

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů
Studijní obor: Speciální chemicko-biologické obory



Kristýna Černá

Biologická léčba nádorů ledviny a role kontrolních bodů buněčné signalizace
Renal cell carcinoma biological therapy and the role of cell signaling checkpoints

Bakalářská práce

Školitelka: MUDr. Katarína Otavová

Konzultant: RNDr. Karel Drbal, Ph.D

Konzultant: Doc. MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D

Praha, 2016

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala své školitelce MUDr. Kataríně Otavové za cenné rady, za velmi laskavý přístup a čas, který mi při psaní práce věnovala. Děkuji také svému konzultantovi RNDr. Karlu Drbalovi, Ph.D. za ochotu, trpělivost a individuální přístup při kontrolách a odborných konzultacích. Ráda bych poděkovala také svému konzultantovi Doc. MUDr. Tomášovi Büchlerovi, Ph.D. za odborný dohled a poskytnutí cenných informací. V neposlední řadě patří velké poděkování mým přátelům a rodině za podporu při psaní bakalářské práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 18. 8. 2016

Kristýna Černá

Abstrakt

Principy cílené biologické klinické léčby metastatického renálního karcinomu zahrnují především inhibitory membránových tyrozin-kinázových receptorů VEGFR a intracelulární kinázy mTOR. V nejnovějších léčebných režimech se objevují také blokátory imunitních kontrolních bodů buněk imunitního systému. Detailní molekulární charakterizace nádoru je nezbytná nejen pro aplikaci stávající terapie, ale i pro vývoj nových léčiv cílících specifické molekulární dráhy buněčné signalizace nádorových buněk.

Práce se zaměřuje na popis signálních drah VEGF a mTOR u metastatického renálního karcinomu a shrnuje validované klinické biomarkery používané pro stanovení diagnózy a stratifikaci pacientů při léčbě mRCC. Zároveň nabízí náhled na současné experimenty, které se zabývají nalezením nových specifických molekulárních biomarkerů, jež by v budoucnosti mohly posunout diagnostiku směrem k personalizovanému přístupu v léčbě karcinomu ledvin a nádorů obecně.

Klíčová slova

renální karcinom, biologická léčba, buněčná signalizace, mTOR, VEGF, angiogeneze, metabolismus, imunitní kontrolní body, stratifikace pacienta, personalizovaná medicína

Abstract

Principles of targeted biological treatment of metastatic renal cell carcinoma include mainly inhibitors of the tyrosine kinase receptors VEGFR and inhibitors of intracellular mTOR kinase. Across the new healing regimes there are the blockades of immune checkpoints of the immune system cell. Detailed molecular characterization of tumor is necessary not for only application of medicaments, but also for the development of drugs that target specific molecular pathway of cell signalization of the carcinoma cells.

The work is focused on the description of the signaling pathway mTOR and VEGF in metastatic renal cell carcinoma. It summarizes all validated clinical biomarkers which are used to diagnose and stratify patients for the treatment of mRCC. It also offers insight into the present experiments that are finding new specific molecular markers. That may be the future solution for customized approach in the treatment of renal carcinoma an tumors in general.

Keywords

renal cell carcinoma, biological therapy, cell signaling, mTOR, VEGF, angiogenesis, metabolism, immune checkpoints, patient stratification, personalized medicine

Seznam zkratek:

Akt	protein kináza B	protein kinase B
ASR	věkově standardizovaná incidence	Age-standardised rate
ccRCC	světlobuněčný renální karcinom	clear cell renal cell carcinoma
CEC	cirkulující endotelové buňky	circulating endothelial cell
CTLA-4		cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4
DAG	diacylglycerol	
EGFR	receptor pro epidermální růstový faktor	epidermal growth factor receptor
FGFR	receptor pro fibroblastový růstový faktor	fibroblast growth factor receptor
FKB12	FK506 vazebný protein 12kDa	FK506 binding protein 12kDa
GAP	GTPase-activating protein	
GPCRs	receptory spřažené s G proteiny	G protein – coupled receptors
HFSR	syndrom palmoplantární erytrodysézie	hand-foot syndrom
HGF	hepatocytární růstový faktor	hepatocyte growth factor
HIF- α	hypoxií indukovaný faktor alfa	hypoxia-inducible factor alfa
HS	heparan sulfát	
HSPG	proteoglykany heparan sulfátu	heparan sulfate proteoglycans
HT	hypertenze	
chRCC	chromofobní renální karcinom	chromophobe renal cell carcinoma
IGF-1R	receptor pro inzulinu podobný růstový faktor 1	insulin-like growth factor 1 receptor
IL-6	interleukin 6	
IL-8	interleukin 8	
LDH	laktátdehydrogenáza	
LOH	ztráta heterozygosity	loss of heterozygosity
miRNA	mikro RNA	
MMP-2	metaloproteináza-2	
MMP-9	metaloproteináza-9	
mRCC	metastatický renální karcinom metastatic	renal cell carcinoma
mTOR		mechanistic target of rapamycin
NRP1	neuropilin 1	

NRP2	neuropilin 2	
OS	celková doba přežití	overall survival
PD-1		programmed death-1
PDK1	pyruvátdehydrogenáza-kináza 1	pyruvate dehydrogenase kinase 1
PFS	doba přežití bez progresu	progression free survival
PHD	polyhydroxyláza	
PI3K	fosfatidylinositol-3-kináza	phosphoinositide 3-kinase
PIP2	fosfatidylinositol 4,5- bisfosfát	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
PIP3	fosfatidylinositol-3,4,5-trisfosfát	phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate
PKC	protein kináza C	
PLC γ	fosfolipáza C γ	
PRCC	papilární renální karcinom	papillary renal cell carcinoma
RR	procento odezvy	response rate
SEMA 3	semaforiny třídy 3	class 3 semaphorins
SH2	homolog strukturní domény 2 kinázy Src	Src-homology 2 domain
SHP-2	Fosfatáza 2 obsahující SH2 doménu	SH2 domain-containing protein tyrosine phosphatase
SNPs	jednonukleotidové polymorfismy	single nucleotide polymorphisms
Src	protoonkogenní protein tyrosin kináza Src	proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src
TIMP-1	tkáňový inhibitor metaloproteinázy 1	tissue inhibitors of metalloproteinases-1
TKI	tyrosin kinázový inhibitor	
TKR	tyrosin kinázový receptor	
VEGF	vaskulární endoteliální růstový faktor	vascular endothelial growth factor
VEGFR	receptor vaskulárního endoteliálního růstového faktoru	vascular endothelial growth factor receptor
VHL	von Hippel-Lindau	

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Renální karcinom	2
2.1 Epidemiologie	2
2.2 Rizikové faktory	3
2.3 Symptomy	4
2.4 Histologická klasifikace	4
2.5 Metastatický renální karcinom	5
2.6 Molekulární charakteristika ccRCC	6
3 Cílené dráhy buněčné signalizace biologické léčby renálního karcinomu.....	8
3.1 VEGF – angiogeneze.....	9
3.1.1 VEGF-VEGFR signalizace	12
3.1.1.1 Signalizace VEGFR 1.....	12
3.1.1.2 Signalizace VEGFR2.....	13
3.1.1.3 VEGFR3 signalizace	14
3.1.1.4 Antiangiogenní terapie	15
3.2 mTOR – metabolismus.....	16
3.2.1 Dráha PI3K/Akt/mTOR.....	16
3.2.2 Inhibice mTORC1 komplexu prostřednictvím rapamycinu	17
3.2.3 Klinická léčiva na principu inhibice mTOR.....	18
3.3 Vyhledky do budoucna	18
4 Terapie mRCC.....	19
4.1 Validované klinické markery pro léčbu	19
4.2 Aktuální nastavení léčby podle guidelines Evropské urologické asociace	21
4.3 Momentální stav klinické léčby v České republice.....	23
5 Vyhledky směrem k personalizované medicíně.....	25
5.1 Molekulární biomarkery	25
5.1.1 Molekulární biomarkery a odpovědi na VEGF cílenou léčbu.....	25
5.1.1.1 Polymorfismy	25
5.1.1.2 Inaktivace VHL	27
5.1.1.3 Expresse karbonické anhydrázy CAIX (CA9).....	27
5.1.1.4 microRNA	28
5.1.1.5 Cirkulující endotelové buňky	28
5.1.1.6 Sérová hladina cytokinů a angiogenních faktorů	28
5.1.2 Molekulární biomarkery a odpovědi na léčbu mTOR inhibitory	29
6 Závěr.....	29
7 Seznam použité literatury	30

1 Úvod

Renální karcinom je dvanáctou nejčastější rakovinou. Zastupuje 2-3% všech maligních nádorů. Ovšem Česká republika zaujímá první místo na světě v incidenci rakoviny ledvin. Muže tato nemoc postihuje dvakrát častěji než ženy. V roce 2012 bylo v Evropě diagnostikováno 84 400 případů s tímto onemocněním, zatímco mortalita nádorů ledvin byla 34 700 (Ferlay et al. 2013).

V průběhu vývoje a růstu nádoru prodělává řízení buňky specifické změny, které jsou charakteristické pro nádorové buňky. Jedná se o soběstačnost v růstových signálech, necitlivost k signálům zastavující růst, vyhnutí se buněčné smrti, získání neomezeného dělicího potenciálu, vyvolání angiogeneze, aktivace tkáňové invaze a schopnost metastazování, mechanismy změny energetického metabolismu buňky a schopnost nádorových buněk vyhýbat se imunitnímu systému (Hanahan a Weinberg 2011). Práce se zaměřuje na molekulární mechanismy, které hrají zásadní roli v angiogenezi a změnách metabolismu.

Jeden z nejdůležitějších molekulárních mechanismů, který je pozměněn v renálním karcinomu, je právě patologický proces angiogeneze, přispívající k jeho vývoji a metastazování. Signalizace vedoucí k angiogenezi je vyvolána vazbou růstových faktorů na transmembránové tyrozin-kinázové receptory (TKR) (Olsson et al. 2006).

Druhou stěžejní signalizační dráhou, na kterou se práce zaměřuje, je signalizace vedoucí k aktivaci mTOR (mechanistic target of rapamycin) kinázy. Její aktivace je závislá na přísunu živin, informaci z růstových signálů a kontroly buněčného cyklu. Léčiva, která jsou zaměřena na inhibici mTOR kinázy, tlumí především signalizaci vedoucí k proliferaci, přežití buňky a angiogenezi. Jsou indikovány při pokročilém onemocnění metastatického renálního karcinomu (Sabatini 2006).

Při rozhodování o léčbě metastatického renálního karcinomu (mRCC) v klinické praxi je důležitá souhra několika faktorů. Lékař se řídí oficiálními aktuálními doporučeními – “guidelines“ Evropské urologické asociace (European Association of Urology), specifickým profilem pacienta, který zahrnuje vyhodnocení stadia nemoci, a dále i dostupností doporučovaných léčiv, kde hraje roli nezbytné schválení léčiva Státním ústavem pro kontrolu léčiv a úhradou látek pojišťovnou (Ljungberg et al. 2015). V neposlední řadě hraje roli informovanost lékaře o nových možnostech a trendech v léčbě, například ve zvážení zařazení pacienta do klinické studie.

V současné době, je mRCC léčen především cílenou biologickou léčbou. Podstatou této léčby je přesné zacílení a inhibice nádorových buněk a jejich molekulárních mechanismů. V klinickém nastavení léčby jsou registrovány čtyři látky inhibující TKR, jedna látka inhibující růstový faktor a dva inhibitory m-TOR kinázy (Ljungberg et al. 2015).

Vyhlídkou do budoucna v léčbě nádorů ledviny je imunoterapie, spočívající v aktivaci přirozených imunitních mechanismů, které vyvolají protinádorovou odpověď. Imunoterapie na rozdíl od cílené léčby spouští celé spektrum imunitních mechanismů, které směřují ke komplexní odpovědi, jež může vést až k odhojení nádoru. Vzhledem k odlišnému principu cílené léčby a imunoterapie je vhodné o imunoterapii mluvit jako o biologické léčbě. Je však sporné ji řadit mezi léčbu cílenou. V doporučeném nastavení léčby nádorů ledviny je od roku 2015 registrován nivolumab (Ljungberg et al. 2015). Jedná se o specifickou protilátku, která blokuje inhibiční receptor PD-1 na T-lymfocytech. Normální funkcí tohoto tlumivého receptoru je inhibice nadměrné imunitní reakce a zamezení vzniku autoimunitních reakcí. U některých nádorových pacientů dochází po zablokování PD-1 k silné aktivaci T-lymfocytů a zahájení protinádorové imunitní odpovědi. Druhým receptorem s tlumivou funkcí je CTLA-4 (cytotoxic T-lymhocyte antigen-4), který je také terapeutickým cílem v léčbě některých rakovin, nikoliv však ještě v léčbě mRCC (Pardoll 2012).

Rakovina je ve vlastní podstatě nemocí s obrovskou diverzitou. Liší se mezi sebou jak jednotlivé nádory, tak i jednotliví pacienti. Jediný nádor obvykle obsahuje několik subtypů nádorové tkáně. Každý klinický případ je unikátní a proto jsou výsledky randomizovaných studií často nekonkluzivní. Obrovská různorodost vede k omezené odpovědi pacienta na léčbu, která cílí jen některé části nádoru. Ta se v průběhu léčby ještě dále diverzifikuje v závislosti na nových mutacích v nádoru a změnách v imunitním dohledu (Palma a Hanahan 2012). Naději se zdá být personalizovaný přístup v léčbě rakoviny, který spočívá v podrobné individuální diagnostice pacienta, při které právě detailní informace o pacientově nádoru slouží k přesné diagnóze, určení plánu léčby, kontrole funkčnosti léčby a stanovení prognózy. Pro podrobnou komplexní diagnostiku je důležité nejen vyšetření tkáně nádoru, ale také nutný posun k podrobné buněčné a molekulární diagnostice (Mickley et al. 2015).

V klinické praxi pro mRCC dosud nebyly validovány molekulární biomarkery, které by predikovaly pacienta pro vhodnou cílenou léčbu (Ljungberg et al. 2015). Současné experimentální přístupy se zabývají hledáním signifikantních molekulárních biomarkerů, které by se mohly stát prediktory pro celkovou dobu přežití (OS) a dobu do progresu onemocnění (PFS) na léčebnou odpověď. Nalezení vhodných prediktorů směřuje cílenou léčbu směrem k personalizované. Validace nalezených biomarkerů v klinické praxi pak následně povede k lepší stratifikaci pacientů, nezbytné pro podání nejvhodnější léčby (Garcia-Donas et al. 2015).

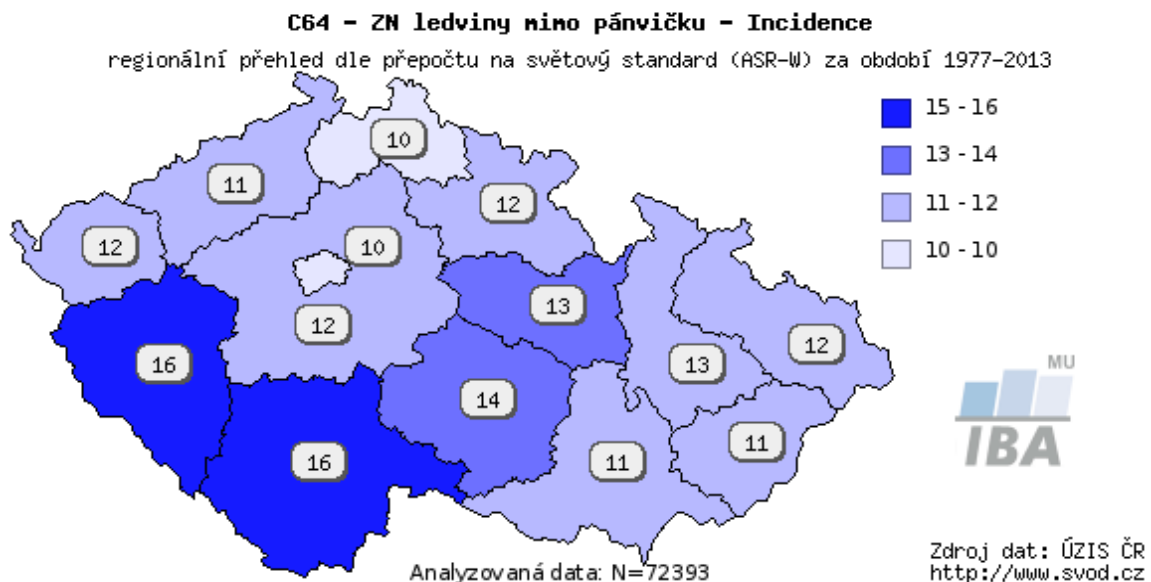
2 Renální karcinom

2.1 Epidemiologie

Podle světové statistické studie provedené v roce 2012 bylo zjištěno, že rakovina ledvin je dvanáctou nejčastější rakovinou na světě (Ferlay et al. 2013). V tomto roce bylo diagnostikováno 84 400 případů s onemocněním nádorů ledviny a 34 700 úmrtí. 80-90% rakovin ledvin jsou nádory mimo

ledvinnou pánvičku, vyrůstajících z parenchymu. Zbýlých 10-20% se týkají nádorů ledvinné pánvičky. Age-Standardized Rate (ASR) udává hodnotu, vyjadřující teoretický počet nádorů na 100 000 obyvatel v případě, že by bylo shodné jejich věkové rozložení. Česká republika s ASR 16,7 zaujímá první místo na světě. Je následována Litvou a Slovenskem, pokud nebereme v úvahu závislost onemocnění na pohlaví (Ferlay et al. 2013). V případě, že je incidence vztažena na pohlaví, mění se umístění ostatních zemí, ale Česká republika zůstává stále první. Muži jsou postiženi 2 krát častěji než ženy (Ferlay et al. 2013).

Dostupná epidemiologická analýza Národního onkologického registru České republiky dělí nádory ledvin na nádory mimo ledvinnou pánvičku a nádory ledvinné pánvičky. Nádory mimo ledvinnou pánvičku, které mají obecně většinovou incidenci, tvoří v Česku 93-95 % všech nádorů ledvin. Největší incidence byla zaznamenána v Plzeňském a Jihočeském kraji s ASR 16 za období 1977- 2013 (obr. 1).



Obrázek 1 Incidence nádorů ledviny mimo ledvinnou pánvičku v České republice za období 1977-2013. Přejato od (<http://www.svod.cz/analyse.php?modul=regionprehled#>) – přístup 22.7.2016.

2.2 Rizikové faktory

Ukazatelem vztahu mezi expozicí rizikovému faktoru a zdravotním následkem je relativní riziko. Relativní riziko je vyjádřeno poměrem incidencí onemocnění v exponovaném souboru a neexponovaném souboru (relativní riziko = 1 daný faktor nemá vliv na vznik onemocnění, >1 vystavení faktoru je rizikové pro vznik onemocnění, <1 vystavení faktoru má před vznikem onemocnění ochrannou funkci).

Uznávaným signifikantním rizikovým faktorem pro onemocnění renálním karcinomem je kouření. Bylo zjištěno, že relativní riziko pro RCC u kouřících mužů je 1,54 a 1,22 u kouřících žen. Riziko se zvětšuje s počtem vykouřených cigaret za den. Riziko bylo nižší u exkuřáků, pokud přestali

kouřit po dobu delší než deset let v porovnání s těmi, kteří přestali kouřit po dobu jednoho až deseti roků (Hunt et al. 2005).

Dalším významným rizikovým faktorem se ukázala být hypertenze. Při srovnání vysokého a nízkého, systolického a diastolického tlaku bylo vypočítané relativní riziko 2,84 a 2,34. Nebylo objeveno snížení nebo zvýšení relativního rizika v závislosti na pohlaví, nebo na užívání léčiv proti hypertenzi (Weikert et al. 2008).

Relativní riziko u obezity pro RCC je 1,07 na jednu jednotku zvýšení BMI, (což odpovídá zvýšení 3 kg tělesné hmotnosti jedince průměrné výšky). Studie ukázala stejné riziko při zvýšení BMI u mužů i žen (Bergström et al. 2001).

Rizikovým faktorem pro vznik renálního karcinomu je nadměrná konzumace masa. V nedávné studii byly publikovány dvě konkrétní látky, a to 2-amino-3,8-dimethylimidazo-(4,5-f) guanoxalin (MeIQx) a 2-amino-1 methyl-6-phenylimidazo(4,5-b)pyridin (PhIP), které jsou přítomny v mase a mohou se stát mutagenními, zejména při procesu grilování, nebo smažení na pánvi. Mutagenní schopnost PhIP je modifikována specifickými polymorfismy. Větší pravděpodobnost pro vznik RCC mají jedinci s polymorfismem rs718314 genu *ITPR2* a rs7579899 genu *EPAS1*. (Melkonian et al. 2016).

I přesto, že existují faktory, které zvyšují riziko rakoviny ledvin a obecně nádorových onemocnění, je třeba jejich dalšího a aktivního zkoumání. Fakta o rizikových faktorech nás sice pravdivě informují, ale je potřeba objevení přímých vlivů, které přímo způsobují vznik nemoci.

2.3 Symptomy

Renální karcinom je často asymptomatickým onemocněním. U 6-10 % pacientů jsou až v pokročilém stádiu nemoci detekované příznaky jako je viditelná hematurie, bolest v boku a hmatatelný nádor, přičemž nahmatání nádorové masy je příznakem velmi pokročilého onemocnění (Ljungberg et al. 2015).

2.4 Histologická klasifikace

Od ledna roku 2016 byla vytvořena nová histologická klasifikace karcinomu ledviny, která zahrnuje 24 subtypů renálního karcinomu. Třemi nejčastějšími jsou: Světlobuněčný renální karcinom (ccRCC), papilární renální karcinom (PRCC) a chromofobní renální karcinom (chRCC) (Moch et al. 2016).

Práce se dále zaměřuje na metastatický renální karcinom, který je léčen cílenou biologickou léčbou. Pozornost je věnována především nejčastějšímu subtypu - světlobuněčnému renálnímu karcinomu (ccRCC). Většina pacientů má nádor tohoto subtypu, a právě jemu nejvíce odpovídá momentální nastavení léčby (Ljungberg et al. 2015).

CcRCC je nejčastějším maligním nádorem ledvin. Tvoří 65 – 70 % všech renálních karcinomů. Vychází z epitelu proximálního tubulu nefronu. Je dobře ohraničený, bez pouzdra. Řez karcinomem má šedobílou až zlatavou barvu, vyznačuje se častým krvácením a nekrózami. Běžný je výskyt cyst. V nádoru může docházet k vápenatění a osifikaci. Morfologicky je charakterizován zhoubnými novotvory, které tvoří buňky s čirou nebo eosinofilní cytoplasmou (Moch et al. 2016). 60-80 % renálních nádorů je objeveno prostřednictvím ultrazvuku, CT, nebo MRI. Symptomatické příznaky jako je hematurie, bolest v boku, ztráta váhy a zvýšená teplota, jsou příznaky pokročilého stádia nemoci (Moch et al. 2016).

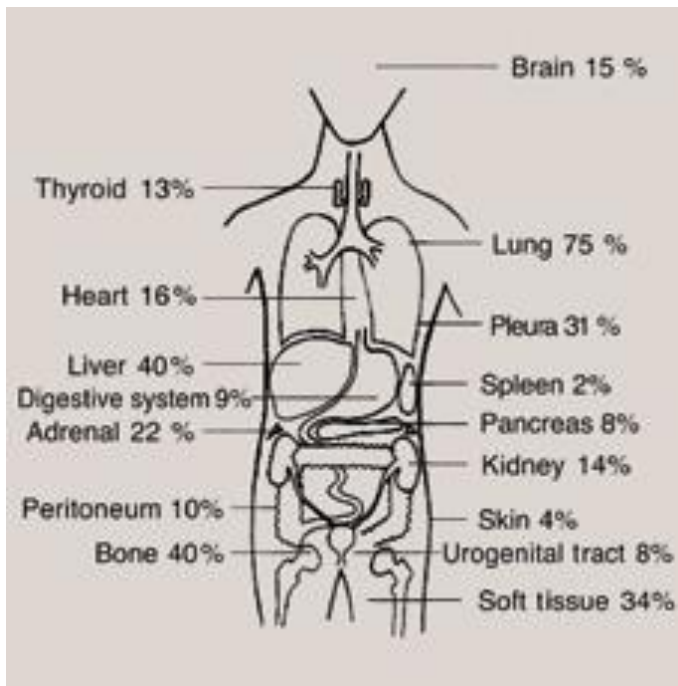
PRCC je často dobře vymezený nádor s pseudokapsulí. Má papilární nebo tubulární architekturu a vzniká z renálního tubulárního epitelu. Barva nádoru je buď šedá, žlutá, světle nebo tmavě hnědá v závislosti na stupni intratumorálního krvácení. Větší nádory mohou obsahovat fibrózy, nekrózy a cystické degenerace. PRCC je druhým nejčastějším nádorem ledviny. Jeho incidence je 18,5 % ze všech ledvinových tumorů. Výskyt PRCC je nízký v souvislosti s genetickými syndromy, avšak dědičný papilární karcinom má v postižených rodinách vysoký stupeň výskytu (Moch et al. 2016). Typická trojice symptomů renálního karcinomu byla u PRCC zaznamenána pouze v 5-10 % případů. Nádory jsou asymptomatické a více než 50 % jich je zachyceno náhodně pomocí zobrazovacích metod (Moch et al. 2016).

ChRCC jsou často velké mající v průměru 7 cm. Jejich barva je světle hnědá až hnědá v závislosti na koncentraci eosinofilních buněk. Jsou dobře ohraničené a bez přítomnosti kapsuly. Incidence ChRCC je 5-7 % ze všech nádorů ledvin. Většina nádorů je sporadická, dědičné formy jsou neobvyklé a vznikají zřídka. Neexistuje žádný přímý symptom specifický pro chRCC, a proto jsou objeveny především náhodně. Většina chRCC jsou omezena pouze na ledviny (Moch et al. 2016).

2.5 Metastatický renální karcinom

Při diagnóze karcinomu ledviny je 25–30 % detekovaných nádorů metastatických. U dalších 20–30 % pacientů, kteří nemají pokročilý nádor, dojde k metastazování po nefrektomii (Büchler et al. 2011).

CcRCC nejčastěji metastazuje krevní cestou prostřednictvím renálních sinusových žil, renálních žil a dolní duté žíly, vedoucí k vývoji plicních metastáz. Plicní metastázy jsou nejčastějším místem metastatického šíření nádorů ledvin a zastupují 75 % incidence orgánových metastáz, které se šíří hematogenně (obr. 2). Dalšími nejčastějšími hematogenními metastázami jsou kostní (40 %) a jaterní metastázy (40 %) (obr. 2) (Moch et al. 2016).



Obrázek 2 Výskyt hematogenních orgánových metastáz renálního karcinomu. Přejato od (Moch et al. 2016).

Metastazování ccRCC na neobvyklá místa je umožněno prostřednictvím šíření nádorových buněk lymfatickou cestou (Moch et al. 2016).

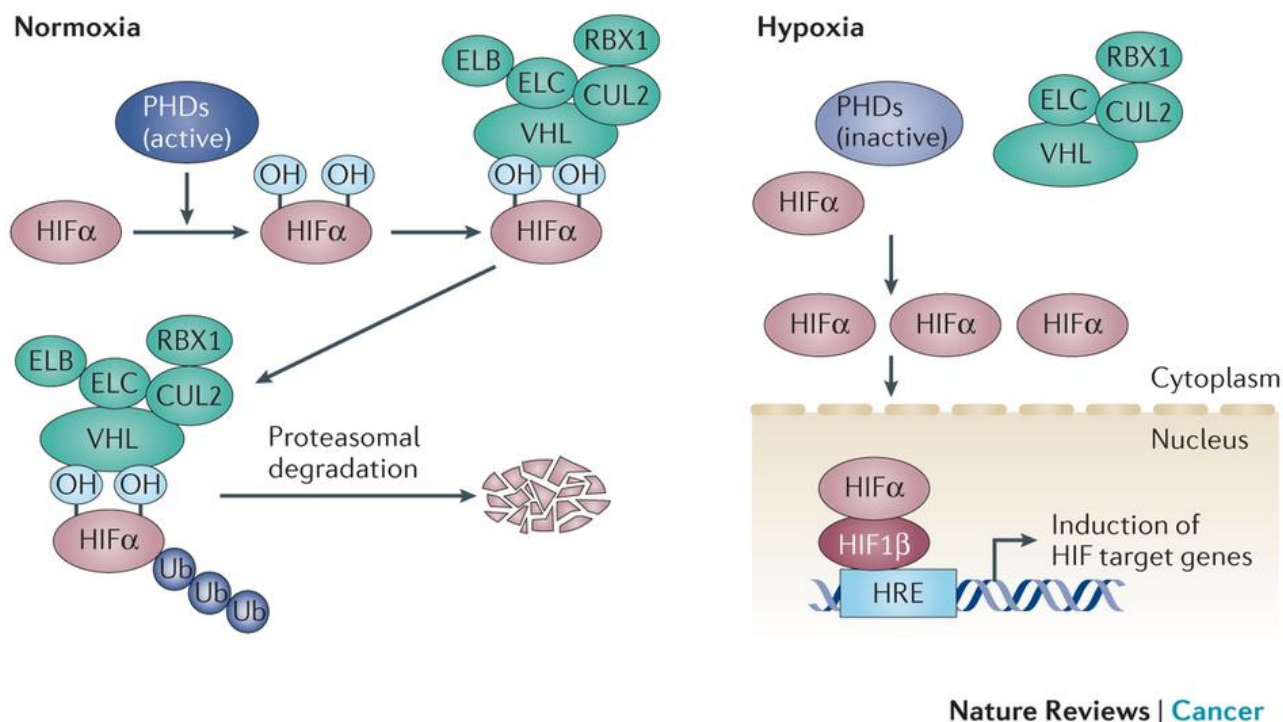
PRCC je dominantně šířen hematogenně stejně, jako je tomu u ccRCC. Nádor může proniknout do perirenálního tuku, vedoucímu k šíření do retroperitonea. Šíření lymfatickými uzlinami je u PRCC častější než u ccRCC (Moch et al. 2016).

2.6 Molekulární charakteristika ccRCC

Nejčastější genetickou změnou v ccRCC je mutace v tumor supresorovém genu *VHL* (von Hippel-Lindau), jehož lokace je na krátkém raménku chromozomu 3 (3p 25-26). Výskyt somatických mutací *VHL* se ve sporadických ccRCC pohybuje kolem 91 %. Metylací *VHL* dochází v 5-10 % k umlčení genu a v 98 % ke ztrátě heterozygoty (LOH) ve sporadických ccRCC. 55 % somatických mutací *VHL* je zapříčiněno změnou čtecího rámce („frameshift“) nebo mutacemi způsobujícími stopkodon („nonsense“). 32 % všech somatických mutací zastupují synonymní („missense“) mutace (Gossage et al. 2015).

Gen *VHL* kóduje protein VHL, který je součástí proteinového komplexu, hrajícího zásadní roli v degradaci hypoxií indukovaného faktoru 1 (HIF- α). Za normooxických podmínek je HIF- α hydroxylován polyhydroxylázou 1 (PHD1), PHD2 a PHD3. Na takto hydroxylovaný HIF- α se váže proteinový komplex skládající se ze specifických proteinů (VHL, ELB, ELC, CUL2 a RBX1), které vyvolávají vazbu ubiquitinu a následnou degradaci v proteazomu. Při hypoxii nejsou aktivní PHD, nedochází k navázání komplexu stěžejního pro následnou ubiquitinilaci HIF- α a degradaci

v proteozomu. Volné HIF-1 α se hromadí a translokují do jádra, kde vytváří heterodimery s HIF1 β , což vyvolá transkripci *HIF* cílených genů (obr. 3) (Gossage et al. 2015).



Obrázek 3 **Regulace VHL hypoxií.** Přejato od (Gossage et al. 2015).

Uvažuje se, že velké množství cílových genů HIF- α hraje důležitou roli ve vývoji nádoru. Mezi nimi jsou i geny řídící angiogenezi, jako je *VEGFA*, *PDGF* a *CTCF* (Kaelin Jr 2008).

V roce 2013 byla publikována vlivná studie, která se zabývala molekulární charakterizací ccRCC prostřednictvím analýzy 417 vzorků z primárních nádorů. Bylo zjištěno, že do somatických změn jsou často zapojená ramena chromozomů nebo celé chromozomy, přičemž nejfrekventovanější byla ztráta 3p a to u 91 % vzorků (Creighton et al. 2013).

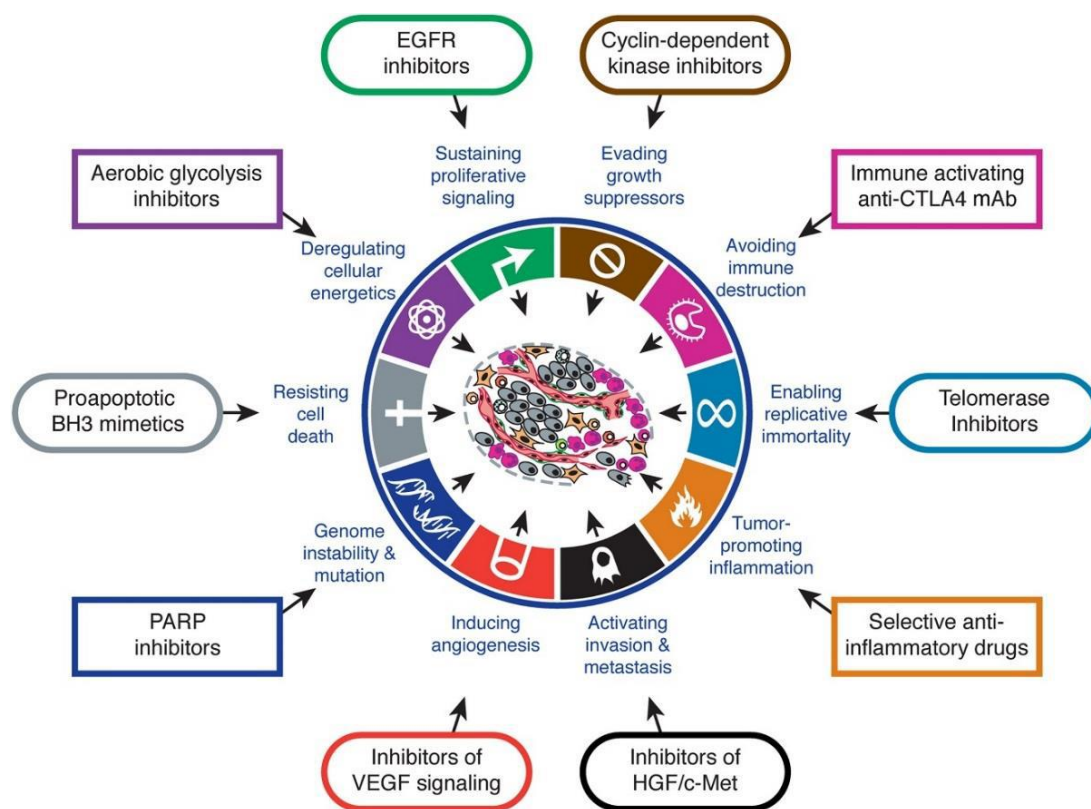
Bylo identifikováno devatenáct signifikantně mutovaných genů, kde geny *VHL*, *PBRM1*, *SED2*, *KDM52*, *PTEN*, *BAP1*, *MTOR* a *TP53* reprezentují osm nejsignifikantnějších nálezů ($p=0,00001$). Nádory ccRCC mají vysokou molekulární heterogenitu. Ve 20 % všech vzorků nebyla identifikována ani jedna z devatenácti nejsignifikantnějších mutací. Mnoho z nich neslo vzácné mutace. Mezi všemi mutacemi pouze jediná v genu *BAP1* korelovala s horší prognózou (Creighton et al. 2013).

Genetické mutace nádoru nejsou v současné době biomarkery, které by byly používány v klinické praxi (Ljungberg et al. 2015). Je možné, že potenciální roli bude v budoucím výzkumu zastávat zájem o zkoumání rozdílných reakcí na léčbu v souvislosti se specifickou genetickou patologií.

3 Cílené dráhy buněčné signalizace biologické léčby renálního karcinomu

Při nádorové progresi získává buňka určitý výčet specifických schopností, kterými se liší od normální tkáně a které jí umožní obejít řadu mechanismů zajišťujících homeostázu organismu. Tyto mechanické změny jsou sdíleny napříč většinou nádorů. Jedná se o soběstačnost v růstových signálech, necitlivost k signálům zastavující růst, vyhnutí se buněčné smrti, získání neomezeného dělicího potenciálu, vyvolání angiogeneze, aktivace tkáňové invaze a schopnost metastazování. Později byly k těmto systémům přiřazeny mechanismy změny energetického metabolismu buňky a schopnost nádorových buněk vyhýbat se imunitnímu systému (Hanahan a Weinberg 2011).

Imunitní systém zastává ve vývoji nádoru dvojí protichůdnou roli. Zatímco role imunitního dohledu a odhojení nádoru působí protinádorově, prostředí chronického zánětu pozitivně podporuje nádorovou iniciaci a postupování (Hanahan a Weinberg 2011).



Obrázek 4 Příklady specifického terapeutického cílení charakteristických rysů rakoviny. Přejato od (Hanahan a Weinberg 2011).

Definování charakteristických rysů rakoviny sdílených napříč většinou nádorů poukazuje na konkrétní rysy jako na možné terapeutické cíle léčby rakoviny (obr. 4). Při cílené léčbě mRCC jsou

terapeutickými cíli mechanismy angiogeneze, energetické změny metabolismu a v poslední době role imunitního systému.

Práce se dále výlučně zaměřuje na popis signalizace vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) v interakci s TKR z rodiny receptorů vaskulárních endoteliálních růstových faktorů (VEGFR) a signalizací dráhy PI3K/Akt/mTOR. V inhibici těchto specifických komponent zmíněných signalizačních kaskád spočívá cílená biologická léčba rakoviny ledvin.

3.1 VEGF – angiogeneze

Pro regulaci angiogeneze je klíčovým mechanismem navázání růstových faktorů ze skupiny VEGF na membránové TKR VEGFR, který následně fosforyluje další komponenty specifických (níže rozvedených) signalizačních drah.

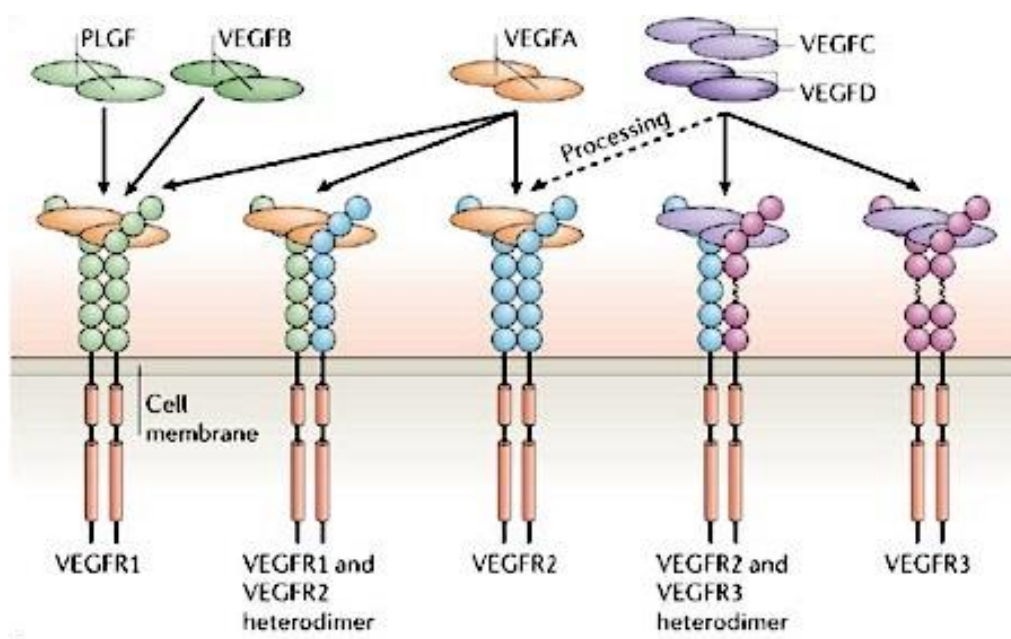
Ligandem pro TKR z rodiny VEGFR je VEGF. Produktem genu *VEGF-A* je cytokin VEGF-A, který je členem rodiny vaskulárních endoteliálních růstových faktorů odvozených od krevních destiček (PDGF), kam se řadí další čtyři proteinové produkty genů *VEGF-B*, *VEGF-C*, *VEGF-D* a *PLGF* (placentární růstový faktor) u savců. Jejich funkce je především regulace angiogeneze a lymfangiogeneze. Všechny vážou specifické TKR z rodiny flt-1 (Shibuya 2013). Mají preferenčně strukturu homodimeru, avšak u VEGF-A a PLGF byly identifikovány heterodimery (Olsson et al. 2006).

Signalizace VEGF je zprostředkována třemi transmembránovými TKR: VEGFR1 (*FLT1*), VEGFR2 (*KDR*) a VEGFR3 (*FLT4*). Vazba specifických VEGF na tyto receptory vede k signalizacím, které mají ve výsledku odlišné funkce (Rini et al. 2005). Flt-1 rodina TKR (Flt-1 family/7-Ig-TKR) obsahuje extracelulární část skládající se ze 7 imunoglobulinu-podobných domén („Ig-like“), transmembránovou a intracelulární část. Počtem imunoglobulinu-podobných domén v extracelulární části se zásadně liší od rodiny Fms, Kit a PDGFR, od které je vzdáleně odvozená. Tyto TKR obsahují 5 imunoglobulinu-podobných domén ve své extracelulární doméně a jsou známé taky jako rodina PDGFR/5-Ig-TKR (Shibuya 2010).

TKR se vyskytují jako homodimery i jako heterodimery (Obr. 4) (Olsson et al. 2006). Receptor VEGFR1 váže VEGF-A, PLGF a VEGF-B. Má významnou funkci v remodelaci a růstu cév. Jeho klíčovým regulátorem je stav hypoxie. VEGFR1 má svou úlohu v mnoha patologických procesech, mezi které patří i ty, co jsou spojené s vývojem nádoru, jako je narušená angiogeneze, růst nádoru a metastazování. VEGFR2 váže VEGF-A s desetkrát vyšší afinitou než VEGFR1. Váže také proteolyticky upravené VEGF-C a VEGF-D. Vazbou VEGF-A na VEGFR2 je regulována diferenciace, proliferace, migrace endotelových buněk a formování cévní trubice. Patologickým procesem této dráhy je neovaskularizace nádoru. VEGFR3 váže VEGF-C a VEGF-D, přičemž VEGF-C/VEGFR3 signalizace je zodpovědná za tvorbu z již stávajících nových lymfatických cév. VEGF-C produkovaný nádorovými buňkami způsobuje poruchu řízení novotvorby lymfatických cév, která vede k jejich destabilizaci a

šíření. Tyto změny mají svůj význam při vstupování nádorových buněk do lymfy a dalším šíření metastáz (Tugues et al. 2011).

Důležitým regulačním mechanismem VEGF je alternativní sestřih transkriptů kodujících některé VEGF, konkrétně VEGF-A, VEGF-C a VEGF-D. Vznikají izoformy genových produktů, které mají v důsledku sestřihu jiné vlastnosti, vedoucí k rozdílným biologickým aktivitám. Lidské izoformy VEGF-A jsou VEGFA121, VEGFA165, VEGFA189 a VEGFA206. Jejich regulační schopnost spočívá v odlišné vazbě na koreceptory neuropiliny. Neuropiliny tvoří komplexy s VEGFR, konkrétně s VEGFR1 a 2, přičemž zesilují signální transdukcii, zprostředkovanou VEGFR2 (Neufeld a Kessler 2008). Alternativně sestřižené VEGF-C a VEGF-D zprostředkovávají vazbu s VEGFR2 (obr. 5) (Olsson et al. 2006).



Obrázek 5 *Signální transdukcce VEGF signalizace. Přejato od (Olsson et al. 2006).*

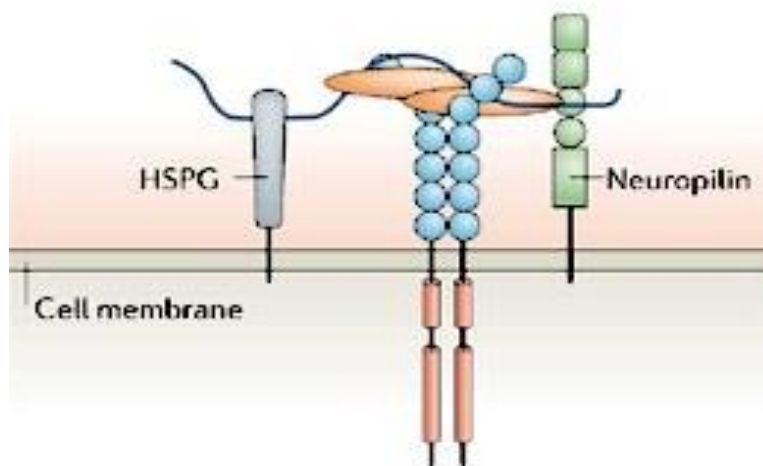
VEGF signalizace je regulována prostřednictvím koreceptorů jako jsou neuropiliny, integriny, proteoglykany heparan sulfátu a také prostřednictvím vazeb ligandů, kterými jsou semaforiny. Neuropiliny jsou transmembránové proteiny, které jsou u obratlovců zastoupeny transmembránovými receptory NRP1 a NRP2 (Obr. 6). Tyto receptory obsahují čtyři odlišné extracelulární domény pro vazbu ligandu, krátkou transmembránovou doménu a cytoplazmatickou doménu, která však nemá katalytickou aktivitu. NRP byly nejprve objeveny jako neuronální receptory vázající semaforiny v souvislosti s vývojem a funkcí nervové soustavy (Goel a Mercurio 2013).

Jeden z regulačních významů NRP1 spočívá ve vazbě alternativně sestřižených VEGF-A, která je závislá na vazbě heparinu. Exon 7 genu *VEGF-A* kóduje heparin vazebnou doménu. Pokud je transkript sestřižen tak, že postrádá exon 7, není schopen vazby NRP1. Takovým příkladem je sestřihová forma VEGFA121, která v důsledku toho může mít antiangiogenní funkci, zatímco izoformy

VEGFA145, 165, 189 a 206 vážou NRP (konkrétně VEGFA145, 165 vážou NRP2 a VEGFA165, 189 vážou NRP1), a proto mohou vést k proangiogenní odpovědi (Neufeld a Kessler 2008).

Důležitou roli v regulaci VEGF zastávají semaforiny, konkrétně semaforiny třídy 3 (SEMA3) představující sekretované proteiny, které se vyskytují výlučně u obratlovců. Vazbou na koreceptory NRP1 a NRP2 mohou modulovat angiogenezi a vaskulární homeostázu. Příkladem je inhibice angiogeneze prostřednictvím inhibice vazby VEGFA165 k NRP1 nebo inhibice lymfangiogeneze prostřednictvím vazby SEMA3 na NRP2 (Neufeld a Kessler 2008).

Dalšími důležitými extracelulárními regulátory VEGF signalizace jsou proteoglykany heparan sulfátu (HSPG) (Obr. 6), vyskytující se jako transmembránové nebo sekretované proteiny, které interagují s VEGF prostřednictvím kovalentně vázaných řetězců heparan sulfátu (HS). Funkcí vazby HS současnou vazbou na růstové faktory a receptory zvyšují poločas trvání receptorového komplexu. Prostřednictvím HSPG exprimovaných na sousedních pericytech je zesílen signál VEGF165 k VEGFR2. Funkcí HSPG ve VEGF signalizaci je především ovlivnění lokalizace, doby trvání a kvality signálu k VEGFR (Olsson et al. 2006).



Obrázek 6 *Modulace VEGF signalizace prostřednictvím koreceptorů – proteoglykanů heparan sulfátu a neuropilinů. Přejato od (Olsson et al. 2006).*

Integriny jsou rodina transmembránových heterodimerických receptorů, jejichž funkcí je připojování extracelulární matrix k cytoskeletu a zprostředkování oboustranného přenášení signálu (Goel a Mercurio 2013). Stěžejní roli pro VEGF signalizaci má integrin $\alpha_v\beta_3$, který zesiluje fosforylaci VEGFR2 vyvolanou VEGFA165. Tato signalizace má význam v proliferaci a migraci endotelových buněk (Soldi et al. 1999).

Patologická exprese mRNA kódující VEGF je regulována hypoxií. U pacientů s Von Hippel-Lindau syndromem je inaktivován gen pro VHL, jehož produkt za normoxygenických podmínek poskytuje

negativní regulaci *VEGF* a dalších genů regulovaných hypoxií. Pro VHL pacienti jsou časté kapilární hemangioblastomy v sítnici a mozečku a světlobuněčný renální karcinom (Kaelin Jr 2008).

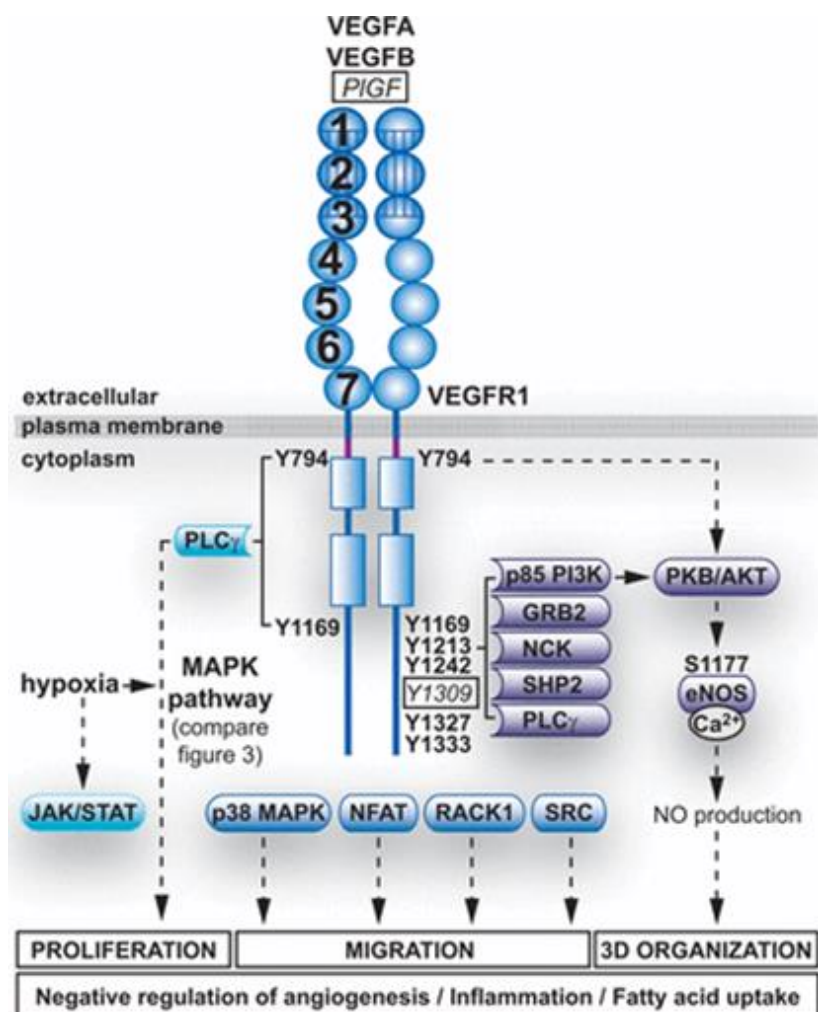
3.1.1 VEGF-VEGFR signalizace

VEGFR se skládají ze třech hlavních částí. Extracelulární doména, transmembránová doména a intracelulární tyrosin kinázová doména, která se skládá z aminokyselinných zbytků (Shibuya a Claesson-Welsh 2006). Signální kaskáda začíná vazbou ligandu na receptor, následuje dimerizace a tím fosforylace specifických tyrozinových zbytků intracelulární receptorové domény, které vedou k přenosu dalších signálů (Rini a Small 2005).

3.1.1.1 Signalizace VEGFR 1

Na analýzách *in vitro* bylo demonstrováno, že specifita signalizace a následný přenos signálů jednotlivých receptorů je závislý na fosforylaci konkrétních tyrozinových zbytků intracelulárních domén receptorových kináz. U receptoru VEGFR1 byla identifikována konkrétní autofosforylační místa (Tyr794, Tyr1213, Tyr1214, Tyr1333, Tyr1309, Tyr1327, Tyr1169) (Koch et al. 2011). Vazbou ligandu VEGF-A nebo PLGF dochází k vyvolání rozdílné konformace intracelulární domény dimeru VEGFR1 (Shibuya a Claesson-Welsh 2006). Konkrétně PLGF vyvolává fosforylaci Tyr1309, která však není zprostředkována interakcí s VEGF-A (Koch et al. 2011).

Fosforylace Tyr794 a Tyr1169 vede k fosforylaci fosfolipázy C (PLC γ) a aktivaci MAP-kinázové dráhy, která reguluje proliferaci endotelových buněk (obr. 6). Fosforylace Tyr1213 váže různé proteiny, které obsahují SH2 („Src homology 2“), kterými jsou: PLC γ , GRB (růstový faktor vazebný protein)², Nck, SHP-2 („SH2-domain-containing protein tyrosine phosphatase 2“), které iniciují aktivaci některých signálních molekul, jako jsou p38MAPK, NFAT, RACK1 a SRC, vedoucí k migraci endotelových buněk (Obr. 7). Fosforylace Tyr1213 váže také p85 podjednotku PI3K (fosfatidylinositol-3-kinázy), která je zodpovědná za zapojení signalizační dráhy PI3K/Akt (Koch et al. 2011).

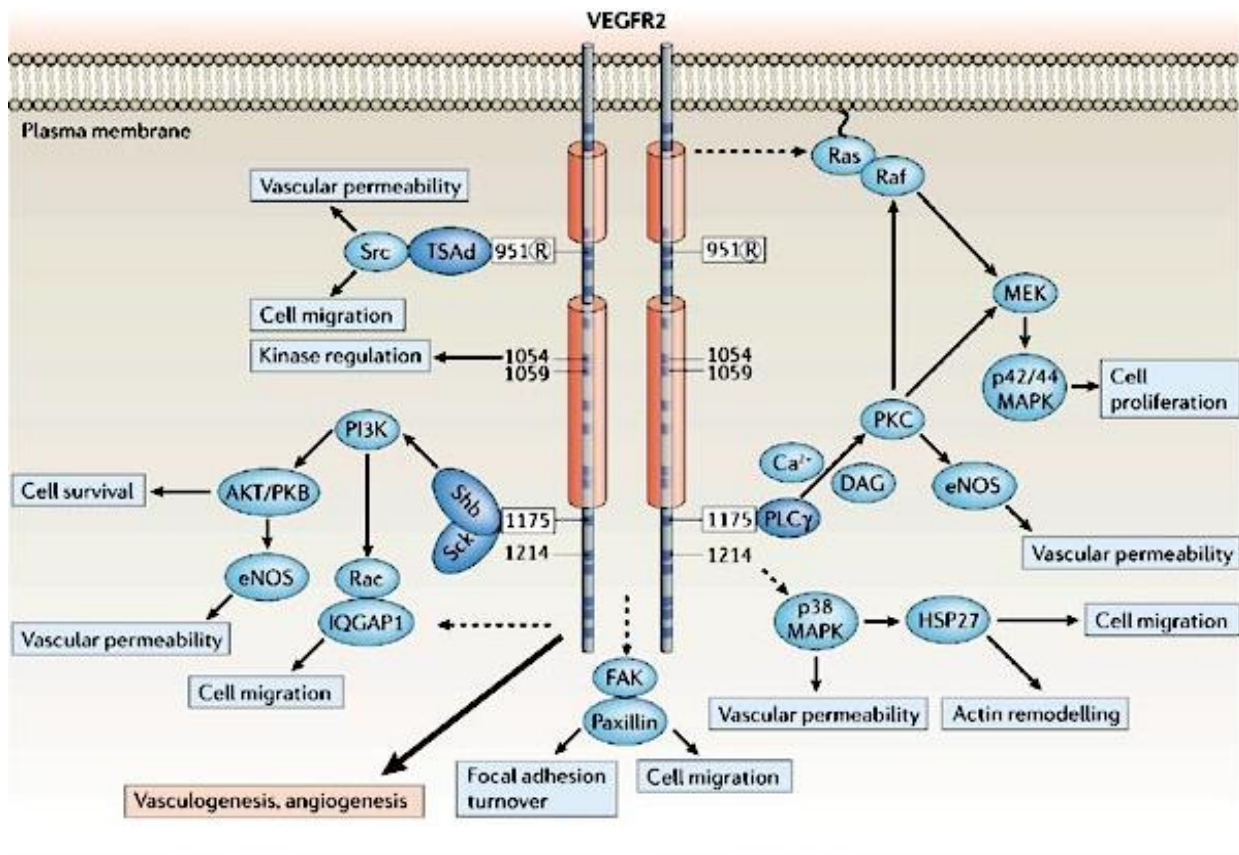


Obrázek 7 Signalizace receptoru VEGFR1. Přejato od (Koch et al. 2011).

3.1.1.2 Signalizace VEGFR2

Přenos signálu z receptoru VEGFR2 je vyvolán fosforylací Tyr951, Tyr1054, Tyr1059 Tyr1175 a Tyr1214T a Tyr1175. Fosforylovaný Tyr1175 váže PLC γ a způsobuje generaci diacylglycerolu (DAG) a zvýšení koncentrace intracelulárního vápníku, čímž aktivuje protein kinázu C (PKC). PKC vyvolává aktivaci MAPK/Erk1/2 vedoucí k proliferaci endotelových buněk. Jinou cestou aktivní PKC je stimulace Ras a následná aktivace Raf-MEK-MAP kinázové kaskády (Obr. 8) (Olsson et al. 2006). Fosforylovaný Tyr1175 váže také adaptorovou molekulu Shb, která aktivuje PI3K. PI3K následně aktivuje kinázu Akt/PKB, která přímo fosforyluje endoteliální syntázu (eNOS), čímž reguluje vaskulární propustnost. PI3K může také vést k aktivaci Rac/IQGAP1, který hraje roli v migraci endoteliálních buněk (Obr. 8) (Olsson et al. 2006).

Fosforylovaný Tyr951 váže specifický adaptor T-buněk TSAd, který vytváří komplex s Src, jehož prostřednictvím je regulována buněčná migrace a vaskulární propustnost (Obr. 8).



Obrázek 8 *Signalizace receptoru VEGFR2. Přejato od (Olsson et al. 2006).*

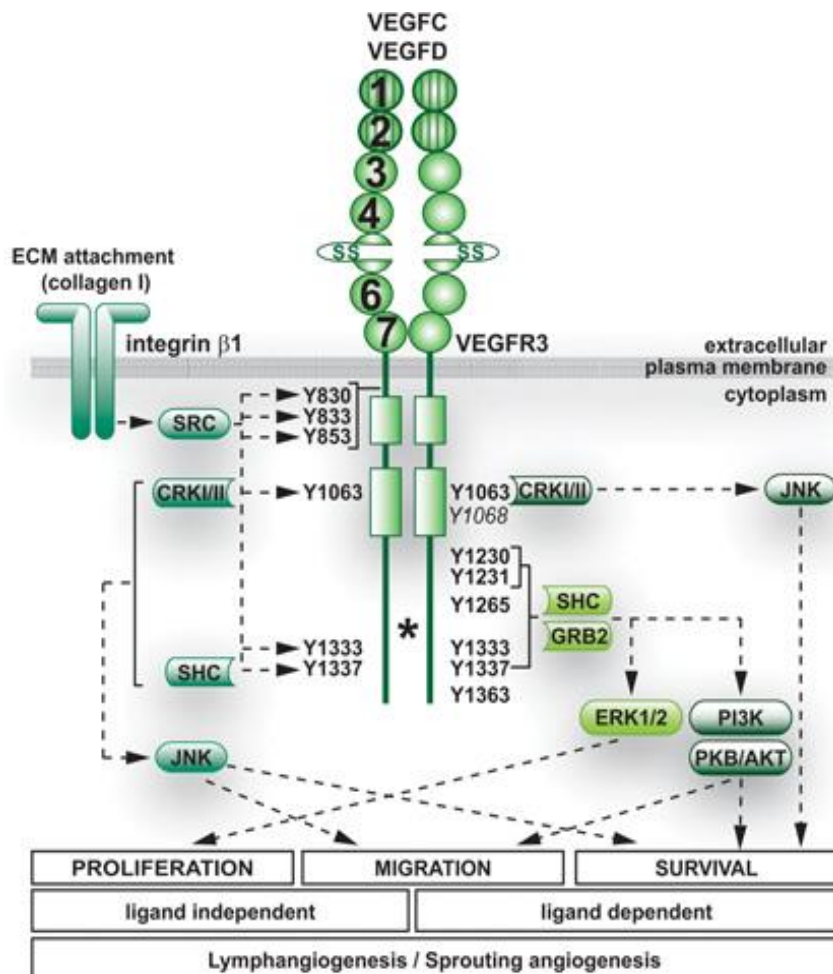
Fosforylace Tyr1214 vyvolává aktivaci p38MAPK, která reguluje vaskulární propustnost nebo může aktivovat chaperon HSP27 zprostředkovávající buněčnou migraci a aktinovou remodelaci (Obr. 8) (Olsson et al. 2006).

3.1.1.3 VEGFR3 signalizace

Bylo identifikováno několik tyrozinových zbytků v C-koncové doméně VEGFR3, jejichž fosforylace je zprostředkována signalizací receptoru. Přežití buňky je regulováno prostřednictvím fosforylace Tyr1063 přes aktivaci molekul JNK a Crk1/2. Fosforylace Tyr1337, 1230, 1231 je vyvolána vazbou SHC-GRB2, jež inklinuje k aktivaci ERK1/2 vedoucí k proliferačním signálům a zároveň aktivaci signalizační dráhy PI3K/Akt (Obr. 9) (Koch et al. 2011).

Důležitou roli v signalizaci receptoru VEGFR3 hrají integriny, neboť mohou vyvolat fosforylace, která je závislá na Src, a to na Tyr830, 833, 853, 1063, 1333 a 1337. Tato fosforylace vede k aktivaci JNK a prostřednictvím Crk1/2 a SHC vede k vyvolání proliferačních a přeživších signálů (Obr. 9) (Koch et al. 2011). Skutečnost, že fosforylace VEGFR3 může být také nezávislá na VEGFC/D

naznačuje, že blokování ligandů VEGFR3 není dostatečné k potlačení signalizace tohoto receptoru (Koch et al. 2011).



Obrázek 9 Signalizace receptoru VEGFR3. Přejato od (Koch et al. 2011).

3.1.1.4 Antiangienní terapie

Při objasňování konkrétních molekulárních mechanismů progresu nádoru vyvstala myšlenka blokovat konkrétní komponenty zásadních signálních drah a zaměřit tak při vývoji léčiv konkrétní molekulární cíle. S konceptem inhibice signalizace růstového faktoru, jako strategií protinádorové terapie, přišel poprvé začátkem sedmdesátých let Judah Folkman (Folkman 1971). Později se VEGF ligandy a receptory staly hlavním terapeutickým cílem pro antiangienní terapii. Současná terapeutika, která cílí specifické komponenty, zahrnuje dvě možnosti způsobu antiangienní inhibice. Tím, že se tyto látky vážou na VEGF ligandy znemožňují interakci s receptory. Jsou to rozpustné receptory, ribozymy, peptidy a protilátky a jejich alternativy (Ferrara et al. 2003). V klinické léčbě nádorů ledvin se na tomto principu používá bevacizumab (Ljungberg et al. 2015). Tato látka váže a tím neutralizuje všechny lidské izoformy VEGF-A (Ferrara et al. 2004). Druhou skupinou klinických léků jsou látky,

kteře fungují na principu cílené inhibice intracelulárních domén TKR (Ferrara et al. 2003). V klinice se při léčbě rakoviny ledvin používají sunitinib, sorafenib, pazopanib a axitinib (Ferrara a Adamis 2016).

Novým léčivem pro mRCC, který je další z řad inhibitorů TKR je cabozantinib. Očekávaná III. fáze klinické studie byla publikována začátkem června roku 2016. Jednalo se o srovnání cabozantinibu s everolimem u pacientů s mRCC. Na základě příznivých výsledků v této studii ve prospěch cabozantinibu (medián celkového přežití byl 21,4 měsíců oproti 15,5 na everolimem) by se mohl stát v budoucnu novou léčebnou možností pro pacienty s pokročilým mRCC (Choueiri et al. 2016).

3.2 mTOR – metabolismus

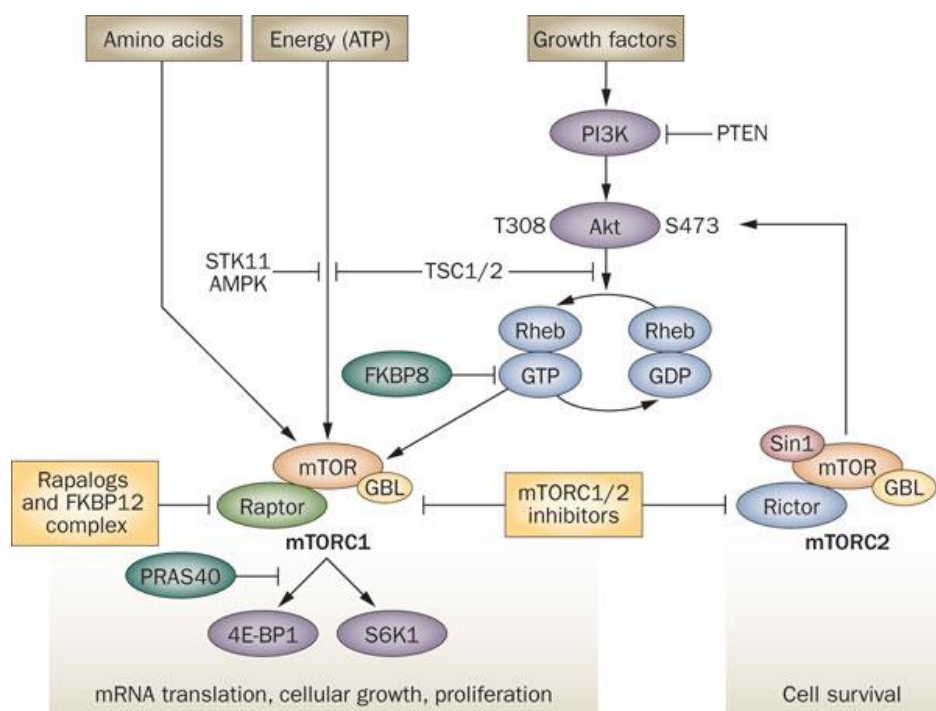
Proteinová kináza mTOR (mechanistic target of rapamycin) byla objevena začátkem devadesátých let. Jednalo se nejprve o studie účinku rapamycinu, který byl zkoumán především jako antimykotikum a následně pak pro svoje imunosupresivní a protirakovinné účinky. Další výzkumy byly věnovány signalizačním procesům, které souvisejí s mTOR. mTOR je serin threoninová kináza, která reguluje buněčný růst, ribozomální biogenezi, autofágii a metabolismus (Sabatini 2006). Aktivace mTOR je umožněna prostřednictvím ATP, aminokyselin a růstových faktorů, které aktivují signální kaskádu PI3K/Akt/mTOR (obr. 10) (Dancey 2010).

3.2.1 Dráha PI3K/Akt/mTOR

Aktivace mTOR serin threoninové kinázy probíhá nejčastěji prostřednictvím dráhy PI3K/Akt/mTOR. Nejprve dojde k aktivaci PI3K jako reakce na signál z transmembránových TKR pro růstové faktory, jako jsou TKR strukturně odvozené od EGFR, receptory fibroblastového růstového faktoru (FGFR) a receptor pro inzulinu podobný růstový faktor 1 (IGF-1R). Aktivační signály mohou být také vyvolány buněčnými adhezivními molekulami, mezi které patří integriny nebo receptory spřažené s G proteiny (GPCRs) (Polivka Jr. a Janku 2014). Aktivovaná PI3K fosforyluje fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát (PIP2) ve třetí pozici inositolového kruhu. Produktem fosforylace je fosfatidylinositol-3,4,5-trisfosfát (PIP3), který má funkci druhého posla (Engelman et al. 2006). Pomocí PIP3 a pyruvátdehydrogenázy-kinázy-1 (PDK1) probíhá aktivace protein kinázy B (Akt). V normálních buňkách je fosforylace PIP2 na PIP3 pomocí PI3K regulována fosfatázou PTEN, která defosforyluje PIP3 na PIP2 a znemožňuje tak přebytečnou aktivaci Akt. Inaktivující mutace tumor supresorového genu PTEN podporují karcinogenezi a jsou přítomné v mnoha nádorech (Polivka Jr. a Janku 2014). Další klíčovou regulační komponentou této signalizace ve zdravé buňce je protein Tsc1/Tsc2. Jedná se o heterodimer proteinů hamartinu a tuberinu, které jsou kodovány tumor supresorovými geny tuberózní sklerózy. Komplex Tsc1/Tsc2 je GAP (GTPase activating protein) GTP-vazebného proteinu Rheb. Za pomoci Tsc1/Tsc2 protein Rheb hydrolyzuje GTP na GDP a stává se neaktivní (obr. 10) (Sarbasov et al. 2005). Pokud je aktivní Akt, způsobí přímou fosforylaci Tsc2, což má za následek destabilizaci Tsc2 a narušení komplexu Tsc1/Tsc2, který ztrácí regulační funkci a aktivuje mTOR (Inoki et al. 2002).

Aktivovaná mTOR kináza fosforyluje dva zásadní proteiny, a to produkt genu *P70S6K1* a genu *4E-BP1* (obr. 10). Aktivace proteinu p70S6K1 způsobí translaci ribozomálních proteinů, elongačních faktorů a dalších nezbytných komponent umožňujících přechod buňky z G1 fáze do S fáze buněčného cyklu. Fosforylovaná 4E-BP1 kináza se uvolní z elf-4E (eukaryotického translačního faktoru) a spustí translaci (Dancey 2010).

Kináza mTOR se v savčím organismu vyskytuje jako součást dvou komplexů - mTORC1 a mTORC2 (obr. 10). mTORC1 je heterotrimerický protein, který se skládá ze tří podjednotek – katalytická podjednotka mTOR, raptor (regulator associated protein of mTOR) a GβL (G protein β-subunit-like protein) (Ilagan a Manning 2016). Raptor se váže k mTOR. Tato vazba je nezbytná pro fosforylaci 4E-BP1 *in vitro*. Další funkci vazby Raptor-mTOR je zesílení kinázové aktivity mTOR k p70S6K1 (Hara et al. 2002). Na rozdíl od mTORC1, komplex mTORC2 tvoří specifická regulační podjednotka Rictor, GβL a SIN1. mTORC2 dále fosforyluje další komponenty, například Akt, p70S6K1 nebo PKC (Ilagan a Manning 2016).



Obrázek 10 *mTOR* signalizace. Přejato od (Dancey 2010).

3.2.2 Inhibice mTORC1 komplexu prostřednictvím rapamycinu

Rapamycin (jinak též Sirolimus) je bakteriální makrolidové antibiotikum objevené na Velikonočním ostrově (Rapa-Nui), podle kterého nese své jméno. Je součástí rodiny imunosupresivních látek produkovaných bakterií *Streptomyces hygroscopicus* (Vézina et al. 1975).

Intracelulární protein z rodiny imunofilinů FKBP12 (*FKBP1A*, FK506 vazebný protein) váže rapamycin. Komplex FKBP12/rapamycin je specificky rozpoznáván doménou FRB (FKBP12-rapamycin binding domain) na mTOR kináze, která je součástí komplexu mTORC1. FRB doména

rozpoznávaná tímto komplexem je specifická pouze pro mTORC1, a proto FKBP12/rapamycin inhibuje mTOR signalizaci komplexu mTORC1, nikoliv komplexu mTORC2. FRBP12/rapamycin inhibuje mTOR signalizaci pomocí disociace proteinu raptor z mTOR a redukuje tak další raptor-závislé součásti, jako je fosforylace p70S6k a 4E-BP1 (Oshiro et al. 2004).

3.2.3 Klinická léčiva na principu inhibice mTOR

Na výše zmíněném principu inhibice mTOR kinázy jsou v současné době v léčbě mRCC registrované dvě látky-Temsirolimus a Everolimus. Rozdíly mezi nimi spočívají především ve farmakokinetických a farmakologických vlastnostech látek. Temsirolimus (CCI-779) je rozpustný ester rapamycinu a mTOR kinázu inhibuje vytvořením komplexu s FKBP12 a navázáním se do FRB podjednotky na mTOR. Nese obchodní název Torisel (Rini 2008).

Everolimus (RAD001) prodáváný pod názvem Afinitor je také derivátem rapamycinu a je funkčně a strukturně podobný Temsirolimu. Je podáván orálně na rozdíl od intravenózně podávaného temsirolimu (Motzer et al. 2008).

VEGF a mTOR signalizace, na které je práce zaměřena, nejsou zdaleka jedinými, jejichž poruchy a změna řízení vedou k progresi a vývoji nádoru. Pro pochopení molekulárních systémů a vývoj nových molekul v léčbě proti rakovině vůbec, je nezbytné komplexní porozumění specifickým souvislostem velkého množství signálních kaskád.

3.3 Vyhledky do budoucna

Nejnovejším pokrokem v léčbě rakoviny jsou léčiva, která cílí imunitní buněčné kontrolní body T-buněk, a to pomocí blokujících monoklonálních protilátek. Tyto léky zabrání spuštění inhibičních povrchových receptorů T-buněk: PD-1 (receptor programmed death-1) a CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen-4), které mají tlumící roli při nadměrné reakci imunitního systému (Pardoll 2012).

Receptor CTLA-4 je exprimován výhradně na T-lymfocytech, při jejich brzké fázi aktivace v lymfatických uzlinách. Aktivace T-lymfocytu je utlumena vazbou inhibičního receptoru CTLA-4 na CD80 a CD86 dendritických buněk. Kostimulační receptor T-lymfocytů CD28, který silně zesiluje aktivaci T-lymfocytů, váže shodné ligandy jako CTLA-4. Má však k těmto ligandům mnohem větší afinitu. Exprese CTLA-4 na povrchu T-lymfocytů vede primárně k inhibici imunitní odpovědi T-lymfocytů (Pardoll 2012).

Receptor PD-1 je exprimován na efektorových T-lymfocytech, přičemž jeho hlavní funkcí je tlumení aktivity T-lymfocytů v periferní tkáni při zánětu a omezení autoimunitní reakce (Pardoll 2012). Jedním z ligandů receptoru PD-1 je PD-L1, který může být exprimován nádorovými buňkami a imunitními buňkami infiltrovanými nádorem. Při blokování PD-1/PD-L1 interakce je tlumena inhibiční funkce receptoru a dříve existující protinádorové T-lymfocyty mohou silně obnovit svou efektorovou

funkci (Chen a Mellman 2013). Protože receptor PD-1 je kromě T-lymfocytů exprimován také na NK buňkách a B-lymfocytech, tlumení jeho funkce vede ke zvýšení aktivity NK buněk a výrobu protilátek (Pardoll 2012).

Jedinou registrovanou imunoterapií v léčbě mRCC je protilátka nivolumab, která selektivně blokuje interakci mezi PD-1 receptorem a ligandy PD-L1 a PD-L2. V létě roku 2015 vyšly výsledky z randomizované klinické studie, porovnávající nivolumab s everolimem u pacientů, jejichž nádor se v průběhu léčby stal odolným na cílenou léčbu VEGF TKI. Do studie bylo zařazeno 821 pacientů s mRCC, u kterých bylo sledováno OS a PFS, přičemž medián OS u pacientů léčených nivolumabem byl 25 měsíců oproti 19,6 měsícům u pacientů léčených everolimem. U pacientů nebyl registrován rozdíl v PFS. U pacientů, kterým byl podáván nivolumab byla zjištěna nižší toxicita, než tomu bylo u pacientů na everolimu. Pacienti, kteří vykazovali 1% a vyšší expresi nádorového PD-L1, měli horší prognózu, než pacienti s nižší expesí. PD-L1 však není prediktivním biomarkerem ukazující výhodu z léčby nivolumabem a má pouze prognostický význam. Vztah mezi expesí PD-L1 a odpovědí pacienta na léčbu je zřejmě závislý na nádorovém typu a histologické třídě. Spojitost mezi lepší odpovědí na léčbu a expesí PD-L1 byla zjištěna pouze u metastatického melanomu a jednoho typu rakoviny plic (Motzer et al. 2015).

Zatímco biologická léčba cílí konkrétní molekulární mechanismy nádorových buněk, imunoterapie spustí velké množství imunitních funkcí, které mohou zahájit komplexní imunitní odpověď. V mechanismu účinku se cílená léčba a imunoterapie značně liší.

4 Terapie mRCC

Nastavení léčebných postupů je doporučeno Evropskou urologickou asociací formou doporučených postupů – “guidelines“, které jsou veřejně dostupné lékařům i pacientům na internetu. Každý rok jsou aktualizované v anglickém jazyce a shrnují nejnovější doporučená nastavení léčby na základě aktuálních výsledků registračních studií a výzkumů (Ljungberg et al. 2015).

4.1 Validované klinické markery pro léčbu

Existuje více prognostických systémů, které odhadují stádium nemoci pacienta a podle dále specifikovaných kritérií klasifikují míru závažnosti onemocnění. Dílčí kritéria prognostických systémů jsou již validována pro klinickou praxi a jsou používána při rozhodování o léčbě nemocného pacienta (Ljungberg et al. 2015).

U renálního karcinomu se hodnotí TNM stádium, kde T („tumor“) určuje velikost nádoru a jeho šíření do okolních tkání, N („node“) popisuje šíření do sousedních mízních uzlin a M („metastases“) popisuje metastazování do dalších částí těla (Ljungberg et al. 2015).

Na principu histologického kritéria, konkrétně pozorování jader, je založen "Fuhrman Nuclear Grade". Stupnice podle Fuhrmanové je v rozmezí od jedné do čtyř, kde stupeň jedna nese nejlepší prognózu a stupeň čtyři nejhorší. Nukleární charakteristiky používané v této stupnici ukazují, jak aktivně probíhá translace v jádře. Hodnotí se velikost a tvar jádra, počet a velikost nukleol a shlukování chromatinu (Fuhrman et al. 1982).

Bylo vytvořeno několik prognostických systémů, jejichž kritéria mají na základě signifikantních korelací vliv na prognózu pacienta. Model SSIGN („Stage Size Grade Necrosis“) v hodnocení zahrnuje TNM, stupeň podle Fuhrmanové, velikost nádoru a přítomnost nádorových nekrot (Frank et al. 2002). UISS („University of California Los Angeles integrated staging systém“) zahrnuje TNM, výkonnostní stav pacienta a stupeň podle Fuhrmanové (Zisman et al. 2001). Karakiewiczův nomogram pro nefrektomii hodnotí TNM, přítomnost symptomů a stupně podle Fuhrmanové (Karakiewicz et al. 2007). Tyto systémy jsou s určitou pravděpodobností prediktorem doby přežití pacientů s renálním karcinomem.

Stěžejními používanými kritérii pro stanovení léčby mRCC jsou kritéria podle MSKCC („Memorial Sloan-Kettering Cancer Center“). Posuzují Karnofského index (udává celkový stav pacienta), zvýšení celkové koncentrace laktátdehydrogenázy v séru (LDH), koncentraci vápníku v séru, hemoglobin a čas od diagnózy do začátku léčby. Rizikovým faktorem se kritérium stává tehdy, kdy překročí stanovený předem určený limit (Tab. 1). Prognóza je buď dobrá v případě žádného rizikového faktoru, střední v případě zásahu jednoho nebo dvou rizikových faktorů a špatná za podmínky, že stádium pacientova stavu zasáhlo tři a více rizikových faktorů (Motzer et al. 2002).

Tabulka č. 1 (Motzer et al. 2002)

Karnofského index	< 80 %
LDH	> 1,5 násobek horní hranice normy
Koncentrace vápníku v séru	> 2,4 mmol/l
Hemoglobin	< dolní hranice normy
Čas od diagnózy do začátku systémové léčby	< 1 rok

V roce 2007 byla provedena klíčová studie, kde se jednalo o srovnání účinnosti temsirolimu s interferonem alfa s terapií kombinací obojího. Bylo zde vyhodnoceno ještě jedno kritérium poukazující na chudou prognózu pacienta. Jedná se o kritérium zasažení ≥ 2 míst orgánových metastáz (Hudes et al. 2007) (tab. 2). Tři a více kritérií z tohoto skórovacího systému poukazují na špatnou prognózu. Může se však stát, že pacient splňuje dvě kritéria z klasického MSKCC, ale z modifikovaného MSKCC z roku 2007 kritéria tři. To se stane v případě, že ke dvěma kritériím, které se v tabulkách shodují, splňuje pacient i nově přidané kritérium orgánových metastáz. V takové situaci by jeho prognóza mohla být vyhodnocena jako střední (podle MSKCC 2002), nebo špatná (dle MSKCC 2007). Pokud je tomu právě tak, rozhodnutí o prognóze je v pravomoci lékaře, zda podá pacientovi léky pro

střední prognózu (inhibitory TKI) nebo špatnou prognózu (inhibitory mTOR). Na tomto místě je relevantní možnost jeho vlastní volby (Büchler et al. 2015).

Tabulka č. 2 (Hudes et al. 2007)

Karnofského index	< 80 %
LDH	> 1,5 násobek horní hranice normy
Koncentrace vápníku v séru	> 2,4 mmol/l
Hemoglobin	< dolní hranice normy
Orgány postižené metastázami	≥ 2 míst orgánových metastáz
Čas od diagnózy do začátku systémové léčby	< 1 rok

4.2 Aktuální nastavení léčby podle guidelines Evropské urologické asociace

Při diagnóze mRCC je multidisciplinárním týmem lékařů zvažována nejvhodnější léčba. Chirurgické odstranění nádoru - cytoredukční nefrektomie je zvažována v případě velkého primárního nádoru a malého metastatického objemu. Naopak není doporučována při malém primárním nádoru a velkém objemu orgánových metastáz. Retrospektivní srovnávací studie ukazují na prospěch z kompletní metastazektomie z hlediska OS a oddálení systémové léčby (Ljungberg et al. 2015).

Prognóza je stanovena podle výše zmíněných prognostických systémů. V “guidelines“ je evidováno, že bylo zkoumáno několik potenciálních molekulárních biomarkerů, kterými jsou CAIX, VEGF, HIF, Ki67, p53, p21, PTEN, E-katherin, CRP, osteopontin, CD44, CXCR4 a další biomarkery proliferace a buněčného cyklu. Žádný z nich nebyl externě ověřen a nedoporučuje se jejich vyšetřování v klinické praxi. U žádného z těchto biomarkerů nebyla nalezena vyšší prediktivní hodnota, než je tomu u zavedených prognostických systémů (Ljungberg et al. 2015).

K výsledkům registračních studií lze přihlížet v případě, že byl lék schválen náležitým orgánem. Pro Evropskou Unii je to European Medicines Agency (EMA) ve spolupráci s agenturou v konkrétní zemi, kde má být lék schválen. Například ve Spojených státech amerických léky schvaluje Food and Drug Administration (FDA).

Výsledky proběhlých, momentálně probíhajících nebo přerušovaných registračních studií je možné veřejně vyhledávat v světové databázi přístupné z <https://clinicaltrials.gov/>.

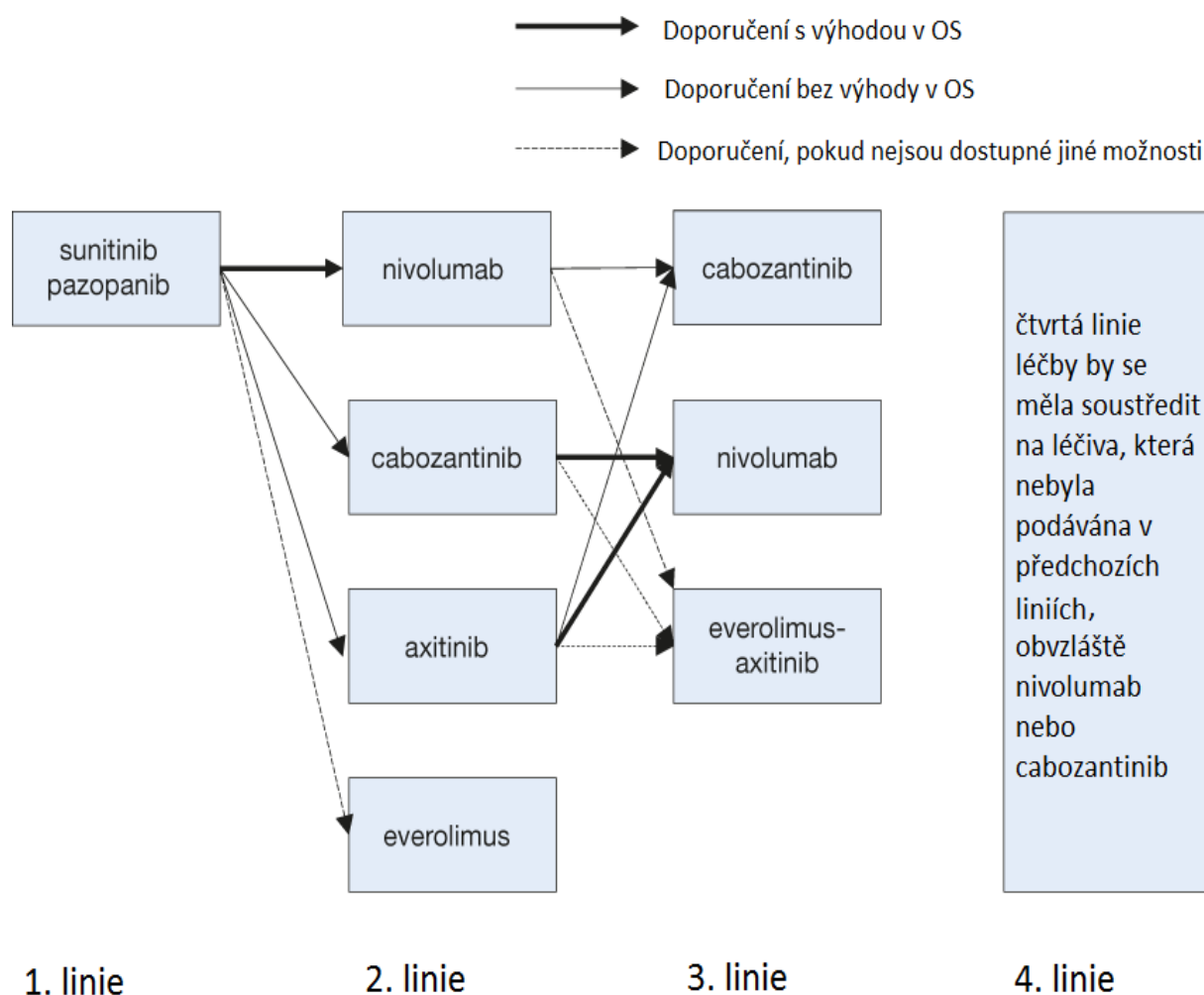
Nádory ledvin jsou specifické především svou vysokou chemorezistencí a radiorezistencí. Před nástupem éry cílených léčiv se mRCC léčila především interferonem alfa (IFN α) a interlekinem-2 (IL-2) (Ljungberg et al. 2015). Přehled cílených léčiv a jejich obchodní názvy, které se používají v léčbě mRCC dnes, jsou uvedeny v tabulce (tab. 3)

Tabulka č. 3

Název	Obchodní název	Funkce
sorafenib	Nexavar®	inhibitory TKR
sunitinib	Sutent®	
pazopanib	Votrient®	
axitinib	Inlyta®	
cabozantinib	Cabometyx®	
bevacizumab	Avastin®	protilátka – vazba a neutralizace VEGF-A
temsirolimus	Torisel®	inhibitory mTOR kinázy
everolimus	Afinitor®	
nivolumab	Opdivo®	inhibitor receptoru PD-1

Pacientovi s mRCC je nejprve stanovena příznivá, střední, nebo špatná prognóza, podle již zmíněných MSKCC kritérií. Léčba je podávána v liniích. První podávání účinných látek je první linie. Pokud pacient přestane na léčivo odpovídat a jeho nádor postupuje, přechází se na nové léčebné nastavení, a to na další léčebnou linii, která následuje. Postoupení nádoru znamená odolnost nádoru na léčbu, která tak ztratila svůj efekt. V nejnovějším nastavení je v první linii léčby pacientům s příznivou střední a chudou prognózou podáván sunitinib, nebo pazopanib. V druhé linii je doporučen nivolumab nebo cabozantinib nebo axitinib nebo sorafenib nebo everolimus. V třetí linii po selhání VEGF terapie je doporučován nivolumab nebo cabozantinib nebo everolimus. Po selhání VEGF terapie a mTOR je doporučen sorafenib. V případě předchozí léčby inhibitorů VEGF a nivolumabu je v další léčbě doporučován cabozantinib nebo axitinib nebo everolimus. Ve čtvrté linii by měla být podána léčiva, která dosud podána nebyla, zejména nivolumab nebo cabozantinib (tab. 4) (Ljungberg et al. 2015).

tabulka č. 4 Doporučení možného léčebného nastavení pro pacienty s mRCC, kteří přestali odpovídat na jednu nebo více linií VEGF cílené terapie (Ljungberg et al. 2015).

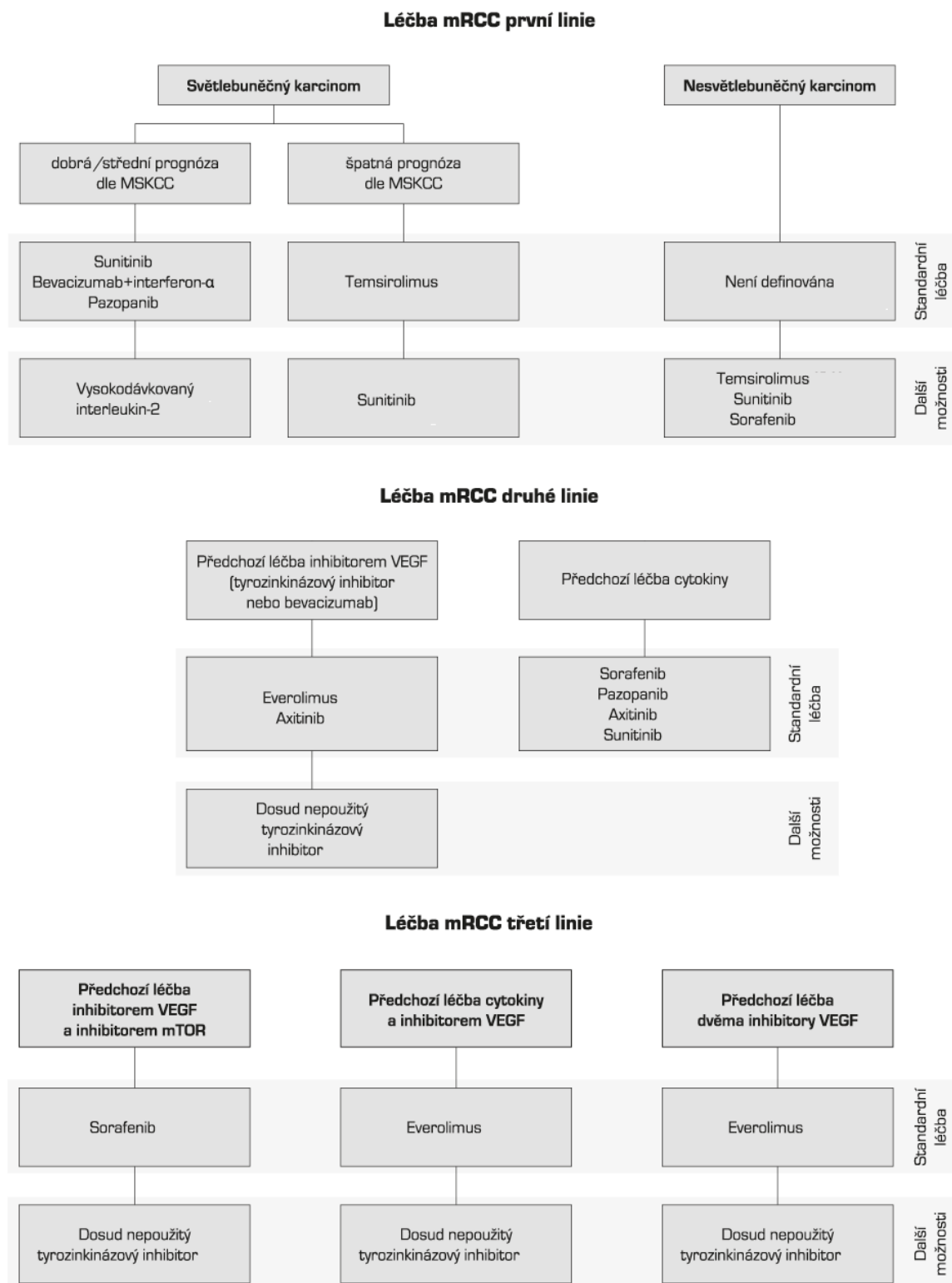


4.3 Momentální stav klinické léčby v České republice

V léčebném nastavení pro Českou republiku je pro podání léčiva nezbytná jeho registrace Státním ústavem pro kontrolu léčiv (SÚKL). Jedná se o správní orgán České republiky a ze zákona není možné podat pacientovi lék, který nebyl tímto orgánem schválen. Dalším stěžejním bodem pro možnost podání léčiva je jeho úhrada pojišťovnou. I přesto, že je lék pro pacienta vhodný, jeho úhrada je důležitá, neboť orientační cena například TKI sunitinibu se pohybuje kolem 130 657,71 Kč. Informace o dostupnosti léčiv a jejich úhradě jsou veřejně dostupné na internetových stránkách SÚKL, dostupné z <http://www.sukl.cz/>.

Relevantní léčebná nastavení pro Českou republiku jsou dostupná v Modré knize. Modrá kniha je každoročně aktualizovaný dokument, který shrnuje nejnovější možná léčebná nastavení v souladu s ustanoveními SÚKL (Büchler et al. 2015).

Tabulka č. 5 upraveno a přejato od (Büchler et al. 2015).



Aktuální léčba mRCC v České republice, která je shrnuta v následující tabulce je přejatá a upravená z Modré knihy. Je také dostupná z <http://www.linkos.cz/informace-pro-praxi/modra-kniha/21-zhoubny-novotvar-ledviny-c64/>

V České republice prozatím není v léčbě mRCC doporučen nivolumab, neboť není hrazen pojišťovnou. Evropskou registraci má od 10.4.2016 a v České republice byl podáván v rámci speciálního léčebného programu („expanded access program“), který skončil 26.4.2016. V rámci takového programu lze léčivo podat i pacientům, kteří nespĺňují kritéria pro zařazení do klinické studie, v případě že neexistuje jiná alternativa a lék by jim mohl pomoci. Cabozantinib momentálně nemá evropskou registraci.

Lékař se při léčbě renálního karcinomu řídí především doporučeními z aktualizovaných „guidelines“ a informací o schválení léčiva v České republice Státním ústavem pro kontrolu léčiv. Navíc bere v úvahu i dostupnost léčiva, přičemž hraje roli úhrada pojišťovnou nebo malá dostupnost léku, která může být omezena na podání látky pouze v rámci klinické studie. Lékař by měl vždy zvážit možnost zařazení pacienta do klinické studie.

5 Vyhlídky směrem k personalizované medicíně

5.1 Molekulární biomarkery

S vývojem cílených léčiv přichází i hledání signifikantních molekulárních biomarkerů, které by se mohly stát buď dalšími prognostickými ukazateli hodnotící stadium nemoci, nebo prediktory odpovědi na podávání specifického léčiva. Nalezení signifikantních korelací mezi některými biomarkery a odpovědi na léčbu a jejich validace pro klinickou praxi znamená posun k personalizovanému přístupu v léčbě rakoviny ledvin.

V rámci klinických studií, které probíhaly při testování biologických léčiv, bylo provedeno i molekulární mapování pacientů. Nyní existují studie zabývající se vyhodnocováním souvislostí mezi reakcí na léčiva a molekulárním profilem pacientů. Dále jsou popsány ty, které svými signifikantními výsledky přinášejí naději budoucího zkoumání a užití v klinické praxi.

5.1.1 Molekulární biomarkery a odpovědi na VEGF cílenou léčbu

Při hledání molekulárních biomarkerů byly využity klinické studie ověřující účinnost biologických léčiv, které se nyní používají v léčbě mRCC. Jedná se o mapování pacientů léčených sorafenibem, bevacizumabem, sunitinibem, pazopanibem a axitinibem.

5.1.1.1 Polymorfismy

Nejběžnějším typem změn v DNA jsou jednonukleotidové polymorfismy (SNPs), ke kterým dochází, pokud je jeden nukleotid v DNA zaměněn za jiný. Tyto změny mohou ovlivnit to, jak člověk reaguje na bakterie, viry, léky a jiné látky.

I přesto, že léčba TKI působí ve všech pacientech stejným mechanismem, odpověď na ni může být u individuálních pacientů odlišná. Příčinou těchto rozdílů jsou SNPs.

Při léčení sorafenibem nebo bevacizumabem nebo kombinací obojího, byla zjištěna signifikantní souvislost mezi vývojem toxicity a PFS i OS. Pacienti, kteří reagovali na biologika hypertenzí (HT) nebo hand-foot syndromem (HFSR), vykazovali signifikantně delší PFS i OS, než pacienti, u kterých se tahle toxicita neobjevila. Výskyt HT a HFSR byl spojen s polymorfismem rs180377 VEGFR2. U pacientů nesoucí tento polymorfismus byla frekvence zmíněné specifické toxicity téměř dvakrát vyšší. Výše zmíněné biomarkery byly zjišťovány pro rakovinu prostaty a solidní nádory. Nebyly sekundárně validovány přímo v souvislosti s mRCC (Jain et al. 2010). Ve spojitosti s odpovědí na bevacizumab byl nalezen SNP rs7993418 postihující Tyr1213 ve VEGF-1 tyrozin-kinázové doméně. Pacienti nesoucí tento polymorfismus vykazovali signifikantně chudou odpověď na léčbu bevacizumabem v PFS ($p=0,033$). Nebyla však registrována signifikantní změna v OS (Lambrechts et al. 2012).

V klinické studii AXIS, která srovnávala účinek axitinibu vs. sorafenibu ve druhé linii, byl nalezen jeden zárodečný SNP VEGFR2 – rs2071559. Nositelé specifických genotypových variant vykazovali signifikantně delší PFS a OS při odpovědi na léčbu sorafenibem. V souvislosti s odpovědí na axitinib nakonec nebyly nalezeny signifikantní polymorfismy, které by byly prognostickým nebo prediktivním faktorem léčby axitinibem ve studii AXIS (Escudier et al. 2015). Později byly nalezeny další zárodečné polymorfismy ve VEGF a VEGF2 (rs1570360 a rs2239702) spojené s PFS, nebo OS, podle specifické genotypové varianty (Qin et al. 2016).

Nejvíce diskutovaným léčivem v souvislosti s vykazováním signifikantních souvislostí mezi SNP a odpovědí na léčbu je sunitinib. Byly zkoumány SNPs v genech, které ovlivňují farmakokinetiku (ABCB1, NR1/2 a NR1/3), farmakodynamiku (VEGFR2) a proangiogenní VEGF dráhy v souvislosti s terapeutickou odpovědí na sunitinib. Byla nalezena signifikantní souvislost mezi SNP VEGF3 rs307821 a kratším PFS i OS ($p=0,011$). Jako další stěžejní polymorfismus byl identifikován rs307826 ve VEGFR3, jehož nositelé vykazovali signifikantně kratší OS ($p=0,013$). Byly nalezeny i signifikantní výsledky odpovědi na léčbu v souvislosti s ABCB1, NR1/2 a NR2/3 (Beuselinck et al. 2013). Později byla objevena statisticky významná souvislost mezi specifickými variantami polymorfismů VEGFR1 rs9582036 a rs9554320 a kratším PFS i OS (rs9582036 PFS=10 vs. 18 měsíců, $p=0,033$; OS=14 vs. 31 měsíců, $p=0,019$; rs9554320 PFS=12 vs. 21 měsíců, $p=0,0066$; OS=22 vs. 34 měsíců, $p=0,019$) (Beuselinck et al. 2014).

Farmakogenomická studie zabývající se polymorfismy a jejich vlivem na léčbu pazopanibem identifikovala dva polymorfismy rs1126647; rs4073 v Interleukinu 8 (IL-8). Signifikantní rozdíl v odpovědi na léčbu vykazovali také pacienti nesoucí polymorfismy v genech kódující receptory HIF1A, NR1/2 a VEGF-A (Xu et al. 2011). Později byly dříve zmíněné varianty v IL-8 objeveny v souvislosti s chudší prognózou při léčbě pazopanibem a sunitinibem. IL-8 má významné mitogenní a

angiogenní vlastnosti. Ve studii je diskutováno, že IL-8 zprostředkovaná angiogeneze byla u myši identifikována jako kompenzační mechanismus rezistence na sunitinib. Vystává zde myšlenka, že vysoká exprese různých forem IL-8 může být ukazatelem na více agresivní nádory, s nimiž je spojená chudší prognóza, než u těch, kteří vykazují jejich nízké expresní hladiny. IL-8 by tak mohl být zvažován jako nový terapeutický cíl ve vývoji léků právě pro tuto specifickou skupinu pacientů (Xu et al. 2015).

5.1.1.2 Inaktivace VHL

Inaktivace genu *VHL* vyvolává akumulaci transkripčního faktoru HIF a vede k nadměrné expresi cílových genů jako je VEGF, PDGF a CAIX.

V roce 2008 Choueiri et al. Publikovali studii, která zkoumala význam inaktivace genu *VHL* v odpovědi na VEGF cílenou terapii v léčbě mRCC. Bylo zde zjištěno, že pacienti, kteří měli mutace ztráty funkce („loss of function“), jako jsou posun čtecího rámce, nesmyslné mutace, delece a inserce genu *VHL*, měli signifikantně vyšší procento odezvy (response rate, dále jen RR). RR udává procento odezvy pacientů, jejichž nádor se po léčbě zmenšil nebo zmizel. RR u pacientů s mutacemi ztráty funkce bylo 52 % oproti 31 % u pacientů s divokým typem *VHL*. *VHL* genový status neměl vliv na PFS ani OS (Choueiri et al. 2008).

V jiné publikaci byl zjišťován význam *VHL* genového statusu a exprese HIF-1/2 α na léčebnou odpověď pazopanibem. Nebyly zde nalezeny žádné signifikantní výsledky (Choueiri et al. 2013). Nepodařilo se nalézt ani signifikantní souvislosti mezi *VHL* genovým statutem a léčebnou odpovědí na sorafenib (Pena et al. 2010).

VHL genový status se podle provedených analýz nezdá být vhodným prediktivním biomarkerem, který by předvídal pacientovu reakci na léčbu VEGF cílenou terapií.

5.1.1.3 Exprese karbonické anhydrázy CAIX (CA9)

Karbonická anhydráza IX (CA9) je protein, k jehož expresi dochází na membráně nádorových buněk v důsledku hypoxie, tedy za podmínek inaktivace *VHL* a zvýšené regulaci dalších proteinů zapojujících se do procesu patologické angiogeneze. Nádory ledvin, které vykazují vyšší expresní hladiny CAIX, mají signifikantně lepší prognózu, než nádory s nízkou expresní hladinou (Klatte et al. 2007).

Byla testována hypotéza, že expresní hladina CAIX může mít rozdílnou prediktivní hodnotu v závislosti na tom, který lék je pacientovi podáván. Předpokladem bylo, že pacienti budou vykazovat jinou léčebnou odpověď s vysokými oproti pacientům s nízkými hladinami exprese CAIX, při podávání sunitinibu nebo sorafenibu. Bylo zjištěno, že pacienti s vysokou expresní hladinou CAIX měli signifikantně lepší odpověď ve skupině, kde byl podáván sorafenib (Choueiri et al. 2010).

5.1.1.4 microRNA

MicroRNA (miRNA) jsou malé nekódující řetězce jednořetězcové RNA regulující posttranskripční genovou expresi. Expresní hladiny miRNA jsou změněny ve velkém množství nemocí včetně rakoviny. Jejich exprese má tak svou úlohu v iniciaci, progresi nádoru a metastázách (Kong et al. 2012).

V roce 2012 byla udělána analýza miRNA ze vzorků periferní krve pacientů léčených sunitinibem. Byl nalezen rozdílný expresní profil pro pacienty, kteří na léčivo odpovídali a těmi, kteří vykazovali rezistenci. Medián PFS ve skupině s chudou odpovědí na léčbu byl 3,5 měsíců oproti 24 měsícům. Stejně tak rezistentní pacienti vykazovali medián 8,5 měsíce v OS ve srovnání s 29,5 měsíci ve skupině odpovídajících pacientů (Gámez-Pozo et al. 2012).

Po identifikaci rozdílné exprese miRNA u pacientů s citlivou nebo rezistentní odpovědí na sunitinib byla jako nejsilnějším ukazatelem objevena miR-942. Byl popsán mechanismus, jehož prostřednictvím vysoká hladina miR-942 v mRCC buňkách zvyšuje sekreci matrixové metaloproteinázy – 9 (MMP-9) a VEGF, což způsobuje zvýšení endoteliální migrace a rezistenci na sunitinib (Prior et al. 2014). Přičemž už dříve bylo zjištěno, že MMP-9 je jednou z nezbytných součástí komponent, které se účastní na procesu vzniku a šíření metastáz (Kaplan et al. 2005). Nedávná studie prezentuje miRNA-30 jako inhibitor genu *BECN-1*, což způsobuje snížení potenciálního účinku sorafenibu (Zheng et al. 2015). Beclin-1 je centrální molekulou autofágie a zásadně se podílí na buněčné smrti (Yu et al. 2004).

5.1.1.5 Cirkulující endotelové buňky

Cirkulující endotelové buňky by mohly být potenciálním ukazatelem na farmakologickou aktivitu podávaných léčiv. Při léčení se mění hladiny CEC (cirkulujících endotelových buněk) a potenciálně i hladiny CEP (cirkulujících endotelových progenitorových buněk). Zvýšená hladina CEC je spojována s narušováním nově vznikajících cév, což by mohlo hrát důležitou roli jako časný ukazatel příznivé odpovědi na antiangiogenní léčiva. U pacientů, kteří vykazovali příznivější odpověď v PFS, bylo zjištěno signifikantní zvýšení CEC, a to ze 40 ± 44 CEC /ml na 111 ± 61 CEC/ml. U pacientů se slabou odpovědí v PFS nebylo zaznamenáno signifikantní zvýšení hladiny CEC. (Gruenwald et al. 2010).

5.1.1.6 Sérová hladina cytokinů a angiogenních faktorů

V roce 2012 byly identifikované plazmatické biomarkery, jejichž koncentrace v plazmě větší než medián, měla statisticky významnou souvislost s kratším PFS při léčbě pazopanibem. Tyto konkrétní plazmatické biomarkery IL- 8 ($p=0,006$), osteopontin ($p=0,0004$), hepatocytární růstový faktor (HGF) ($p=0,010$) a tkáňový inhibitor metaloproteinázy 1 (TIMP-1) ($p=0,006$) mají velký potenciál jako ukazatel predikce při léčbě pazopanibem. Ve skupině dostávající placebo byly vysoké koncentrace interleukin 6 (IL-6) ($p<0,0001$), IL-8 ($p=0,002$), osteopontin ($p<0,0001$) prognosticky

asociovány s kratším PFS. Jediný potenciální prediktivní biomarker pro léčbu pazopanibem byl IL-6 ($p < 0,0001$), protože jeho vysoká koncentrace byla asociována s delším PFS při podávání pazopanibu (Tran et al. 2012). Později byla identifikována nižší hladina angiopoetinu-2 a vyšší hladina matrixové metallopoteinázy-2 (MMP-2) jako biomarker celkově příznivé odpovědi (Motzer et al. 2014).

5.1.2 Molekulární biomarkery a odpovědi na léčbu mTOR inhibitory

Pro nalezení prediktorů po odpovědi na léčbu mTOR inhibitory nebylo dosud publikováno velké množství studií. Předpokládá se, že nadměrná exprese dílčích komponent dráhy PI3K/Akt/mTOR by mohla být profilem příznivé odpovědi na léčbu látkami odvozených od rapamycinu.

Ve studii publikované v roce 2007 bylo upozorněno na možnou souvislost mezi zvýšenou expresí fosforylované S6K a Akt a lepší odpovědí na léčbu temsirolimem. Studie však byla provedena pouze na dvaceti pacientech a pro spolehlivější výsledky je potřeba navazujícího výzkumu (Cho et al. 2007).

Dále byl zkoumán prediktivní význam PTEN a HIF1 α na léčbu temsirolimem. Nebyly zde zjištěny žádné signifikantní výsledky (Figlin et al. 2009).

V roce 2012 byla zjišťována prediktivní hodnota LDH jako prediktivního biomarkeru při léčbě temsirolimem. U pacientů s LDH vyšší, než je horní hranice normy bylo pozorováno signifikantní zlepšení v OS při léčbě temsirolimem. Medián OS byl 6,9 měsíců oproti 4,2 měsícům ($p < 0,002$) (Armstrong et al. 2012).

I přesto že současný výzkum se zbývá především hledáním signifikantních biomarkerů predikujících léčebnou odpověď, jejich validace v praxi je problematická a jsou zde překážky, které se týkají oblastí i mimo samotný proces vědeckého výzkumu. Zahrnují především nákladnost a zdoluhavost celého procesu. Rovněž zahrnují zájem výrobce léku o propojení s firmou molekulární diagnostiky. A v neposlední řadě je nezbytná také spolupráce při výzkumu biomarkerů a klinického testování léčiv, které jsou na sobě závislé a jejich pokrok je paralelní. Komplexní problematiku biomarkerů popisuje rešerše (Sawyers 2008).

6 Závěr

Práce seznamuje s onemocněním renálního karcinomu, přibližuje situaci v klinické praxi při onemocnění a poskytuje informaci o nejnovějším směřování výzkumu v této oblasti.

Jsou zde popsány molekulární dráhy VEGF signalizace a PI3K/Akt/mTOR signální kaskády, které mají zásadní úlohu ve vývoji a postupování nádoru. Inhibice těchto molekulárních mechanismů je terapeutickým cílem současné cílené klinické léčby mRCC. V navazujícím výzkumu je nezbytné podrobně popsat další molekulární dráhy a nalézt komplexní propojení signálních kaskád. Tyto poznatky jsou důležité pro objevení nových potenciálních terapeutických cílů v léčbě mRCC.

MRCC je současně léčen cílenou léčbou prostřednictvím TKI a inhibitorů mTOR kinázy. Přesto, že je cílená léčba velkým pokrokem v léčbě mRCC, pacienti nemají trvalou odpověď. Nově přicházející imunoterapie přináší lepší výsledky, které by mohly v budoucnosti vést k jejímu dominantnímu terapeutickému nastavení při léčbě mRCC.

V klinické praxi dosud nebyly ověřeny žádné molekulární biomarkery, které by pacients na základě jeho podrobné diagnostiky směřovaly k vhodné léčbě. V současném výzkumu je vyžadováno zkoumání podrobné molekulární patologie v souvislosti s charakteristikou a průběhem onemocnění.

Vědecké výzkumy usilující o lepší stratifikaci pacientů se zabývají analýzou molekulárních biomarkerů z dat klinických studií, které by predikovaly pacientovu odpověď na specifickou léčbu. Ačkoli výzkum cílené VEGF terapie zahrnila velká vlna studií hledajících signifikantní molekulární biomarkery, momentální výzkumy jsou spíše pilotní a teprve naznačují souvislosti s léčebnou odpovědí. Problematikou v publikovaných studiích je především populační nesourodost vzorku, čímž je znemožněna homogennější stratifikace vzorku z důvodu randomizace. Další intenzivní výzkum a následné ověření biomarkerů v klinické praxi jsou nezbytné pro posun standardní léčby k personalizované.

7 Seznam použité literatury

ARMSTRONG, Andrew J., Daniel J. GEORGE a Susan HALABI, 2012. Serum Lactate Dehydrogenase Predicts for Overall Survival Benefit in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma Treated With Inhibition of Mammalian Target of Rapamycin. *Journal of Clinical Oncology* [online]. 20. 9., roč. 30, č. 27, s. 3402–3407. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2011.40.9631

BERGSTRÖM, A, C-C HSIEH, P LINDBLAD, C-M LU, N R COOK a A WOLK, 2001. Obesity and renal cell cancer – a quantitative review. *British Journal of Cancer* [online]. 9., roč. 85, č. 7, s. 984–990. ISSN 0007-0920. Dostupné z: doi:10.1054/bjoc.2001.2040

BEUSELINCK, Benoit, Alexandra KARADIMOU, Diether LAMBRECHTS, Bart CLAES, Pascal WOLTER, Gabrielle COUCHY, Joost BERKERS, Hendrik VAN POPPEL, Robert PARIDAENS, Patrick SCHÖFFSKI, Arnaud MÉJEAN, Virginie VERKARRE, Evelyne LERUT, Florence JOLY, Thierry LEBRET, Gwénaelle GRAVIS, Gael DEPLANQUE, Aurélien DESCAZEAUD, Nathalie Rioux LECLERCQ, Vincent MOLINIÉ, Jean-Jacques PATARD, Corine TEGHOM, Reza ELAIDI, Jessica ZUCMAN-ROSSI a Stéphane OUDARD, 2014. VEGFR1 single nucleotide polymorphisms associated with outcome in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib - a multicentric retrospective analysis. *Acta Oncologica (Stockholm, Sweden)* [online]. 1., roč. 53, č. 1, s. 103–112. ISSN 1651-226X. Dostupné z: doi:10.3109/0284186X.2013.770600

BEUSELINCK, B., A. KARADIMOU, D. LAMBRECHTS, B. CLAES, P. WOLTER, G. COUCHY, J. BERKERS, R. PARIDAENS, P. SCHÖFFSKI, A. MÉJEAN, V. VERKARRE, E. LERUT, A. DE LA TAILLE, J.-M. TOURANI, P. BIGOT, C. LINASSIER, S. NÉGRIER, J. BERGER, J.-J. PATARD, J. ZUCMAN-ROSSI a S. OUDARD, 2013. Single-nucleotide polymorphisms associated with outcome in metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib. *British Journal of Cancer* [online]. 5. 3., roč. 108, č. 4, s. 887–900. ISSN 0007-0920. Dostupné z: doi:10.1038/bjc.2012.548

BÜCHLER, Tomáš, Jitka ABRAHÁMOVÁ, Jindřich FÍNEK, Jaroslav HÁJEK, Patra HOLEČOVÁ, Ivo KOCÁK, Kateřina KUBÁČKOVÁ, Radek LAKOMÝ, Bohuslav MELICHAR, Luboš

PETRUŽELKA, Alexandr POPRACH, Jana PRAUSOVÁ, Igor PUZANOV, Hana ŠIFFNEROVÁ, Hana ŠTUDENTOVÁ, Jiří TOMÁŠEK a Milada ZEMANOVÁ, 2015. Modrá kniha » Linkos.cz. *Linkos.cz* [online] [vid. 2016-08-04]. Dostupné z: <http://www.linkos.cz/informace-pro-praxi/modra-kniha/21-zhoubny-novotvar-ledviny-c64/>

BÜCHLER, Tomáš, L. DUŠEK, J. FÍNEK, A. POPRACH, D. BUŇÁKOVÁ, V. KADRNAL, J. JARKOVSKÝ, Z. BORTLÍČEK, D. KLIMĚŠ, J. ABRAHÁMOVÁ a R. VYZULA, 2011. Výsledky terapie metastatického renálního karcinomu lékem everolimus – analýza údajů z klinického registru RENIS [online]. roč. 24, č. 5. ISSN 1802-5307. Dostupné z: http://www.klinickaonkologie.cz/images/stories/KO_2011/KO_2011-05/PDF/KO_2011-05_Buchler.pdf

CREIGHTON, Chad J., Margaret MORGAN, Preethi H. GUNARATNE, David A. WHEELER, Richard A. GIBBS, A. Gordon ROBERTSON, Andy CHU, Rameen BEROUKHIM, Kristian CIBULSKIS, Sabina SIGNORETTI, Fabio VANDIN, Hsin-Ta WU, Benjamin J. RAPHAEL, Roel G. W. VERHAAK, Pheroze TAMBOLI, Wandaliz TORRES-GARCIA, Rehan AKBANI, John N. WEINSTEIN, Victor REUTER a Christopher J. RICKETTS, 2013. Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma. *Nature* [online]. roč. 499, č. 7456, s. 43–49. ISSN 0028-0836. Dostupné z: [doi:10.1038/nature12222](https://doi.org/10.1038/nature12222)

DANCEY, Janet, 2010. mTOR signaling and drug development in cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology* [online]. 4., roč. 7, č. 4, s. 209–219. ISSN 1759-4774. Dostupné z: [doi:10.1038/nrclinonc.2010.21](https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2010.21)

ENGELMAN, Jeffrey A., Ji LUO a Lewis C. CANTLEY, 2006. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nature Reviews Genetics* [online]. 8., roč. 7, č. 8, s. 606–619. ISSN 1471-0056. Dostupné z: [doi:10.1038/nrg1879](https://doi.org/10.1038/nrg1879)

ESCUDIER, Bernard, Brian I. RINI, Robert J. MOTZER, Jamal TARAZI, Sinil KIM, Xin HUANG, Brad ROSBROOK, Patricia A. ENGLISH, A. Katrina LOOMIS a J. Andrew WILLIAMS, 2015. Genotype Correlations With Blood Pressure and Efficacy From a Randomized Phase III Trial of Second-Line Axitinib Versus Sorafenib in Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Clinical Genitourinary Cancer* [online]. roč. 13, č. 4, s. 328–337.e3. ISSN 1558-7673. Dostupné z: [doi:10.1016/j.clgc.2015.02.007](https://doi.org/10.1016/j.clgc.2015.02.007)

FERLAY, J., E. STELIAROVA-FOUCHER, J. LORTET-TIEULENT, S. ROSSO, J. W. W. COEBERGH, H. COMBER, D. FORMAN a F. BRAY, 2013. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012. *European Journal of Cancer* [online]. 4., roč. 49, č. 6, s. 1374–1403. ISSN 0959-8049. Dostupné z: [doi:10.1016/j.ejca.2012.12.027](https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.12.027)

FERRARA, Napoleone a Anthony P. ADAMIS, 2016. Ten years of anti-vascular endothelial growth factor therapy. *Nature Reviews Drug Discovery* [online]. 18. 1., roč. 15, č. 6, s. 385–403. ISSN 1474-1776, 1474-1784. Dostupné z: [doi:10.1038/nrd.2015.17](https://doi.org/10.1038/nrd.2015.17)

FERRARA, Napoleone, Hans-Peter GERBER a Jennifer LECOUTER, 2003. The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine* [online]. 6., roč. 9, č. 6, s. 669–676. ISSN 1078-8956. Dostupné z: [doi:10.1038/nm0603-669](https://doi.org/10.1038/nm0603-669)

FERRARA, Napoleone, Kenneth J. HILLAN, Hans-Peter GERBER a William NOVOTNY, 2004. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nature Reviews Drug Discovery* [online]. 5., roč. 3, č. 5, s. 391–400. ISSN 1474-1776. Dostupné z: [doi:10.1038/nrd1381](https://doi.org/10.1038/nrd1381)

FIGLIN, Robert A., Paul DE SOUZA, David MCDERMOTT, Janice P. DUTCHER, Anna BERKENBLIT, Alexandra THIELE, Mizue KRYGOWSKI, Andrew STRAHS, Jay FEINGOLD, Joseph BONI a Gary HUDES, 2009. Analysis of PTEN and HIF-1 α and correlation with efficacy in

patients with advanced renal cell carcinoma treated with temsirolimus versus interferon- α . *Cancer* [online]. 15. 8., roč. 115, č. 16, s. 3651–3660. ISSN 1097-0142. Dostupné z: doi:10.1002/cncr.24438

FOLKMAN, J., 1971. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *The New England Journal of Medicine* [online]. 18. 11., roč. 285, č. 21, s. 1182–1186. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM197111182852108

FRANK, Igor, Michael L. BLUTE, John C. CHEVILLE, Christine M. LOHSE, Amy L. WEAVER a Horst ZINCKE, 2002. An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score. *The Journal of Urology* [online]. 12., roč. 168, č. 6, s. 2395–2400. ISSN 0022-5347. Dostupné z: doi:10.1097/01.ju.0000035885.91935.d5

FUHRMAN, S. A., L. C. LASKY a C. LIMAS, 1982. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology*. 10., roč. 6, č. 7, s. 655–663. ISSN 0147-5185.

GÁMEZ-POZO, Angelo, Luis M. ANTÓN-APARICIO, Cristina BAYONA, Pablo BORREGA, María I. GALLEGOS SANCHO, Rocío GARCÍA-DOMÍNGUEZ, Teresa DE PORTUGAL, Manuel RAMOS-VÁZQUEZ, Ramón PÉREZ-CARRIÓN, María V. BOLÓS, Rosario MADERO, Iker SÁNCHEZ-NAVARRO, Juan A. FRESNO VARA a Enrique Espinosa ARRANZ, 2012. MicroRNA Expression Profiling of Peripheral Blood Samples Predicts Resistance to First-line Sunitinib in Advanced Renal Cell Carcinoma Patients. *Neoplasia* [online]. 12., roč. 14, č. 12, s. 1144–IN14. ISSN 1476-5586. Dostupné z: doi:10.1593/neo.12734

GARCIA-DONAS, Jesus, Juan Francisco RODRIGUEZ-MORENO, Nuria ROMERO-LAORDEN a Cristina RODRIGUEZ-ANTONA, 2015. Renal carcinoma pharmacogenomics and predictors of response: Steps toward treatment individualization. *Urologic Oncology* [online]. 4., roč. 33, č. 4, s. 179–186. ISSN 1873-2496. Dostupné z: doi:10.1016/j.urolonc.2013.09.015

GOEL, Hira Lal a Arthur M. MERCURIO, 2013. VEGF targets the tumour cell. *Nature Reviews Cancer* [online]. roč. 13, č. 12, s. 871–882. ISSN 1474-175X. Dostupné z: doi:10.1038/nrc3627

GOSSAGE, Lucy, Tim EISEN a Eamonn R. MAHER, 2015. VHL, the story of a tumour suppressor gene. *Nature Reviews Cancer* [online]. 1., roč. 15, č. 1, s. 55–64. ISSN 1474-175X. Dostupné z: doi:10.1038/nrc3844

GRUENWALD, Viktor, Gernot BEUTEL, Susanne SCHUCH-JANTSCH, Christoph REUTER, Philipp IVANYI, Arnold GANSER a Marion HAUBITZ, 2010. Circulating endothelial cells are an early predictor in renal cell carcinoma for tumor response to sunitinib. *BMC Cancer* [online]. roč. 10, s. 695. ISSN 1471-2407. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2407-10-695

HANAHAN, Douglas a Robert A. WEINBERG, 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* [online]. roč. 144, č. 5, s. 646–674. ISSN 0092-8674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2011.02.013

HARA, Kenta, Yoshiko MARUKI, Xiaomeng LONG, Ken-ichi YOSHINO, Noriko OSHIRO, Sujuti HIDAYAT, Chiharu TOKUNAGA, Joseph AVRUCH a Kazuyoshi YONEZAWA, 2002. Raptor, a Binding Partner of Target of Rapamycin (TOR), Mediates TOR Action. *Cell* [online]. 26. 7., roč. 110, č. 2, s. 177–189. ISSN 0092-8674. Dostupné z: doi:10.1016/S0092-8674(02)00833-4

HUDES, Gary, Michael CARDUCCI, Piotr TOMCZAK, Janice DUTCHER, Robert FIGLIN, Anil KAPOOR, Elzbieta STAROSLAWSKA, Jeffrey SOSMAN, David MCDERMOTT, István BODROGI, Zoran KOVACEVIC, Vladimir LESOVOY, Ingo G. H. SCHMIDT-WOLF, Olga BARBARASH, Erhan GOKMEN, Timothy O'TOOLE, Stephanie LUSTGARTEN, Laurence MOORE, Robert J. MOTZER a GLOBAL ARCC TRIAL, 2007. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-

cell carcinoma. *The New England Journal of Medicine* [online]. 31. 5., roč. 356, č. 22, s. 2271–2281. ISSN 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa066838

HUNT, Jay D., Olga L. VAN DER HEL, Garnett P. MCMILLAN, Paolo BOFFETTA a Paul BRENNAN, 2005. Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: Meta-analysis of 24 studies. *International Journal of Cancer* [online]. 10. 3., roč. 114, č. 1, s. 101–108. ISSN 1097-0215. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.20618

CHEN, Daniel S. a Ira MELLMAN, 2013. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* [online]. 25. 7., roč. 39, č. 1, s. 1–10. ISSN 1097-4180. Dostupné z: doi:10.1016/j.immuni.2013.07.012

CHO, Daniel, Sabina SIGNORETTI, Sandra DABORA, Meredith REGAN, Apryle SEELEY, Mauro MARIOTTI, Amanda YOUMANS, Adam POLIVY, Lucy MANDATO, David MCDERMOTT, Eric STANBRIDGE a Michael ATKINS, 2007. Potential histologic and molecular predictors of response to temsirolimus in patients with advanced renal cell carcinoma. *Clinical Genitourinary Cancer* [online]. 9., roč. 5, č. 6, s. 379–385. ISSN 1558-7673. Dostupné z: doi:10.3816/CGC.2007.n.020

CHOUERI, Toni K., Bernard ESCUDIER, Thomas POWLES, Nizar M TANNIR, Paul N MAINWARING, Brian I RINI, Hans J HAMMERS, Frede DONSKOV, Bruce J ROTH, Katriina PELTOLA, Jae Lyun LEE, Daniel Y C HENG, Manuela SCHMIDINGER, Neeraj AGARWAL, Cora N STERNBERG, David F MCDERMOTT, Dana T AFTAB, Colin HESSEL, Christian SCHEFFOLD, Gisela SCHWAB, Thomas E HUTSON, Sumanta PAL a Robert J MOTZER, 2016. Cabozantinib versus everolimus in advanced renal cell carcinoma (METEOR): final results from a randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncology* [online]. 6. [vid. 2016-06-12]. ISSN 14702045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(16)30107-3

CHOUERI, Toni K., André P. FAY, Robert GAGNON, Ying LIN, Brittany BAHAMON, Victoria BROWN, Jonathan E. ROSENBERG, Thomas E. HUTSON, Katherine L. BAKER-NEBLETT, Christopher CARPENTER, Yuan LIU, Lini PANDITE a Sabina SIGNORETTI, 2013. The role of aberrant VHL/HIF pathway elements in predicting clinical outcome to pazopanib therapy in patients with metastatic clear-cell renal cell carcinoma. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* [online]. 15. 9., roč. 19, č. 18, s. 5218–5226. ISSN 1078-0432. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-0491

CHOUERI, Toni K., Meredith M. REGAN, Jonathan E. ROSENBERG, William K. OH, Jessica CLEMENT, Angela M. AMATO, David MCDERMOTT, Daniel C. CHO, Michael B. ATKINS a Sabina SIGNORETTI, 2010. Carbonic anhydrase IX and pathological features as predictors of outcome in patients with metastatic clear-cell renal cell carcinoma receiving vascular endothelial growth factor-targeted therapy. *BJU international* [online]. 9., roč. 106, č. 6, s. 772–778. ISSN 1464-410X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1464-410X.2010.09218.x

CHOUERI, Toni K., Susan A. J. VAZIRI, Erich JAEGER, Paul ELSON, Laura WOOD, Ish Prasad BHALLA, Eric J. SMALL, Vivian WEINBERG, Nancy SEIN, Jeff SIMKO, Ali-Reza GOLSHAYAN, Linda SERCIA, Ming ZHOU, Frederic M. WALDMAN, Brian I. RINI, Ronald M. BUKOWSKI a Ram GANAPATHI, 2008. von Hippel-Lindau Gene Status and Response to Vascular Endothelial Growth Factor Targeted Therapy for Metastatic Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *The Journal of Urology* [online]. 9., roč. 180, č. 3, s. 860–866. ISSN 0022-5347. Dostupné z: doi:10.1016/j.juro.2008.05.015

ILAGAN, Erika a Brendan D. MANNING, 2016. Emerging Role of mTOR in the Response to Cancer Therapeutics. *Trends in Cancer* [online]. 5., roč. 2, č. 5, s. 241–251. ISSN 2405-8033. Dostupné z: doi:10.1016/j.trecan.2016.03.008

INOKI, Ken, Yong LI, Tianquan ZHU, Jun WU a Kun-Liang GUAN, 2002. TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nature Cell Biology* [online]. 9., roč. 4, č. 9, s. 648–657. ISSN 1465-7392. Dostupné z: doi:10.1038/ncb839

JAIN, Lokesh, Tristan M. SISSUNG, Romano DANESI, Elise C. KOHN, William L. DAHUT, Shivaani KUMMAR, David VENZON, David LIEWEHR, Bevin C. ENGLISH, Caitlin E. BAUM, Robert YARCHOAN, Giuseppe GIACCONE, Jürgen VENITZ, Douglas K. PRICE a William D. FIGG, 2010. Hypertension and hand-foot skin reactions related to VEGFR2 genotype and improved clinical outcome following bevacizumab and sorafenib. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* [online]. roč. 29, s. 95. ISSN 1756-9966. Dostupné z: doi:10.1186/1756-9966-29-95

KAELIN JR, William G., 2008. The von Hippel–Lindau tumour suppressor protein: O₂ sensing and cancer. *Nature Reviews Cancer* [online]. 11., roč. 8, č. 11, s. 865–873. ISSN 1474-175X. Dostupné z: doi:10.1038/nrc2502

KAPLAN, Rosandra N., Rebecca D. RIBA, Stergios ZACHAROULIS, Anna H. BRAMLEY, Loïc VINCENT, Carla COSTA, Daniel D. MACDONALD, David K. JIN, Koji SHIDO, Scott A. KERNS, Zhenping ZHU, Daniel HICKLIN, Yan WU, Jeffrey L. PORT, Nasser ALTORKI, Elisa R. PORT, Davide RUGGERO, Sergey V. SHMELKOV, Kristian K. JENSEN, Shahin RAFII a David LYDEN, 2005. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature* [online]. 8. 12., roč. 438, č. 7069, s. 820–827. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature04186

KARAKIEWICZ, Pierre I., Alberto BRIGANTI, Felix K.-H. CHUN, Quoc-Dien TRINH, Paul PERROTTE, Vincenzo FICARRA, Luca CINDOLO, Alexandre DE LA TAILLE, Jacques TOSTAIN, Peter F. A. MULDER, Laurent SALOMON, Richard ZIGEUNER, Tommaso PRAYER-GALETTI, Denis CHAUTARD, Antoine VALERI, Eric LECHEVALLIER, Jean-Luc DESCOTES, Herve LANG, Arnaud MEJEAN a Jean-Jacques PATARD, 2007. Multi-institutional validation of a new renal cancer-specific survival nomogram. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* [online]. 10. 4., roč. 25, č. 11, s. 1316–1322. ISSN 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2006.06.1218

KLATTE, T., N. ZOMORODIAN, F. F. KABBINAVAR, A. S. BELLDEGRUN a A. J. PANTUCK, 2007. Prospective evaluation of carbonic anhydrase IX (CAIX) as a molecular marker in metastatic renal cell carcinoma. *ASCO Meeting Abstracts*. 20. 6., roč. 25, č. 18_suppl, s. 5112.

KOCH, Sina, Sònia TUGUES, Xiujuan LI, Laura GUALANDI a Lena CLAEISSON-WELSH, 2011. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Biochemical Journal* [online]. 15. 7., roč. 437, č. 2, s. 169–183. ISSN 0264-6021, 1470-8728. Dostupné z: doi:10.1042/BJ20110301

KONG, Yi W., David FERLAND-MCCOLLOUGH, Thomas J. JACKSON a Martin BUSHHELL, 2012. microRNAs in cancer management. *The Lancet. Oncology* [online]. 6., roč. 13, č. 6, s. e249–258. ISSN 1474-5488. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(12)70073-6

LAMBRECHTS, Diether, Bart CLAES, Paul DELMAR, Joke REUMERS, Massimiliano MAZZONE, Betül T YESILYURT, Roland DEVLIEGER, Chris VERSLYPE, Sabine TEJPAN, Hans WILDIERS, Sanne DE HAAS, Peter CARMELIET, Stefan J SCHERER a Eric VAN CUTSEM, 2012. VEGF pathway genetic variants as biomarkers of treatment outcome with bevacizumab: an analysis of data from the AVITA and AVOREN randomised trials. *The Lancet Oncology* [online]. 7., roč. 13, č. 7, s. 724–733. ISSN 1470-2045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(12)70231-0

LJUNGBERG, B., BENSALAH, K., BEX, A., CANFIELD, S., GILES, R.H., HORA, M., KUCZYK, M.A., LAM, T., MERSEBURGER, A.S., POWLES, T., STAEHLER, M. a VOLPE, A., 2015. Renal Cell Carcinoma. *uroweb.org* [online]. Dostupné z: <https://uroweb.org/guideline/renal-cell-carcinoma/>

MELKONIAN, Stephanie C., Carrie R. DANIEL, Yuanqing YE, Nizar M. TANNIR, Jose A. KARAM, Surena F. MATIN, Christopher G. WOOD a Xifeng WU, 2016. Gene-environment interaction of genome-wide association study-identified susceptibility loci and meat-cooking mutagens in the etiology of renal cell carcinoma. *Cancer* [online]. 1. 1., roč. 122, č. 1, s. 108–115. ISSN 1097-0142. Dostupné z: doi:10.1002/cncr.29543

MICKLEY, Amanda, Olga KOVALEVA, Julia KZHYSHKOWSKA a Alexei GRATCHEV, 2015. Molecular and immunologic markers of kidney cancer-potential applications in predictive, preventive and personalized medicine. *The EPMA journal* [online]. roč. 6, s. 20. ISSN 1878-5077. Dostupné z: doi:10.1186/s13167-015-0042-2

MOCH, H., P.A. HUMPHREY, T.M. ULBRIGHT a V.E. REUTER, 2016. *WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*. 4. vyd. B.m.: WHO. ISBN 978-92-832-2437-2.

MOTZER, Robert J., Jennifer BACIK, Barbara A. MURPHY, Paul RUSSO a Madhu MAZUMDAR, 2002. Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1. 1., roč. 20, č. 1, s. 289–296. ISSN 0732-183X.

MOTZER, Robert J., Bernard ESCUDIER, David F. MCDERMOTT, Saby GEORGE, Hans J. HAMMERS, Sandhya SRINIVAS, Scott S. TYKODI, Jeffrey A. SOSMAN, Giuseppe PROCOPIO, Elizabeth R. PLIMACK, Daniel CASTELLANO, Toni K. CHOUERI, Howard GURNEY, Frede DONSKOV, Petri BONO, John WAGSTAFF, Thomas C. GAULER, Takeshi UEDA, Yoshihiko TOMITA, Fabio A. SCHUTZ, Christian KOLLMANNNSBERGER, James LARKIN, Alain RAVAUD, Jason S. SIMON, Li-An XU, Ian M. WAXMAN a Padmanee SHARMA, 2015. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *New England Journal of Medicine* [online]. 5. 11., roč. 373, č. 19, s. 1803–1813. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa1510665

MOTZER, Robert J., Bernard ESCUDIER, Stéphane OUDARD, Thomas E. HUTSON, Camillo PORTA, Sergio BRACARDA, Viktor GRÜNWARD, John A. THOMPSON, Robert A. FIGLIN, Norbert HOLLAENDER, Gladys URBANOWITZ, William J. BERG, Andrea KAY, David LEBWOHL a Alain RAVAUD, 2008. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *The Lancet* [online]. 9. 8., roč. 372, č. 9637, s. 449–456. ISSN 0140-6736, 1474-547X. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(08)61039-9

MOTZER, Robert J., Thomas E. HUTSON, Gary R. HUDES, Robert A. FIGLIN, Jean-Francois MARTINI, Patricia A. ENGLISH, Xin HUANG, Olga VALOTA a J. Andrew WILLIAMS, 2014. Investigation of novel circulating proteins, germ line single-nucleotide polymorphisms, and molecular tumor markers as potential efficacy biomarkers of first-line sunitinib therapy for advanced renal cell carcinoma. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* [online]. 7. 8., roč. 74, č. 4, s. 739–750. ISSN 0344-5704, 1432-0843. Dostupné z: doi:10.1007/s00280-014-2539-0

NEUFELD, Gera a Ofra KESSLER, 2008. The semaphorins: versatile regulators of tumour progression and tumour angiogenesis. *Nature Reviews Cancer* [online]. roč. 8, č. 8, s. 632–645. ISSN 1474-175X. Dostupné z: doi:10.1038/nrc2404

OLSSON, Anna-Karin, Anna DIMBERG, Johan KREUGER a Lena CLAEISSON-WELSH, 2006. VEGF receptor signalling ? in control of vascular function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. roč. 7, č. 5, s. 359–371. ISSN 1471-0072. Dostupné z: doi:10.1038/nrm1911

OSHIRO, Noriko, Ken-ichi YOSHINO, Sujuti HIDAYAT, Chiharu TOKUNAGA, Kenta HARA, Satoshi EGUCHI, Joseph AVRUCH a Kazuyoshi YONEZAWA, 2004. Dissociation of raptor from mTOR is a mechanism of rapamycin-induced inhibition of mTOR function. *Genes to Cells: Devoted to*

Molecular & Cellular Mechanisms [online]. 4., roč. 9, č. 4, s. 359–366. ISSN 1356-9597. Dostupné z: doi:10.1111/j.1356-9597.2004.00727.x

PALMA, Michele De a Douglas HANAHAN, 2012. The biology of personalized cancer medicine: Facing individual complexities underlying hallmark capabilities. *Molecular Oncology* [online]. 1. 4., roč. 6, č. 2, s. 111–127. ISSN 1574-7891. Dostupné z: doi:10.1016/j.molonc.2012.01.011

PARDOLL, Drew M., 2012. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer* [online]. roč. 12, č. 4, s. 252–264. ISSN 1474-175X. Dostupné z: doi:10.1038/nrc3239

PENA, Carol, Chetan LATHIA, Minghua SHAN, Bernard ESCUDIER a Ronald M. BUKOWSKI, 2010. Biomarkers Predicting Outcome in Patients With Advanced Renal Cell Carcinoma: Results From Sorafenib Phase III TARGET. *American Association for Cancer Research* [online]. 22. 7., s. clincanres.3343.2009. ISSN 1078-0432, 1557-3265. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-3343

POLIVKA JR., Jiri a Filip JANKU, 2014. Molecular targets for cancer therapy in the PI3K/AKT/mTOR pathway. *Pharmacology & Therapeutics* [online]. 5., roč. 142, č. 2, s. 164–175. ISSN 0163-7258. Dostupné z: doi:10.1016/j.pharmthera.2013.12.004

PRIOR, Celia, Jose Luis PEREZ-GRACIA, Jesus GARCIA-DONAS, Cristina RODRIGUEZ-ANTONA, Elizabeth GURUCEAGA, Emilio ESTEBAN, Cristina SUAREZ, Daniel CASTELLANO, Aránzazu González del ALBA, Maria Dolores LOZANO, Joan CARLES, Miguel Angel CLIMENT, Jose Angel ARRANZ, Enrique GALLARDO, Javier PUENTE, Joaquim BELLMUNT, Alfonso GURPIDE, Jose Maria LOPEZ-PICAZO, Alvaro Gonzalez HERNANDEZ, Begoña MELLADO, Esther MARTÍNEZ, Fernando MORENO, Albert FONT a Alfonso CALVO, 2014. Identification of Tissue microRNAs Predictive of Sunitinib Activity in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma. *PLOS ONE* [online]. 24. 1., roč. 9, č. 1, s. e86263. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0086263

QIN, Chao, Qiang CAO, Pu LI, Shangqian WANG, Jian WANG, Meilin WANG, Haiyan CHU, Liquan ZHOU, Xuesong LI, Dingwei YE, Hailiang ZHANG, Yiran HUANG, Baijun DONG, Xiaofeng SUN, Qing ZOU, Hongzhou CAI, Lijiang SUN, Jian ZHU, Fade LIU, Junbiao JI, Li CUI, Xiaoxiang WANG, Hai ZHOU, Hu ZHAO, Bin WU, Jianchun CHEN, Minjun JIANG, Zhengdong ZHANG, Pengfei SHAO, Xiaobing JU a Changjun YIN, 2016. The influence of genetic variants of sorafenib on clinical outcomes and toxic effects in patients with advanced renal cell carcinoma. *Scientific Reports* [online]. 2. 2., roč. 6 [vid. 2016-05-03]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep20089

RINI, Brian I., 2008. Temsirolimus, an Inhibitor of Mammalian Target of Rapamycin. *Clinical Cancer Research* [online]. 1. 3., roč. 14, č. 5, s. 1286–1290. ISSN 1078-0432, 1557-3265. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-4719

RINI, Brian I. a Eric J. SMALL, 2005. Biology and Clinical Development of Vascular Endothelial Growth Factor–Targeted Therapy in Renal Cell Carcinoma. *Journal of Clinical Oncology* [online]. 10. 2., roč. 23, č. 5, s. 1028–1043. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2005.01.186

RINI, Brian I., Jeffrey A. SOSMAN a Robert J. MOTZER, 2005. Therapy targeted at vascular endothelial growth factor in metastatic renal cell carcinoma: biology, clinical results and future development. *BJU international* [online]. 8., roč. 96, č. 3, s. 286–290. ISSN 1464-4096. Dostupné z: doi:10.1111/j.1464-410X.2005.05616.x

SABATINI, David M., 2006. mTOR and cancer: insights into a complex relationship. *Nature Reviews Cancer* [online]. 9., roč. 6, č. 9, s. 729–734. ISSN 1474-175X. Dostupné z: doi:10.1038/nrc1974

SARBASSOV, Dos D, Siraj M ALI a David M SABATINI, 2005. Growing roles for the mTOR pathway. *Current Opinion in Cell Biology* [online]. 12., roč. 17, č. 6, Cell division, growth and death / Cell differentiation, s. 596–603. ISSN 0955-0674. Dostupné z: doi:10.1016/j.ceb.2005.09.009

SAWYERS, Charles L., 2008. The cancer biomarker problem. *Nature* [online]. 3. 4., roč. 452, č. 7187, s. 548–552. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature06913

SHIBUYA, Masabumi, 2010. Tyrosine Kinase Receptor Flt/VEGFR Family Its Characterization Related to Angiogenesis and Cancer. *Genes & Cancer* [online]. 1. 11., roč. 1, č. 11, s. 1119–1123. ISSN 1947-6019, 1947-6027. Dostupné z: doi:10.1177/1947601910392987

SHIBUYA, Masabumi, 2013. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases. *Journal of Biochemistry* [online]. 1. 1., roč. 153, č. 1, s. 13–19. ISSN 0021-924X. Dostupné z: doi:10.1093/jb/mvs136

SHIBUYA, Masabumi a Lena CLAESSION-WELSH, 2006. Signal transduction by VEGF receptors in regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Experimental Cell Research* [online]. roč. 312, č. 5, Special Issue on Angiogenesis, s. 549–560. ISSN 0014-4827. Dostupné z: doi:10.1016/j.yexcr.2005.11.012

SOLDI, R, S MITOLA, M STRASLY, P DEFILIPPI, G TARONE a F BUSSOLINO, 1999. Role of alphavbeta3 integrin in the activation of vascular endothelial growth factor receptor-2. *The EMBO Journal* [online]. 15. 2., roč. 18, č. 4, s. 882–892. ISSN 0261-4189. Dostupné z: doi:10.1093/emboj/18.4.882

TRAN, Hai T., Yuan LIU, Amado J. ZURITA, Ying LIN, Katherine L. BAKER-NEBLETT, Anne-Marie MARTIN, Robert A. FIGLIN, Thomas E. HUTSON, Cora N. STERNBERG, Rafael G. AMADO, Lini N. PANDITE a John V. HEYMACH, 2012. Prognostic or predictive plasma cytokines and angiogenic factors for patients treated with pazopanib for metastatic renal-cell cancer: a retrospective analysis of phase 2 and phase 3 trials. *The Lancet Oncology* [online]. 1. 8., roč. 13, č. 8, s. 827–837. ISSN 1470-2045, 1474-5488. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(12)70241-3

TUGUES, Sònia, Sina KOCH, Laura GUALANDI, Xiujuan LI a Lena CLAESSION-WELSH, 2011. Vascular endothelial growth factors and receptors: Anti-angiogenic therapy in the treatment of cancer. *Molecular Aspects of Medicine* [online]. roč. 32, č. 2, Angiogenesis and Lymphangiogenesis, s. 88–111. ISSN 0098-2997. Dostupné z: doi:10.1016/j.mam.2011.04.004

VÉZINA, C., A. KUDELSKI a S. N. SEHGAL, 1975. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *The Journal of Antibiotics*. 10., roč. 28, č. 10, s. 721–726. ISSN 0021-8820.

WEIKERT, Steffen, Heiner BOEING, Tobias PISCHON, Cornelia WEIKERT, Anja OLSEN, Anne TJONNELAND, Kim OVERVAD, Nikolaus BECKER, Jakob LINSEISEN, Antonia TRICHOPOULOU, Theodore MOUNTOKALAKIS, Dimitrios TRICHOPOULOS, Sabina SIERI, Domenico PALLI, Paolo VINEIS, Salvatore PANICO, Petra H. M. PEETERS, H. Bas BUENO-DE-MESQUITA, W. M. Monique VERSCHUREN, Borje LJUNGBERG, Goran HALLMANS, Goran BERGLUND, Carlos A. GONZÁLEZ, Miren DORRONSORO, Aurelio BARRICARTE, M. J. TORMO, Naomi ALLEN, Andrew RODDAM, Sheila BINGHAM, Kay-Tee KHAW, Sabina RINALDI, Pietro FERRARI, Teresa NORAT a Elio RIBOLI, 2008. Blood Pressure and Risk of Renal Cell Carcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *American Journal of Epidemiology* [online]. 15. 2., roč. 167, č. 4, s. 438–446. ISSN 0002-9262, 1476-6256. Dostupné z: doi:10.1093/aje/kwm321

XU, C.-F., T. JOHNSON, J. GARCIA-DONAS, T. K. CHOUEIRI, C. N. STERNBERG, I. D. DAVIS, N. BING, K. C. DEEN, Z. XUE, L. MCCANN, E. ESTEBAN, J. C. WHITTAKER, C. F. SPRAGGS,

C. RODRÍGUEZ-ANTONA, L. N. PANDITE a R. J. MOTZER, 2015. IL8 polymorphisms and overall survival in pazopanib- or sunitinib-treated patients with renal cell carcinoma. *British Journal of Cancer* [online]. 31. 3., roč. 112, č. 7, s. 1190–1198. ISSN 1532-1827. Dostupné z: doi:10.1038/bjc.2015.64

XU, Chun-Fang, Nan X. BING, Howard A. BALL, Dilip RAJAGOPALAN, Cora N. STERNBERG, Thomas E. HUTSON, Paul DE SOUZA, Zhengyu G. XUE, Lauren MCCANN, Karen S. KING, Leigh J. RAGONE, John C. WHITTAKER, Colin F. SPRAGGS, Lon R. CARDON, Vincent E. MOOSER a Lini N. PANDITE, 2011. Pazopanib efficacy in renal cell carcinoma: evidence for predictive genetic markers in angiogenesis-related and exposure-related genes. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* [online]. 20. 6., roč. 29, č. 18, s. 2557–2564. ISSN 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2010.32.9110

YU, Li, Ajjai ALVA, Helen SU, Parmesh DUTT, Eric FREUNDT, Sarah WELSH, Eric H. BAEHRECKE a Michael J. LENARDO, 2004. Regulation of an ATG7-beclin 1 Program of Autophagic Cell Death by Caspase-8. *Science* [online]. 4. 6., roč. 304, č. 5676, s. 1500–1502. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1096645

ZHENG, Bing, Hua ZHU, Donghua GU, Xiaodong PAN, Lin QIAN, Boxin XUE, Dongrong YANG, Jundong ZHOU a Yuxi SHAN, 2015. MiRNA-30a-mediated autophagy inhibition sensitizes renal cell carcinoma cells to sorafenib. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 3. 4., roč. 459, č. 2, s. 234–239. ISSN 0006-291X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbrc.2015.02.084

ZISMAN, A., A. J. PANTUCK, F. DOREY, J. W. SAID, O. SHVARTS, D. QUINTANA, B. J. GITLITZ, J. B. DEKERNION, R. A. FIGLIN a A. S. BELLDEGRUN, 2001. Improved prognostication of renal cell carcinoma using an integrated staging system. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*. 15. 3., roč. 19, č. 6, s. 1649–1657. ISSN 0732-183X.