálezem na hrdle děložním. Sérové hladiny S100-A11 a AIF-1 byly u cervikálního karcinomu asociovány s postižením lymfatických uzlin. Měření sérové hladiny S100-A11 a AIF-1 v kombinaci s jinými biomarkery před léčbou může v budoucnosti pomoci předpovědět metastázu v lymfatických uzlinách u žen s karcinomem děložního hrdla. Na druhou stranu zůstává kontroverzní, zda přítomnost metastáz v lymfatických uzlinách má opravdu dopad na hladinu S100-A11 a AIF-1 v séru, důvodem může být i přítomnost většího objemu nádorové tkáně. K vyhodnocení potenciálu těchto biomarkerů v diagnostice a screeningu cervikálního karcinomu je zapotřebí dalších studií. Hladiny TFF3 a DKK1 byly vyšší ( $p < 0,0001$ ) u kontrol než u

pacientek s karcinomem hrdla děložního. Což naznačuje možnou protektivní funkci těchto markerů u karcinomu děložního hrdla.



## 6. Závěr

Velmi rychle narůstá množství informací o nových proteinech TFF-3, AIF-1, S100-A11, DKK1 a jejich fyziologickém i patofyziologickém významu. V naší práci jsme prokázali statisticky významné zvýšení sérových hladin S100-A11 a AIF-1 u cervikálního karcinomu a všech stádií cervikální intraepiteliální neoplázie v porovnání s kontrolní skupinou. Sérové hladiny S100-A11 a AIF-1 se dále u pacientek s karcinomem hrdla děložního významně zvyšují, pokud byly prokázány metastázy v lymfatických uzlinách. Proteiny S100-A11 a AIF-1 představují tedy potenciální biomarkery u pacientek s karcinomem a dysplázií děložního hrdla. Hladiny TFF3 a DKK1 byly vyšší ( $p < 0,0001$ ) u kontrol než u pacientek s karcinomem hrdla děložního. Což naznačuje možnou protektivní funkci těchto markerů u karcinomu děložního hrdla. V literatuře bylo dříve publikováno, že hladiny DKK1 v séru se u pacientek s cervikálním karcinomem naopak významně zvyšují v porovnání se zdravými ženami. U DKK 1 bude tedy třeba dalších studií k objasnění jeho funkce u cervikálního karcinomu. Tumor markery hrají stále důležitější roli při detekci nádorových onemocnění. V současnosti užívané biomarkery u karcinomu hrdla děložního i u cervikálních intraepiteliálních neoplázií nejsou ideální, protože jim chybí silná specificita. Výzkum by se měl zaměřit na vývoj kombinačních panelů více markerů, které by byly pro diagnostiku nejúčinnější. Klinický význam sérových biomarkerů před běžným použitím by měl být validován ve velkých prospektivních studiích nebo metaanalýzách retrospektivních/prospektivních studií malého rozsahu.

## 7. Souhrn

**Cíl studie:** Cílem této práce bylo porovnat sérové hladiny TFF3, AIF-1, S100-A11 a DKK1 u pacientek s karcinomem hrdla děložního a dysplázií hrdla děložního s kontrolní skupinou.

**Typ studie:** Experimentální studie.

**Název a sídlo pracoviště:** Porodnicko-gynekologická klinika, Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice v Olomouci; Centrum ambulantní gynekologie a primární péče, Brno; Oddělení laboratorní medicíny, Středomoravská nemocniční, člen skupiny Agel, Prostějov; Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci.

**Metodika:** Celkem bylo zařazeno na Porodnicko-gynekologické klinice ve Fakultní nemocnici v Olomouci 85 pacientek s diagnózou karcinomu děložního hrdla, 59 pacientek s CIN 1 a 198 pacientek s CIN 2/3. Kontrolní skupinu tvořilo 90 pacientek, které podstoupily jakoukoliv hysterektomii pro nemaligní onemocnění. U všech pacientek byly předoperačně odebrány vzorky séra, separovány a všechna séra byla skladována při teplotě  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  až do analýzy hladin TFF3, AIF-1, S100-A11 a DKK1.

**Výsledky:** Ve 32 případech (40,5 %) ze 79 pacientek s karcinomem děložního hrdla, u kterých byly lymfatické uzliny histologicky vyšetřeny, byly pozitivní lymfatické uzliny. Sérové hladiny S100-A11 ( $p < 0,0001$ ) a AIF-1 ( $p < 0,0001$ ) byly vyšší u pacientek s karcinomem děložního hrdla než u kontrol. Kromě toho byly sérové hladiny S100-A11 ( $p > 0,04$ ) a AIF-1 ( $p > 0,01$ ) významně vyšší u pacientek s pozitivními lymfatickými uzlinami ve srovnání s pacientkami s negativními lymfatickými uzlinami. Hladiny TFF3 a DKK1 byly vyšší ( $p < 0,0001$ ) u kontrol než u pacientek s karcinomem hrdla děložního a nelišily se ve skupinách s postižením lymfatických uzlin nebo bez něj. Sérové hladiny S100-A11 ( $p < 0,0001$ ) a AIF-1 ( $p < 0,0001$ ) byly statisticky významně vyšší u pacientek s CIN 1 než u kontrolní skupiny. Hladiny TFF3 a DKK1 se u pacientek s CIN 1 a kontrolní skupinou statisticky významně nelišily. Sérové hladiny S100-A11 ( $p < 0,0001$ ) a AIF-1 ( $p < 0,0001$ ) byly staticky významně vyšší u pacientek s CIN 2/3 než u kontrol.

Hladiny TFF3 a DKK1 se u pacientek s CIN 2/3 v porovnání s kontrolní skupinou statisticky významně nelišily.

**Závěr:** S100-A11 a AIF-1 představují potenciální biomarkery u pacientek s karcinomem a dysplázií děložního hrdla. V naší práci byly současně vyšší hladiny S100-A11 a AIF-1 u pacientek s přítomností metastáz v lymfatických uzlinách.

**Klíčová slova:** onkogynekologie, biomarkery, karcinom hrdla děložního, cervikální intraepiteliální neoplázie, S100, TFF-3, AIF-1, DKK1.

## 8. Summary

**Objective:** The aim of this study was to compare TFF3, AIF-1, S100-A11 and DKK1 serum levels in patients with cervical cancer, cervical dysplasia, and in healthy female controls.

**Design:** Experimental Study.

**Setting:** Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Palacky University and University Hospital in Olomouc; Center for Outpatient Gynecology and Primary Care in Brno; Department of Laboratory Medicine, Central Moravian Hospital Trust, Member of Agel holding, Prostějov; Department of Biophysics, Faculty of Medicine, Palacky University in Olomouc.

**Methods:** A total of 85 patients with a diagnosis of cervical cancer, 59 patients with CIN 1 and 198 patients with CIN 2/3 were enrolled at the Department of Obstetrics and Gynecology at the University Hospital in Olomouc. 90 patients who underwent elective total hysterectomy for nonmalignant disorder represented control group. In all patients preoperative serum samples were taken, separated and the sera were all stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis for TFF3, AIF-1, S100-A11 and DKK1.

**Results:** In 32 cases (40.5 %) of the 79 patients with cervical cancer in whom the lymph nodes were examined histologically, the lymph nodes were positive. Serum levels of S100-A11 ( $p < 0.0001$ ) and AIF-1 ( $p < 0.0001$ ) were higher in patients with cervical cancer than in controls. In addition, serum levels of S100-A11 ( $p > 0.04$ ) and AIF-1 ( $p > 0.01$ ) were significantly higher in patients with positive lymph nodes compared to patients with negative lymph nodes. TFF3 and DKK1 levels were higher ( $p < 0.0001$ ) in controls than in patients with cervical cancer and did not differ between the groups with or without lymph node involvement. Serum levels of S100-A11 ( $p < 0.0001$ ) and AIF-1 ( $p < 0.0001$ ) were statistically significantly higher in patients with CIN 1 than in the control group. TFF3 and DKK1 levels were not statistically significantly different in patients with CIN 1 and the control group. Serum levels of S100-A11 ( $p < 0.0001$ ) and AIF-1 ( $p < 0.0001$ )

were significantly higher in patients with CIN 2/3 than in controls. TFF3 and DKK1 levels were not significantly different in patients with CIN 2/3 compared to controls.

**Conclusion:** S100-A11 and AIF-1 represent potential biomarkers in patients with cervical cancer and cervical dysplasia. The levels of S100-A11 and AIF-1 were also higher in patients with the presence of lymph node metastases.

**Keywords:** oncogynecology, biomarkers, cervical cancer, cervical intraepithelial neoplasia, S100, TFF-3, AIF-1, DKK1.

## 9. Literatura

1. Abe A, Nakano T, Morita S, Oka K (1999) Clinical evaluation of serum and immunohistochemical expression of SCC and CA19-9 in radiation therapy for cervical cancer. *Anticancer Res* 19:829–836
2. Aguilera O, Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, Herranz M, Espada J, García JM, Muñoz A, Esteller M, González-Sancho JM (2006) Epigenetic inactivation of the Wnt antagonist DICKKOPF-1 (DKK-1) gene in human colorectal cancer. *Oncogene* 25:4116–4121. doi: 10.1038/sj.onc.1209439
3. Ahdieh L, Muñoz A, Vlahov D, Trimble CL, Timpson LA, Shah K (2000) Cervical neoplasia and repeated positivity of human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-seropositive and -seronegative women. *Am J Epidemiol* 151:1148–1157. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a010165
4. Arbyn M, Weiderpass E, Bruni L, de Sanjosé S, Saraiya M, Ferlay J, Bray F (2020) Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. *Lancet Glob Health* 8:e191–e203. doi: 10.1016/S2214-109X(19)30482-6
5. Barton SE, Maddox PH, Jenkins D, Edwards R, Cuzick J, Singer A (1988) Effect of cigarette smoking on cervical epithelial immunity: a mechanism for neoplastic change? *Lancet* 2:652–654. doi: 10.1016/s0140-6736(88)90469-2
6. Battaglia F, Scambia G, Panici PB, Castelli M, Ferrandina G, Foti E, Amoroso M, D'Andrea G, Mancuso S (1994) Immunosuppressive acidic protein (IAP) and squamous cell carcinoma antigen (SCC) in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 53:176–182. doi: 10.1006/gyno.1994.1112
7. Bernard H-U, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, zur Hausen H, de Villiers E-M (2010) Classification of Papillomaviruses (PVs) Based on 189 PV Types and Proposal of Taxonomic Amendments. *Virology* 401:70–79. doi: 10.1016/j.virol.2010.02.002
8. Bhatla N, Berek JS, Cuello Fredes M, Denny LA, Grenman S, Karunaratne K, Kehoe ST, Konishi I, Olawaiye AB, Prat J, Sankaranarayanan R, Brierley J, Mutch D, Querleu D, Cibula D, Quinn M, Botha H, Sigurd L, Rice L, Ryu H-S, Ngan H, Mäenpää J, Andrijono A, Purwoto G, Maheshwari A, Bafna UD, Plante M, Natarajan J (2019) Revised FIGO staging for carcinoma of the cervix uteri. *Int J Gynaecol Obstet* 145:129–135. doi: 10.1002/ijgo.12749
9. Bodner-Adler B, Kimberger O, Schneidinger C, Kölbl H, Bodner K (2016) Prognostic Significance of Pre-treatment Serum C-Reactive Protein Level in Patients with Adenocarcinoma of the Uterine Cervix. *Anticancer Res* 36:4691–4696. doi: 10.21873/anticancer.11022
10. Boichenko AP, Govorukhina N, Klip HG, van der Zee AGJ, Güzel C, Luijckx TM, Bischoff R (2014) A panel of regulated proteins in serum from patients with cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *J Proteome Res* 13:4995–5007. doi: 10.1021/pr500601w

11. Bonfrer JM, Gaarenstroom KN, Korse CM, Van Bunningen BN, Kenemans P (1997) Cyfra 21-1 in monitoring cervical cancer: a comparison with tissue polypeptide antigen and squamous cell carcinoma antigen. *Anticancer Res* 17:2329–2334
12. Borrás G, Molina R, Xercavins J, Ballesta A, Iglesias J (1995) Tumor antigens CA 19.9, CA 125, and CEA in carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 57:205–211. doi: 10.1006/gyno.1995.1126
13. Bosch X, Harper D (2006) Prevention strategies of cervical cancer in the HPV vaccine era. *Gynecol Oncol* 103:21–24. doi: 10.1016/j.ygyno.2006.07.019
14. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A (2018) Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 68:394–424. doi: 10.3322/caac.21492
15. Brianti P, De Flammis E, Mercuri SR (2017) Review of HPV-related diseases and cancers. *New Microbiol* 40:80–85
16. Brotherton JML, Fridman M, May CL, Chappell G, Saville AM, Gertig DM (2011) Early effect of the HPV vaccination programme on cervical abnormalities in Victoria, Australia: an ecological study. *Lancet* 377:2085–2092. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60551-5
17. Cancemi P, Di Cara G, Albanese NN, Costantini F, Marabeti MR, Musso R, Lupo C, Roz E, Pucci-Minafra I (2010) Large-scale proteomic identification of S100 proteins in breast cancer tissues. *BMC Cancer* 10:476. doi: 10.1186/1471-2407-10-476
18. Cardoso F, Costa A, Norton L, Senkus E, Aapro M, André F, Barrios CH, Bergh J, Biganzoli L, Blackwell KL, Cardoso MJ, Cufer T, El Saghir N, Fallowfield L, Fenech D, Francis P, Gelmon K, Giordano SH, Gligorov J, Goldhirsch A, Harbeck N, Houssami N, Hudis C, Kaufman B, Krop I, Kyriakides S, Lin UN, Mayer M, Merjaver SD, Nordström EB, Pagani O, Partridge A, Penault-Llorca F, Piccart MJ, Rugo H, Sledge G, Thomssen C, Van't Veer L, Vorobiof D, Vrieling C, West N, Xu B, Winer E (2014) ESO-ESMO 2nd international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC2)†. *Ann Oncol* 25:1871–1888. doi: 10.1093/annonc/mdu385
19. Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N, Meijer CJLM, Shah KV, de Sanjose S, Eluf-Neto J, Ngelangel CA, Chichareon S, Smith JS, Herrero R, Moreno V, Franceschi S, International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group (2002) Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners. *N Engl J Med* 346:1105–1112. doi: 10.1056/NEJMoa011688
20. Castellsagué X, Muñoz N (2003) Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis--role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr* 20–28
21. Castle PE, Wacholder S, Lorincz AT, Scott DR, Sherman ME, Glass AG, Rush BB, Schussler JE, Schiffman M (2002) A prospective study of high-grade cervical neoplasia risk among human papillomavirus-infected women. *J Natl Cancer Inst* 94:1406–1414. doi: 10.1093/jnci/94.18.1406

22. Chen Y, Chen C, Yang B, Xu Q, Wu F, Liu F, Ye X, Meng X, Mouglin B, Liu G, Shen Z, Shao Z, Wu J (2011) Estrogen receptor-related genes as an important panel of predictors for breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy. *Cancer Lett* 302:63–68. doi: 10.1016/j.canlet.2010.12.014
23. Chen Y, Xiong X, Wang Y, Zhao J, Shi H, Zhang H, Wang Y, Wei Y, Xue W, Zhang J (2019) Proteomic Screening for Serum Biomarkers for Cervical Cancer and Their Clinical Significance. *Med Sci Monit* 25:288–297. doi: 10.12659/MSM.911478
24. Craveiro R, Bravo I, Catarino R, Teixeira AL, Sousa H, Pereira D, Pereira H, Medeiros R (2012) The role of p73 G4C14-to-A4T14 polymorphism in the susceptibility to cervical cancer. *DNA Cell Biol* 31:224–229. doi: 10.1089/dna.2011.1294
25. D’Anna R, Le Buanec H, Alessandri G, Caruso A, Burny A, Gallo R, Zagury JF, Zagury D, D’Alessio P (2001) Selective activation of cervical microvascular endothelial cells by human papillomavirus 16-e7 oncoprotein. *J Natl Cancer Inst* 93:1843–1851. doi: 10.1093/jnci/93.24.1843
26. Davalieva K, Kiprijanovska S, Komina S, Petrusevska G, Zografska NC, Polenakovic M (2015) Proteomics analysis of urine reveals acute phase response proteins as candidate diagnostic biomarkers for prostate cancer. *Proteome Sci* 13:2. doi: 10.1186/s12953-014-0059-9
27. Demarco M, Egemen D, Raine-Bennett TR, Cheung LC, Befano B, Poitras NE, Lorey TS, Chen X, Gage JC, Castle PE, Wentzensen N, Perkins RB, Guido RS, Schiffman M (2020) A Study of Partial Human Papillomavirus Genotyping in Support of the 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines. *J Low Genit Tract Dis* 24:144–147. doi: 10.1097/LGT.0000000000000530
28. DeSouza L, Diehl G, Yang ECC, Guo J, Rodrigues MJ, Romaschin AD, Colgan TJ, Siu KWM (2005) Proteomic analysis of the proliferative and secretory phases of the human endometrium: protein identification and differential protein expression. *Proteomics* 5:270–281. doi: 10.1002/pmic.200400920
29. Du R, Li L, Ma S, Tan X, Zhong S, Wu M (2018) Lymph nodes metastasis in cervical cancer: Incidences, risk factors, consequences and imaging evaluations. *Asia Pac J Clin Oncol* 14:e380–e385. doi: 10.1111/ajco.12997
30. Ducreux M, Cuhna AS, Caramella C, Hollebecque A, Burtin P, Goéré D, Seufferlein T, Haustermans K, Van Laethem JL, Conroy T, Arnold D, ESMO Guidelines Committee (2015) Cancer of the pancreas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 26 Suppl 5:v56-68. doi: 10.1093/annonc/mdv295
31. Duerr A, Kieke B, Warren D, Shah K, Burk R, Peipert JF, Schuman P, Klein RS, HER Study group (2001) Human papillomavirus-associated cervical cytologic abnormalities among women with or at risk of infection with human immunodeficiency virus. *Am J Obstet Gynecol* 184:584–590. doi: 10.1067/mob.2001.111791



32. Duk JM, van Voorst Vader PC, ten Hoor KA, Hollema H, Doeglas HM, de Bruijn HW (1989) Elevated levels of squamous cell carcinoma antigen in patients with a benign disease of the skin. *Cancer* 64:1652–1656. doi: 10.1002/1097-0142(19891015)64:8<1652::aid-cncr2820640816>3.0.co;2-m
33. Ellerbrock TV, Chiasson MA, Bush TJ, Sun XW, Sawo D, Brudney K, Wright TC (2000) Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women. *JAMA* 283:1031–1037. doi: 10.1001/jama.283.8.1031
34. Ferdeghini M, Gadducci A, Annicchiarico C, Prontera C, Malagnino G, Castellani C, Facchini V, Bianchi R (1993) Serum CYFRA 21-1 assay in squamous cell carcinoma of the cervix. *Anticancer Res* 13:1841–1844
35. Fernandez-Fernandez MR, Veprintsev DB, Fersht AR (2005) Proteins of the S100 family regulate the oligomerization of p53 tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:4735–4740. doi: 10.1073/pnas.0501459102
36. Ferns DM, Kema IP, Buist MR, Nijman HW, Kenter GG, Jordanova ES (2015) Indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO) metabolic activity is detrimental for cervical cancer patient survival. *Oncoimmunology* 4:e981457. doi: 10.4161/2162402X.2014.981457
37. Gaarenstroom KN, Bonfrer JM, Kenter GG, Korse CM, Hart AA, Trimpos JB, Helmerhorst TJ (1995) Clinical value of pretreatment serum Cyfra 21-1, tissue polypeptide antigen, and squamous cell carcinoma antigen levels in patients with cervical cancer. *Cancer* 76:807–813. doi: 10.1002/1097-0142(19950901)76:5<807::aid-cncr2820760515>3.0.co;2-m
38. Gaarenstroom KN, Kenter GG, Bonfrer JM, Korse CM, Van de Vijver MJ, Fleuren GJ, Trimpos JB (2000) Can initial serum cyfra 21-1, SCC antigen, and TPA levels in squamous cell cervical cancer predict lymph node metastases or prognosis? *Gynecol Oncol* 77:164–170. doi: 10.1006/gyno.2000.5732
39. Gadducci A, Tana R, Cosio S, Genazzani AR (2008) The serum assay of tumour markers in the prognostic evaluation, treatment monitoring and follow-up of patients with cervical cancer: a review of the literature. *Crit Rev Oncol Hematol* 66:10–20. doi: 10.1016/j.critrevonc.2007.09.002
40. Gadducci A, Tana R, Cosio S, Genazzani AR (2008) The serum assay of tumour markers in the prognostic evaluation, treatment monitoring and follow-up of patients with cervical cancer: a review of the literature. *Crit Rev Oncol Hematol* 66:10–20. doi: 10.1016/j.critrevonc.2007.09.002
41. Giuliano AR, Sedjo RL, Roe DJ, Harri R, Baldwi S, Papenfuss MR, Abrahamsen M, Inserra P (2002) Clearance of oncogenic human papillomavirus (HPV) infection: effect of smoking (United States). *Cancer Causes Control* 13:839–846. doi: 10.1023/a:1020668232219
42. Glinka A, Wu W, Delius H, Monaghan AP, Blumenstock C, Niehrs C (1998) Dickkopf-1 is a member of a new family of secreted proteins and functions in head induction. *Nature* 391:357–362. doi: 10.1038/34848

43. Grimm C, Watrowski R, Baumühlner K, Natter C, Tong D, Wolf A, Zeillinger R, Leodolter S, Reinthaller A, Hefler L (2011) Genetic variations of interleukin-1 and -6 genes and risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol* 121:537–541. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.02.019
44. Guo X, Abliz G, Reyimu H, Zhao F, Kadeer N, Matsidik R, Wu G, Abudula A (2012) The association of a distinct plasma proteomic profile with the cervical high-grade squamous intraepithelial lesion of Uyghur women: a 2D liquid-phase chromatography/mass spectrometry study. *Biomarkers* 17:352–361. doi: 10.3109/1354750X.2012.673133
45. Harima Y, Ikeda K, Utsunomiya K, Komemushi A, Kanno S, Shiga T, Tanigawa N (2013) Apolipoprotein C-II is a potential serum biomarker as a prognostic factor of locally advanced cervical cancer after chemoradiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 87:1155–1161. doi: 10.1016/j.ijrobp.2013.08.023
46. He H, Li J, Weng S, Li M, Yu Y (2009) S100A11: diverse function and pathology corresponding to different target proteins. *Cell Biochem Biophys* 55:117–126. doi: 10.1007/s12013-009-9061-8
47. He S-M, Xing F, Sui H, Wu Y, Wang Y, Wang D, Chen G, Kong Z, Zhou S-F (2011) Determination of CA-125 levels in the serum, cervical and vaginal secretions, and endometrium in Chinese women with precancerous disease or endometrial cancer. *Med Sci Monit* 17:CR618-625. doi: 10.12659/msm.882046
48. Hemminki K, Chen B (2006) Familial risks for cervical tumors in full and half siblings: etiologic apportioning. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15:1413–1414. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0933
49. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD (1998) Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 338:423–428. doi: 10.1056/NEJM199802123380703
50. Hoellen F, Kostara A, Karn T, Holtrich U, El-Balat A, Otto M, Rody A, Hanker LC (2016) Trefoil factor 3 expression in epithelial ovarian cancer exerts a minor effect on clinicopathological parameters. *Mol Clin Oncol* 5:422–428. doi: 10.3892/mco.2016.994
51. Hong JH, Tsai CS, Chang JT, Wang CC, Lai CH, Lee SP, Tseng CJ, Chang TC, Tang SG (1998) The prognostic significance of pre- and posttreatment SCC levels in patients with squamous cell carcinoma of the cervix treated by radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 41:823–830. doi: 10.1016/s0360-3016(98)00147-3
52. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer, Appleby P, Beral V, Berrington de González A, Colin D, Franceschi S, Goodhill A, Green J, Peto J, Plummer M, Sweetland S (2007) Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet* 370:1609–1621. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61684-5

53. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer, Appleby P, Beral V, Berrington de González A, Colin D, Franceschi S, Goodill A, Green J, Peto J, Plummer M, Sweetland S (2006) Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *Int J Cancer* 118:1481–1495. doi: 10.1002/ijc.21493
54. Irmak S, Tilki D, Heukeshoven J, Oliveira-Ferrer L, Friedrich M, Huland H, Ergün S (2005) Stage-dependent increase of orosomucoid and zinc-alpha2-glycoprotein in urinary bladder cancer. *Proteomics* 5:4296–4304. doi: 10.1002/pmic.200402005
55. Jha PK, Beral V, Peto J, Hack S, Hermon C, Deacon J, Mant D, Chilvers C, Vessey MP, Pike MC (1993) Antibodies to human papillomavirus and to other genital infectious agents and invasive cervical cancer risk. *Lancet* 341:1116–1118. doi: 10.1016/0140-6736(93)93128-n
56. Jiang T, Huang L, Zhang S (2013) DKK-1 in Serum as a Clinical and Prognostic Factor in Patients with Cervical Cancer. *Int J Biol Markers* 28:221–225. doi: 10.5301/ijbm.5000005
57. Kainz C, Sliutz G, Mustafa G, Bieglmayr C, Koelbl H, Reinthaller A, Gitsch G (1995) Cytokeratin subunit 19 measured by CYFRA 21-1 assay in follow-up of cervical cancer. *Gynecol Oncol* 56:402–405. doi: 10.1006/gyno.1995.1071
58. Kanamori T, Takakura K, Mandai M, Kariya M, Fukuhara K, Sakaguchi M, Huh N-H, Saito K, Sakurai T, Fujita J, Fujii S (2004) Increased expression of calcium-binding protein S100 in human uterine smooth muscle tumours. *Mol Hum Reprod* 10:735–742. doi: 10.1093/molehr/gah100
59. Kato H, Torigoe T (1977) Radioimmunoassay for tumor antigen of human cervical squamous cell carcinoma. *Cancer* 40:1621–1628. doi: 10.1002/1097-0142(197710)40:4<1621::aid-cnrcr2820400435>3.0.co;2-i
60. Ke HZ, Richards WG, Li X, Ominsky MS (2012) Sclerostin and Dickkopf-1 as Therapeutic Targets in Bone Diseases. *Endocr Rev* 33:747–783. doi: 10.1210/er.2011-1060
61. Kim B-G (2013) Squamous cell carcinoma antigen in cervical cancer and beyond. *J Gynecol Oncol* 24:291–292. doi: 10.3802/jgo.2013.24.4.291
62. Kjaer SK, van den Brule AJC, Paull G, Svare EI, Sherman ME, Thomsen BL, Suntum M, Bock JE, Poll PA, Meijer CJLM (2002) Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ* 325:572. doi: 10.1136/bmj.325.7364.572

63. Klaes R, Woerner SM, Ridder R, Wentzensen N, Duerst M, Schneider A, Lotz B, Melsheimer P, von Knebel Doeberitz M (1999) Detection of high-risk cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer by amplification of transcripts derived from integrated papillomavirus oncogenes. *Cancer Res* 59:6132–6136
64. Konno R, Takano T, Sato S, Yajima A (2000) Serum soluble fas level as a prognostic factor in patients with gynecological malignancies. *Clin Cancer Res* 6:3576–3580
65. Kotowicz B, Fuksiewicz M, Kowalska M, Jonska-Gmyrek J, Bidzinski M, Kaminska J (2008) The value of tumor marker and cytokine analysis for the assessment of regional lymph node status in cervical cancer patients. *Int J Gynecol Cancer* 18:1279–1284. doi: 10.1111/j.1525-1438.2007.01176.x
66. Lau W-H, Pandey V, Kong X, Wang X-N, Wu Z, Zhu T, Lobie PE (2015) Trefoil Factor-3 (TFF3) Stimulates De Novo Angiogenesis in Mammary Carcinoma both Directly and Indirectly via IL-8/CXCR2. *PLoS ONE* 10:e0141947. doi: 10.1371/journal.pone.0141947
67. Lebrecht A, Ludwig E, Huber A, Klein M, Schneeberger C, Tempfer C, Koelbl H, Hefler L (2002) Serum vascular endothelial growth factor and serum leptin in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 85:32–35. doi: 10.1006/gyno.2001.6517
68. Lekskul N, Charakorn C, Lertkhachonsuk A-A, Rattanasiri S, Israngura Na Ayudhya N (2015) The Level of Squamous Cell Carcinoma Antigen and Lymph Node Metastasis in Locally Advanced Cervical Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 16:4719–4722. doi: 10.7314/apjcp.2015.16.11.4719
69. Li D, Xu XX, Yan DD, Yuan SH, Lou HM (2019) [Clinical significance of serum squamous cell carcinoma antigen in patients with early cervical squamous cell carcinoma]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 41:357–362. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2019.05.007
70. Li J, Cheng H, Zhang P, Dong Z, Tong H, Han J-DJ, Guo F, Tian Y (2013) Prognostic value of combined serum biomarkers in predicting outcomes in cervical cancer patients. *Clin Chim Acta* 424:292–297. doi: 10.1016/j.cca.2013.07.003
71. Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJF, Clifford GM (2011) Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer* 128:927–935. doi: 10.1002/ijc.25396
72. Libreros S, Iragavarapu-Charyulu V (2015) YKL-40/CHI3L1 drives inflammation on the road of tumor progression. *Journal of Leukocyte Biology* 98:931–936. doi: <https://doi.org/10.1189/jlb.3VMMR0415-142R>
73. Liu L, Miao L, Liu Y, Qi A, Xie P, Chen J, Zhu H (2017) S100A11 regulates renal carcinoma cell proliferation, invasion, and migration via the EGFR/Akt signaling pathway and E-cadherin. *Tumour Biol* 39:1010428317705337. doi: 10.1177/1010428317705337

74. Liu P, Xin F, Ma CF (2015) Clinical significance of serum miR-196a in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Genet Mol Res* 14:17995–18002. doi: 10.4238/2015.December.22.25
75. Liu Y, Han X, Gao B (2015) Knockdown of S100A11 expression suppresses ovarian cancer cell growth and invasion. *Exp Ther Med* 9:1460–1464. doi: 10.3892/etm.2015.2257
76. Luff RD (1992) The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. Report of the 1991 Bethesda workshop. *Am J Clin Pathol* 98:152–154. doi: 10.1093/ajcp/98.2.152
77. Luhn P, Walker J, Schiffman M, Zuna RE, Dunn ST, Gold MA, Smith K, Mathews C, Allen RA, Zhang R, Wang S, Wentzensen N (2013) The role of co-factors in the progression from human papillomavirus infection to cervical cancer. *Gynecol Oncol* 128:265–270. doi: 10.1016/j.ygyno.2012.11.003
78. Maestri CA, Nisihara R, Mendes HW, Jensenius J, Thiel S, Messias-Reason I, de Carvalho NS (2018) MASP-1 and MASP-2 Serum Levels Are Associated With Worse Prognostic in Cervical Cancer Progression. *Front Immunol* 9:2742. doi: 10.3389/fimmu.2018.02742
79. Maiman M, Fruchter RG, Clark M, Arrastia CD, Matthews R, Gates EJ (1997) Cervical cancer as an AIDS-defining illness. *Obstet Gynecol* 89:76–80. doi: 10.1016/s0029-7844(96)00378-x
80. Makino T, Yamasaki M, Takemasa I, Takeno A, Nakamura Y, Miyata H, Takiguchi S, Fujiwara Y, Matsuura N, Mori M, Doki Y (2009) Dickkopf-1 expression as a marker for predicting clinical outcome in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 16:2058–2064. doi: 10.1245/s10434-009-0476-7
81. Malouf MA, Hopkins PM, Singleton L, Chhajed PN, Plit ML, Glanville AR (2004) Sexual health issues after lung transplantation: importance of cervical screening. *J Heart Lung Transplant* 23:894–897. doi: 10.1016/j.healun.2003.07.018
82. Manhart LE, Holmes KK, Koutsky LA, Wood TR, Kenney DL, Feng Q, Kiviat NB (2006) Human papillomavirus infection among sexually active young women in the United States: Implications for developing a vaccination strategy. *Sex Transm Dis* 33:502–508. doi: 10.1097/01.olq.0000204545.89516.0a
83. Mao C, Hughes JP, Kiviat N, Kuypers J, Lee S-K, Adam DE, Koutsky LA (2003) Clinical findings among young women with genital human papillomavirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 188:677–684. doi: 10.1067/mob.2003.164
84. Mathur SP, Mathur RS, Gray EA, Lane D, Underwood PG, Kohler M, Creasman WT (2005) Serum vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) as a specific biomarker for advanced cervical cancer: Relationship to insulin-like growth factor II (IGF-II), IGF binding protein 3 (IGF-BP3) and VEGF-A [corrected]. *Gynecol Oncol* 98:467–483. doi: 10.1016/j.ygyno.2005.05.003

85. McCarthy HS, Marshall MJ (2010) Dickkopf-1 as a potential therapeutic target in Paget's disease of bone. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 14:221–230. doi: 10.1517/14728220903525720
86. Meng M, Sang L, Wang X (2019) S100 Calcium Binding Protein A11 (S100A11) Promotes The Proliferation, Migration And Invasion Of Cervical Cancer Cells, And Activates Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling. *Onco Targets Ther* 12:8675–8685. doi: 10.2147/OTT.S225248
87. Menon U, Ryan A, Kalsi J, Gentry-Maharaj A, Dawnay A, Habib M, Apostolidou S, Singh N, Benjamin E, Burnell M, Davies S, Sharma A, Gunu R, Godfrey K, Lopes A, Oram D, Herod J, Williamson K, Seif MW, Jenkins H, Mould T, Woolas R, Murdoch JB, Dobbs S, Amso NN, Leeson S, Cruickshank D, Scott I, Fallowfield L, Widschwendter M, Reynolds K, McGuire A, Campbell S, Parmar M, Skates SJ, Jacobs I (2015) Risk Algorithm Using Serial Biomarker Measurements Doubles the Number of Screen-Detected Cancers Compared With a Single-Threshold Rule in the United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening. *J Clin Oncol* 33:2062–2071. doi: 10.1200/JCO.2014.59.4945
88. Meyerhardt JA, Mangu PB, Flynn PJ, Korde L, Loprinzi CL, Minsky BD, Petrelli NJ, Ryan K, Schrag DH, Wong SL, Benson AB, American Society of Clinical Oncology (2013) Follow-up care, surveillance protocol, and secondary prevention measures for survivors of colorectal cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline endorsement. *J Clin Oncol* 31:4465–4470. doi: 10.1200/JCO.2013.50.7442
89. Midis GP, Shen Y, Owen-Schaub LB (1996) Elevated soluble Fas (sFas) levels in nonhematopoietic human malignancy. *Cancer Res* 56:3870–3874
90. Mikheev AM, Mikheeva SA, Maxwell J-P, Rivo JV, Rostomily R, Swisshelm K, Zarbl H (2008) Dickkopf-1 mediated tumor suppression in human breast carcinoma cells. *Breast Cancer Res Treat* 112:263–273. doi: 10.1007/s10549-007-9867-2
91. Mitsuhashi A, Matsui H, Usui H, Nagai Y, Tate S, Unno Y, Hirashiki K, Seki K, Shozu M (2009) Serum YKL-40 as a marker for cervical adenocarcinoma. *Ann Oncol* 20:71–77. doi: 10.1093/annonc/mdn552
92. Molina R, Marrades RM, Augé JM, Escudero JM, Viñolas N, Reguart N, Ramirez J, Filella X, Molins L, Agustí A (2015) Assessment of a Combined Panel of Six Serum Tumor Markers for Lung Cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 193:427–437. doi: 10.1164/rccm.201404-0603OC
93. Molina R, Marrades RM, Augé JM, Escudero JM, Viñolas N, Reguart N, Ramirez J, Filella X, Molins L, Agustí A (2016) Assessment of a Combined Panel of Six Serum Tumor Markers for Lung Cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 193:427–437. doi: 10.1164/rccm.201404-0603OC
94. Moore EE, Danielewski JA, Garland SM, Tan J, Quinn MA, Stevens MP, Tabrizi SN (2011) Clearance of human papillomavirus in women treated for cervical dysplasia. *Obstet Gynecol* 117:101–108. doi: 10.1097/AOG.0b013e3182020704

95. Mukhopadhyay M, Shtrom S, Rodriguez-Esteban C, Chen L, Tsukui T, Gomer L, Dorward DW, Glinka A, Grinberg A, Huang SP, Niehrs C, Izpisua Belmonte JC, Westphal H (2001) Dickkopf1 is required for embryonic head induction and limb morphogenesis in the mouse. *Dev Cell* 1:423–434. doi: 10.1016/s1534-5807(01)00041-7
96. Münger K, Phelps WC, Bubb V, Howley PM, Schlegel R (1989) The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes. *J Virol* 63:4417–4421. doi: 10.1128/JVI.63.10.4417-4421.1989
97. Neubert D, Ondrová D, Hambálek J, Maděrka M, Sobková K, Stejskal D, Krejčí G, Pilka R (2018) [Elevated levels of TFF3 in endometrial cancer patients]. *Ceska Gynekol* 83:109–114
98. Niehrs C (2006) Function and biological roles of the Dickkopf family of Wnt modulators. *Oncogene* 25:7469–7481. doi: 10.1038/sj.onc.1210054
99. Niida A, Hiroko T, Kasai M, Furukawa Y, Nakamura Y, Suzuki Y, Sugano S, Akiyama T (2004) DKK1, a negative regulator of Wnt signaling, is a target of the beta-catenin/TCF pathway. *Oncogene* 23:8520–8526. doi: 10.1038/sj.onc.1207892
100. Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Bezemer PD, Verheijen RH, Meijer CJ (2001) Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. *Lancet* 358:1782–1783. doi: 10.1016/S0140-6736(01)06809-X
101. Nucci MR, Crum CP (2007) Redefining early cervical neoplasia: recent progress. *Adv Anat Pathol* 14:1–10. doi: 10.1097/PAP.0b013e31802e0de7
102. Numa F, Takeda O, Nakata M, Nawata S, Tsunaga N, Hirabayashi K, Suminami Y, Kato H, Hamanaka S (1996) Tumor necrosis factor-alpha stimulates the production of squamous cell carcinoma antigen in normal squamous cells. *Tumour Biol* 17:97–101. doi: 10.1159/000217972
103. Ohara K, Tanaka Y, Tsunoda H, Nishida M, Sugahara S, Itai Y (2002) Assessment of cervical cancer radioresponse by serum squamous cell carcinoma antigen and magnetic resonance imaging. *Obstet Gynecol* 100:781–787. doi: 10.1016/s0029-7844(02)02204-4
104. Ohuchida K, Mizumoto K, Ohhashi S, Yamaguchi H, Konomi H, Nagai E, Yamaguchi K, Tsuneyoshi M, Tanaka M (2006) S100A11, a putative tumor suppressor gene, is overexpressed in pancreatic carcinogenesis. *Clin Cancer Res* 12:5417–5422. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0222
105. Online ESGO Gynae-Oncology Guidelines. <https://guidelines.esgo.org/cervical-cancer/guidelines/recommendations/>.
106. Ozsaran AA, Ateş T, Dikmen Y, Zeytinoglu A, Terek C, Erhan Y, Ozacar T, Bilgiç A (1999) Evaluation of the risk of cervical intraepithelial neoplasia and human papilloma virus infection in renal transplant patients receiving immunosuppressive therapy. *Eur J Gynaecol Oncol* 20:127–130

107. Pett M, Coleman N (2007) Integration of high-risk human papillomavirus: a key event in cervical carcinogenesis? *J Pathol* 212:356–367. doi: 10.1002/path.2192
108. Piao X, Kong T-W, Chang S-J, Paek J, Chun M, Ryu H-S (2015) Pretreatment serum CYFRA 21-1 level correlates significantly with survival of cervical cancer patients: a multivariate analysis of 506 cases. *Gynecol Oncol* 138:89–93. doi: 10.1016/j.ygyno.2015.04.012
109. Plummer M, Schiffman M, Castle PE, Maucort-Boulch D, Wheeler CM, ALTS Group (2007) A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *J Infect Dis* 195:1582–1589. doi: 10.1086/516784
110. Polakis P (2000) Wnt signaling and cancer. *Genes Dev* 14:1837–1851. doi: 10.1101/gad.14.15.1837
111. Pras E, Willemsse PHB, Canrinus AA, de Bruijn HWA, Sluiter WJ, ten Hoor KA, Aalders JG, Szabo BG, de Vries EGE (2002) Serum squamous cell carcinoma antigen and CYFRA 21-1 in cervical cancer treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 52:23–32. doi: 10.1016/s0360-3016(01)01805-3
112. Prokopczyk B, Cox JE, Hoffmann D, Waggoner SE (1997) Identification of tobacco-specific carcinogen in the cervical mucus of smokers and nonsmokers. *J Natl Cancer Inst* 89:868–873. doi: 10.1093/jnci/89.12.868
113. Puthucode-Easwaran S, Naik R, Athavale R, Handley G, Lopes A, Godfrey K, Hatem M (2005) Comparison of pre-treatment CYFRA 21 - 1 and SCC-Antigen assay in primary cervical carcinoma - a preliminary report. *J Obstet Gynaecol* 25:486–488. doi: 10.1080/01443610500171144
114. Qiu F, Chen F, Liu D, Xu J, He J, Xiao J, Cao L, Huang X (2019) [LC-MS/MS-based screening of new protein biomarkers for cervical precancerous lesions and cervical cancer]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 39:13–22. doi: 10.12122/j.issn.1673-4254.2019.01.03
115. Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R, Wacholder S, Hildesheim A, Castle PE, Solomon D, Burk R, Proyecto Epidemiológico Guanacaste Group (2008) Rapid clearance of human papillomavirus and implications for clinical focus on persistent infections. *J Natl Cancer Inst* 100:513–517. doi: 10.1093/jnci/djn044
116. Samiei M, Janjić K, Cvikl B, Moritz A, Agis H (2019) The role of sclerostin and dickkopf-1 in oral tissues – A review from the perspective of the dental disciplines. *F1000Res* 8. doi: 10.12688/f1000research.17801.1
117. Sasson IM, Haley NJ, Hoffmann D, Wynder EL, Hellberg D, Nilsson S (1985) Cigarette smoking and neoplasia of the uterine cervix: smoke constituents in cervical mucus. *N Engl J Med* 312:315–316. doi: 10.1056/nejm198501313120516



118. Sato H, Suzuki H, Toyota M, Nojima M, Maruyama R, Sasaki S, Takagi H, Sogabe Y, Sasaki Y, Idogawa M, Sonoda T, Mori M, Imai K, Tokino T, Shinomura Y (2007) Frequent epigenetic inactivation of DICKKOPF family genes in human gastrointestinal tumors. *Carcinogenesis* 28:2459–2466. doi: 10.1093/carcin/bgm178
119. Sawada M, Oishi T, Komatsu H, Sato S, Chikumi J, Nonaka M, Kudoh A, Osaku D, Harada T (2019) Serum vascular endothelial growth factor A and vascular endothelial growth factor receptor 2 as prognostic biomarkers for uterine cervical cancer. *Int J Clin Oncol* 24:1612–1619. doi: 10.1007/s10147-019-01495-x
120. Sawada M, Okudaira Y, Matsui Y, Shimizu Y (1984) Immunosuppressive acidic protein in patients with gynecologic cancer. *Cancer* 54:652–656. doi: 10.1002/1097-0142(1984)54:4<652::aid-cnrcr2820540411>3.0.co;2-c
121. Scambia G, Panici PB, Foti E, Ferrandina G, Leone FPG, Marciano M, Mancuso S (1996) Multiple tumour marker assays in advanced cervical cancer: Relationship to chemotherapy response and clinical outcome. *European Journal of Cancer* 32:259–263. doi: 10.1016/0959-8049(95)00515-3
122. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S (2007) Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 370:890–907. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61416-0
123. Schiffman MH, Bauer HM, Hoover RN, Glass AG, Cadell DM, Rush BB, Scott DR, Sherman ME, Kurman RJ, Wacholder S (1993) Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 85:958–964. doi: 10.1093/jnci/85.12.958
124. Schneider VA, Mercola M (2001) Wnt antagonism initiates cardiogenesis in *Xenopus laevis*. *Genes Dev* 15:304–315. doi: 10.1101/gad.855601
125. Sedaghat F, Notopoulos A (2008) S100 protein family and its application in clinical practice. *Hippokratia* 12:198–204
126. Sheng SL, Huang G, Yu B, Qin WX (2009) Clinical significance and prognostic value of serum Dickkopf-1 concentrations in patients with lung cancer. *Clin Chem* 55:1656–1664. doi: 10.1373/clinchem.2009.125641
127. Shepherd J, Weston R, Peersman G, Napuli IZ (2000) Interventions for encouraging sexual lifestyles and behaviours intended to prevent cervical cancer. *Cochrane Database Syst Rev* CD001035. doi: 10.1002/14651858.CD001035
128. Sillman F, Stanek A, Sedlis A, Rosenthal J, Lanks KW, Buchhagen D, Nicastrì A, Boyce J (1984) The relationship between human papillomavirus and lower genital intraepithelial neoplasia in immunosuppressed women. *Am J Obstet Gynecol* 150:300–308. doi: 10.1016/s0002-9378(84)90369-7
129. Simpson-Haidaris PJ, Rybarczyk B (2001) Tumors and fibrinogen. The role of fibrinogen as an extracellular matrix protein. *Ann N Y Acad Sci* 936:406–425

130. Snijders PJF, Steenbergen RDM, Heideman DAM, Meijer CJLM (2006) HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol* 208:152–164. doi: 10.1002/path.1866
131. Society of Gynecologic Oncologists Education Resource Panel Writing group, Collins Y, Einstein MH, Gostout BS, Herzog TJ, Massad LS, Rader JS, Wright J (2006) Cervical cancer prevention in the era of prophylactic vaccines: a preview for gynecologic oncologists. *Gynecol Oncol* 102:552–562. doi: 10.1016/j.ygyno.2006.07.022
132. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, Raab S, Sherman M, Wilbur D, Wright T, Young N, Forum Group Members, Bethesda 2001 Workshop (2002) The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 287:2114–2119. doi: 10.1001/jama.287.16.2114
133. Sörensson J, Matejka GL, Ohlson M, Haraldsson B (1999) Human endothelial cells produce orosomucoid, an important component of the capillary barrier. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 276:H530–H534. doi: 10.1152/ajpheart.1999.276.2.H530
134. Suminami Y, Nawata S, Kato H (1998) Biological role of SCC antigen. *Tumour Biol* 19:488–493. doi: 10.1159/000030042
135. Suzuki M, Ohwada M, Sato I, Nagatomo M (1995) Serum level of macrophage colony-stimulating factor as a marker for gynecologic malignancies. *Oncology* 52:128–133. doi: 10.1159/000227443
136. Suzuki Y, Nakano T, Ohno T, Abe A, Morita S, Tsujii H (2000) Serum CYFRA 21-1 in cervical cancer patients treated with radiation therapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 126:332–336. doi: 10.1007/s004320050352
137. Suzuki Y, Nakano T, Ohno T, Abe A, Morita S, Tsujii H (2000) Serum CYFRA 21-1 in cervical cancer patients treated with radiation therapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 126:332–336. doi: 10.1007/s004320050352
138. Takahashi N, Fukushima T, Yorita K, Tanaka H, Chijiwa K, Kataoka H (2010) Dickkopf-1 is overexpressed in human pancreatic ductal adenocarcinoma cells and is involved in invasive growth. *Int J Cancer* 126:1611–1620. doi: 10.1002/ijc.24865
139. Takeda M, Sakuragi N, Okamoto K, Todo Y, Minobe S-I, Nomura E, Negishi H, Oikawa M, Yamamoto R, Fujimoto S (2002) Preoperative serum SCC, CA125, and CA19-9 levels and lymph node status in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Acta Obstet Gynecol Scand* 81:451–457. doi: 10.1034/j.1600-0412.2002.810513.x
140. Takeshima N, Hirai Y, Katase K, Yano K, Yamauchi K, Hasumi K (1998) The value of squamous cell carcinoma antigen as a predictor of nodal metastasis in cervical cancer. *Gynecol Oncol* 68:263–266. doi: 10.1006/gy.1998.4939
141. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T (2014) IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6. doi: 10.1101/cshperspect.a016295

142. Tanyi J, Scholler N (2012) Oncology biomarkers for gynecologic malignancies. *Frontiers in bioscience (Elite edition)* 4:1097–110. doi: 10.2741/E444
143. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, Verweij J, Van Glabbeke M, van Oosterom AT, Christian MC, Gwyther SG (2000) New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* 92:205–216
144. Thim L, Wöldike HF, Nielsen PF, Christensen M, Lynch-Devaney K, Podolsky DK (1995) Characterization of human and rat intestinal trefoil factor produced in yeast. *Biochemistry* 34:4757–4764
145. Tian Y, Jain S, Kelemen SE, Autieri MV (2009) AIF-1 expression regulates endothelial cell activation, signal transduction, and vasculogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 296:C256–C266. doi: 10.1152/ajpcell.00325.2008
146. Tsai SC, Kao CH, Wang SJ (1996) Study of a new tumor marker, CYFRA 21-1, in squamous cell carcinoma of the cervix, and comparison with squamous cell carcinoma antigen. *Neoplasma* 43:27–29
147. Tsikouras P, Zervoudis S, Manav B, Tomara E, Iatrakis G, Romanidis C, Bothou A, Galazios G (2016) Cervical cancer: screening, diagnosis and staging. *J BUON* 21:320–325
148. Verslype C, Rosmorduc O, Rougier P, ESMO Guidelines Working Group (2012) Hepatocellular carcinoma: ESMO-ESDO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 23 Suppl 7:vii41-48. doi: 10.1093/annonc/mds225
149. Vitkauskaitė A, Celiešiūtė J, Paškauskas S, Skrodenienė E, Nadišauskienė RJ, Burkauskienė A, Vaitkienė D (2019) Associations among Serum Lipocalin-2 Concentration, Human Papilloma Virus and Clinical Stage of Cervical Cancer. *Medicina (Kaunas)* 55. doi: 10.3390/medicina55060229
150. van der Vorst EPC (2020) High-Density Lipoproteins and Apolipoprotein A1. In: Hoeger U, Harris JR (eds) *Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins*. Springer International Publishing, Cham, pp 399–420
151. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Muñoz N (1999) Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 189:12–19. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(199909)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F
152. Wang Q, Zhang C, Walayat S, Chen HW, Wang Y (2011) Association between cytokine gene polymorphisms and cervical cancer in a Chinese population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 158:330–333. doi: 10.1016/j.ejogrb.2011.05.019
153. Watano K, Iwabuchi K, Fujii S, Ato M, Kitabatake A, Onoé K (2001) Allograft inflammatory factor-1 augments production of interleukin-6, -10 and -12 by a mouse macrophage line. *Immunology* 104:307. doi: 10.1046/j.1365-2567.2001.01301.x

154. Waxman AG, Chelmos D, Darragh TM, Lawson H, Moscicki A-B (2012) Revised terminology for cervical histopathology and its implications for management of high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Obstet Gynecol* 120:1465–1471. doi: 10.1097/aog.0b013e31827001d5
155. Wei B-R, Hoover SB, Ross MM, Zhou W, Meani F, Edwards JB, Spehalski EI, Risinger JI, Alvord WG, Quiñones OA, Belluco C, Martella L, Campagnutta E, Ravaggi A, Dai R-M, Goldsmith PK, Woolard KD, Pecorelli S, Liotta LA, Petricoin EF, Simpson RM (2009) Serum S100A6 Concentration Predicts Peritoneal Tumor Burden in Mice with Epithelial Ovarian Cancer and Is Associated with Advanced Stage in Patients. *PLoS One* 4. doi: 10.1371/journal.pone.0007670
156. Williams AB, Darragh TM, Vranizan K, Ochia C, Moss AR, Palefsky JM (1994) Anal and cervical human papillomavirus infection and risk of anal and cervical epithelial abnormalities in human immunodeficiency virus-infected women. *Obstet Gynecol* 83:205–211
157. Woo T, Okudela K, Mitsui H, Tajiri M, Rino Y, Ohashi K, Masuda M (2015) Up-Regulation of S100A11 in Lung Adenocarcinoma - Its Potential Relationship with Cancer Progression. *PLoS One* 10:e0142642. doi: 10.1371/journal.pone.0142642
158. Woodman CBJ, Collins SI, Young LS (2007) The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat Rev Cancer* 7:11–22. doi: 10.1038/nrc2050
159. Workowski KA, Bolan GA, Centers for Disease Control and Prevention (2015) Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep* 64:1–137
160. Wright JD, Rosenblum K, Huettner PC, Mutch DG, Rader JS, Powell MA, Gibb RK (2005) Cervical sarcomas: an analysis of incidence and outcome. *Gynecol Oncol* 99:348–351. doi: 10.1016/j.ygyno.2005.06.021
161. Wright TC, Ellerbrock TV, Chiasson MA, Van Devanter N, Sun XW (1994) Cervical intraepithelial neoplasia in women infected with human immunodeficiency virus: prevalence, risk factors, and validity of Papanicolaou smears. *New York Cervical Disease Study. Obstet Gynecol* 84:591–597
162. Wu Y-J, Rheinwald JG (1981) A new small (40 kd) keratin filament protein made by some cultured human squamous cell carcinomas. *Cell* 25:627–635. doi: 10.1016/0092-8674(81)90170-7
163. Xiao M, Li T, Ji Y, Jiang F, Ni W, Zhu J, Bao B, Lu C, Ni R (2018) S100A11 promotes human pancreatic cancer PANC-1 cell proliferation and is involved in the PI3K/AKT signaling pathway. *Oncol Lett* 15:175–182. doi: 10.3892/ol.2017.7295
164. Xiao P, Ling H, Lan G, Liu J, Hu H, Yang R (2015) Trefoil factors: Gastrointestinal-specific proteins associated with gastric cancer. *Clin Chim Acta* 450:127–134. doi: 10.1016/j.cca.2015.08.004

165. Yamaguchi Y, Morita A, Maeda A, Hearing VJ (2009) Regulation of skin pigmentation and thickness by dickkopf 1 (DKK1). *J Investig Dermatol Symp Proc* 14:73–75. doi: 10.1038/jidsymp.2009.4
166. Yang J, Xiong X, Liu S, Zhu J, Luo M, Liu L, Zhao L, Qin Y, Song T, Huang C (2016) Identification of novel serum peptides biomarkers for female breast cancer patients in Western China. *Proteomics* 16:925–934. doi: 10.1002/pmic.201500321
167. Yang P, Chen N, Yang D, Crane J, Yang S, Wang H, Dong R, Yi X, Xie L, Jing G, Cai J, Wang Z (2017) The ratio of serum Angiopoietin-1 to Angiopoietin-2 in patients with cervical cancer is a valuable diagnostic and prognostic biomarker. *PeerJ* 5:e3387. doi: 10.7717/peerj.3387
168. Yoon SM, Shin KH, Kim J-Y, Seo SS, Park S-Y, Moon SH, Cho KH (2010) Use of serum squamous cell carcinoma antigen for follow-up monitoring of cervical cancer patients who were treated by concurrent chemoradiotherapy. *Radiat Oncol* 5:78. doi: 10.1186/1748-717X-5-78
169. Yu B, Yang X, Xu Y, Yao G, Shu H, Lin B, Hood L, Wang H, Yang S, Gu J, Fan J, Qin W (2009) Elevated expression of DKK1 is associated with cytoplasmic/nuclear beta-catenin accumulation and poor prognosis in hepatocellular carcinomas. *J Hepatol* 50:948–957. doi: 10.1016/j.jhep.2008.11.020
170. Zech VFE, Dlaska M, Tzankov A, Hilbe W (2006) Prognostic and diagnostic relevance of hnRNP A2/B1, hnRNP B1 and S100 A2 in non-small cell lung cancer. *Cancer Detect Prev* 30:395–402. doi: 10.1016/j.cdp.2006.04.009
171. Zhao C, Lu E, Hu X, Cheng H, Zhang J-A, Zhu X (2018) S100A9 regulates cisplatin chemosensitivity of squamous cervical cancer cells and related mechanism. *Cancer Manag Res* 10:3753–3764. doi: 10.2147/CMAR.S168276
172. Zhao Y, Liu Y-N, Li Y, Tian L, Ye X, Cui H, Chang X-H (2015) Identification of biomarkers for endometriosis using clinical proteomics. *Chin Med J (Engl)* 128:520–527. doi: 10.4103/0366-6999.151108
173. SVOD. <https://www.svod.cz/>
174. SEER Cancer Statistics Review 1975-2004 - Previous Version - SEER Cancer Statistics. In: SEER. [https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975\\_2004/index.html](https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2004/index.html).
175. CSF1 colony stimulating factor 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=1435>.

## **10. Seznam publikací a přednášek**

### **10.1 Práce související s disertační prací**

#### **10.1.1 Původní vědecké publikace in extenso v daném oboru uveřejněné v časopise s IF**

**Serum concentrations of TFF3, S100-A11 and AIF-1 in association with systemic inflammatory response, disease stage and nodal involvement in endometrial cancer.**

Pilka, R., Neubert, D., Stejskal, D., Krejčí, G., Švesták M., Marek, R., Adam, T., Sobková, K., Ondrová, D., Hambálek, J., Maděrka, M., Solichová, D., Kyjovská Krčmová, L., Javorská, L., Melichar, B. Pteridines. Vol. 29, 1, 2018, pp. 6-12.

IF 1,92

#### **10.1.2 Původní vědecké publikace in extenso v daném oboru uveřejněné v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech**

**Zvýšení hladin TFF3 u žen s karcinomem endometria.** Neubert, D., Ondrová, D., Hambálek, J., Maděrka, M., Sobková, K., Stejskal, D., Krejčí, G., Pilka, R. Česká gynekologie. 2018, 83, 2, s. 284-291.

**Zvýšení sérových hladin S100-A11 a AIF-1 u pacientek s karcinomem hrdla děložního a postižením lymfatických uzlin.** Maděrka, M., Dvořák, V., Hambálek, J., Stejskal, D., Krejčí, G., Švesták M., Langová, K, Pilka, R. Česká gynekologie. 2021, 86, 1, s. 17-21.

**Zvýšení sérových hladin S100-A11 a AIF-1 u pacientek s dysplázií děložního hrdla.** Maděrka, M., Dvořák, V., Hambálek, J., Stejskal, D., Krejčí, G., Švesták M., Langová, K, Pilka, R. Česká gynekologie. 2021, 86, 1, s. 11-15.

### **10.1.3 Přehledné/souborné vědecké práce v daném oboru v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech**

**Nové sérové nádorové markery S100, TFF3 a AIF-1 a jejich možné využití v onkogynekologii.** Maděrka, M., Pilka, R., Neubert, D., Hambálek, J. Česká gynekologie. 2019, 84, 4, s. 303-308.

### **10.1.4 Publikovaná abstrakta**

**Serum concentrations of TFF3, S100-A11 and AIF-1 in association with systemic inflammatory response and nodal involvement in endometrial cancer.** Pilka, R., Stejskal D., Krejčí, G., Švesták, M., Marek, R., Adam, T., Sobková, K., Ondrová, D., Neubert, D., Hambálek, J., Maděrka, M., Solichová, D., Kujovská Krčmová, L., Javorská, L., Melichar, B. ESGO kongres, Vídeň, 4.-7.11.2017, Sborník s. 245.

### **10.1.5 Přednášky – hlavní autor**

**Elevace hladin S100-A11 a AIF-1 u pacientek s karcinomem hrdla děložního a pozitivitou pánevních uzlin.** Maděrka, M., Pilka, R., Stejskal, D., Krejčí, G., Švesták, M., Marek, R., Hambálek, J., Dzvinčuk, P. Štvrtý onkogynekologický kongres, 17.–18.1.2020, Košice, Slovensko.

### **10.1.6 Postery – hlavní autor**

**New serum tumor markers S100, TFF-3 and AIF-1 and their possible use in oncogynecology.** Maděrka, M., Hámhálek, J., Marek, R., Pilka, R. 10th International Charité Mayo Conference, 3.–6.4.2019, Berlín, Německo.

## **10.2 Ostatní publikace**

### **10.2.1 Původní vědecké publikace in extenso v daném oboru uveřejněné v časopise s IF**

**Systemic inflammatory response after open, laparoscopic and robotic surgery in endometrial cancer patients.** Pilka, R., Marek, R., Adam, T., Kudela, M., Ondrová, D., Neubert, D., Hambálek, J., Maděrka, M., Solichová, D., Kujovská Krčmová, L., Melichar, B. *Anticancer Res.* 2016, June, 36(6), pp. 2909-22.

IF 0,25

### **10.2.2 Původní vědecké publikace in extenso uveřejněné v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech**

**Robotem asistovaný staging karcinomu endometria – vyhodnocení prvních 100 operací a srovnání prvních a posledních 30 operací.** Marek, R., Dzvičuk, P., Kudela, M., Hambálek, J., Maděrka, M., Zapletalová, J., Pilka, R. *Česká gynekologie.* 2015, 80, 5, s. 324-332.

**Robotická paraaortální lymfadenektomie v onkogyneologii. Duální dokování daVinci S systému zvyšuje úspěšnost vysoké paraaortální lymfadenektomie u karcinomu endometria.** Marek, R., Dzvinčuk, P., Hambálek, J., Maděrka, M., Jančková, V., Kolářová, V., Langová, K., Pilka, R. *Česká gynekologie.* 2019, 84, 1, s. 4-17.

### **10.2.3 Přehledné/souborné vědecké práce v daném oboru v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech**

**Nízkoobjemové metastatické postižení lymfatických uzlin u karcinomu endometria.** Hambálek, J., Maděrka, M., Kolečková, M., Pilka, R. *Česká gynekologie.* 2019, 84, 6, s. 458-462.



**Může robotická chirurgie podpořit implementaci „Enhanced recovery programu” při chirurgické léčbě karcinomu endometria?** Jančková, V., Marek, R., Dzvinčuk, P., Maděrka, M., Hambálek, J., Pilka, R. Gynekolog. 2020, 29, 2, s. 45-47.

#### **10.2.4 Publikovaná abstrakta**

**Laparoskopická sakropexe – komplikace závěsného stehu.** Pilka, R., Dzvinčuk, P., Neubert, D., Hambálek, J., Maškulíková, Z., Maděrka, M. Praktická gynekologie, 2014, 18, Suppl. 1, s. 21.

#### **10.2.5 Přednášky – hlavní autor**

**Management komplikované arteriovenózní malformace v jizvě po císařském řezu.** Maděrka, M., Pilka, R., Marek, R., Köcher, M., Kratochvílová, T., Hambálek, J. XXXIV. celostátní konference perinatologie a fetomaternální medicíny, 6.–8.4.2017, Karlovy Vary.

**Management komplikované arteriovenózní malformace v jizvě po císařském řezu.** Maděrka, M., Pilka, R., Marek, R., Köcher, M., Kratochvílová, T., Hambálek, J. XVIII. kongres Sekcie gynekologickej endoskopie, 3.–1.4. 2017, Štrbské Pleso, Slovensko.

**Management komplikované arteriovenózní malformace v jizvě po císařském řezu.** Maděrka, M., Pilka, R., Marek, R., Köcher, M., Kratochvílová, T., Hambálek, J. 38. celostátní konferenci sekce ultrazvukové diagnostiky ČLS JEP, 6.–8.10. 2017, Brno.

**Management of complicated arteriovenous malformation in the scar after the caesarean section.** Maděrka, M., Pilka, R., Marek, R., Köcher, M., Kratochvílová, T., Hambálek, J. Salzburšké semináře, červenec, 2019, Salzburg, Rakousko.

**Retrospektivní analýza prvních 300 robotických chirurgických stagingových výkonů u pacientek s karcinomem endometria.** Maděrka, M., Pilka, R., Hambálek, J., Jančková, V., Dzvinčuk, P., Marek, R. 11. jihlavská onkogynekologická konference: karcinom endometria, 17. září 2020, Jihlava.

### **10.2.6 Postery – hlavní autor**

**Komplikace v robotické chirurgii – zkušenosti Porodnicko-gynekologické kliniky FN Olomouc.** Maděrková, M., Pilka, R., Marek, R., Dzvinčuk, P., Kudela, M., Hambálek, J., Zapletalová, J. IV. Hirschův den kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, 14.-15.4. 2016, Olomouc.

**Výsledky univerzitního robotického centra ve FN Olomouc.** Maděrková, M., Hambálek, J., Pilka, R., Marek, R., Dzvinčuk, P. XXV. konference Sekce gynekologické endoskopie ČGPS ČLS JEP, 20.-22.10. 2016, Olomouc.

**Management of complicated arteriovenous malformation in the scar after the caesarean section.** Maděrková, M., Pilka, R., Marek, R., Köcher, M., Kratochvílová, T., Hambálek, J. 17<sup>th</sup> World Congress in Fetal Medicine, 24.-28.6. 2018, Athény, Řecko.

## **11. Grantové projekty**

### **Spoluúčast na podání**

**Název projektu: Detekce sentinelových uzlin u karcinomu endometria s pooperačním vyšetřením na zmrzlo a definitivním ultrastagingem.**

**Grant byl přijat.**

## 12. Přílohy

**1. Serum concentrations of TFF3, S100-A11 and AIF-1 in association with systemic inflammatory response, disease stage and nodal involvement in endometrial cancer.** Pilka, R., Neubert, D., Stejskal, D., Krejčí, G., Švesták M., Marek, R., Adam, T., Sobková, K., Ondrová, D., Hambálek, J., Maděrka, M., Solichová, D., Kyjovská Krčmová, L., Javorská, L., Melichar, B. *Pteridines*. Vol. 29, 1, 2018, pp. 6-12. IF 1,92

**2. Systemic inflammatory response after open, laparoscopic and robotic surgery in endometrial cancer patients.** Pilka, R., Marek, R., Adam, T., Kudela, M., Ondrová, D., Neubert, D., Hambálek, J., Maděrka, M., Solichová, D., Kujovská Krčmová, L., Melichar, B. *Anticancer Res.* 2016, June, 36(6), pp. 2909-22. IF 0,25

**3. Zvýšení hladin TFF3 u žen s karcinomem endometria.** Neubert, D., Ondrová, D., Hambálek, J., Maděrka, M., Sobková, K., Stejskal, D., Krejčí, G., Pilka, R. *Česká gynekologie*. 2018, 83, 2, s. 284-291.

**4. Zvýšení sérových hladin S100-A11 a AIF-1 u pacientek s karcinomem hrdla děložního a postižením lymfatických uzlin.** Maděrka, M., Dvořák, V., Hambálek, J., Stejskal, D., Krejčí, G., Švesták M., Langová, K, Pilka, R. *Česká gynekologie*. 2021, 86, 1, s. 17-21.

**5. Zvýšení sérových hladin S100-A11 a AIF-1 u pacientek s dysplázií děložního hrdla.** Maděrka, M., Dvořák, V., Hambálek, J., Stejskal, D., Krejčí, G., Švesták M., Langová, K, Pilka, R. *Česká gynekologie*. 2021, 86, 1, s. 11-15.

**6. Nové sérové nádorové markery S100, TFF3 a AIF-1 a jejich možné využití v onkogynekologii.** Maděrka, M., Pilka, R., Neubert, D., Hambálek, J. *Česká gynekologie*. 2019, 84, 4, s. 303-308.