

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

Sporadické buňky v diagnostice a monitoraci gynekologických onemocnění

Rare cells in diagnostics and monitoring of gynecological diseases

MUDr. Imrich Kiss

2022

Doktorské studijní programy v biomedicině
Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor: Experimentální chirurgie

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Zdeněk Krška, DrSc.

Školící pracoviště: III. chirurgická klinika 1. LF UK a FNM

Školitel: prof. MUDr. Vladimír Bobek, PhD.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

1. Úvod
2. Hypotézy a cíle práce
 - 2.1. Existuje korelace stadia nádorového onemocnění s přítomností živých CTC? Je možná dlouhodobá kultivace in vitro vyizolovaných CTC?
 - 2.2. Je možno využít cirkulující endometriální buňky v diagnostice a monitorování endometriózy?
 - 2.3. Je možné cirkulující endometriální buňky využít v diagnostice a léčbě u pacientek se spontánním pneumotoraxem?
3. Materiál a metodika
 - 3.1. Izolace CTC
 - 3.2. Cytomorfologická analýza
 - 3.3. Molekulární analýza
4. Výsledky a hodnocení hypotéz
 - 4.1. Korelace mezi stadiem onemocnění a přítomnosti živých CTC u žen s karcinomem endometria
 - 4.1.1. Výsledky
 - 4.1.2. Diskuze
 - 4.1.3. Závěry
 - 4.2. Cirkulující endometriální buňky: Nový zdroj informací o dynamice endometriózy
 - 4.2.1. Výsledky
 - 4.2.2. Diskuze
 - 4.2.3. Závěry
 - 4.3. Cirkulující endometriální buňky u žen se spontánním pneumotoraxem
 - 4.3.1. Výsledky
 - 4.3.2. Diskuze
 - 4.3.3. Závěry
5. Souhrn
6. Použitá literatura

Abstrakt:

V posledních dvou desetiletích je významná snaha nalézt neinvazivní markery v diagnostice, predikci a monitorování účinnosti terapie maligních onemocnění. Cirkulující nádorové buňky (CTC) mají možnost splnit všechny tyto kritéria. Monotematická práce se v úvodu věnuje problematice CTC a jejich současnému využití v klinické medicíně. V přehledném článku je shrnut aktuální stav využití CTC u gynekologických malignit. V další publikaci je originální článek na téma CTC u karcinomu endometria. Popisuje úspěšný záchyt vitálních CTC u 75% testovaných pacientek. Identifikuje CTC jako individuální marker onemocnění bez spojitosti se stadiem, stupněm (grade) nebo postižením lymfatických uzlin.

V druhé polovině se práce věnuje endometrióze, benignímu, ale často recidivujícímu onemocnění zhoršující kvalitu života u žen v reprodukčním věku. Multicentrická studie popisuje úspěšnou izolaci cirkulujících endometriálních buněk (CEC) u žen s histologicky potvrzenou endometriózou v různém stadiu onemocnění i subjektivními potížemi pacientek. Z celkových 423 vzorků bylo úspěšně izolováno 78.4%. CEC byly sledovány u 11 pacientek v různých fázích menstruačního cyklu, při čemž nejvyšší počet CEC byl detekován těsně po ovulaci. Cytomorfologickou a následně molekulární analýzou byly zjištěny buněčné typy a geny charakteristické pro jednotlivé fáze cyklu umožňující vysvětlení dynamiky patofyziologie endometriózy. Poslední originální článek disertační práce je pilotní studie detekce CEC u pacientek se spontánním pneumotoraxem s podezřením na katameniální charakter. U všech 20 vyšetřovaných pacientek byly prokázány CEC, které následnou molekulární analýzou byly rozděleny na dvě skupiny. Profil těchto dvou skupin korespondoval s perioperačním nálezem, co by vysvětlovalo dvě patofyziologické cesty šíření endometriózy do hrudní dutiny (brániční fenestrace vs. hematogenní šíření). Klinickým přínosem této studie by byla včasná diagnostika možné etiologie endometriózy, efektivnějšího terapeutického zásahu a sledování gynekologem ke snížení riziku recidivy.

Abstract:

In the last two decades there is an enormous effort to discover a non-invasive marker to diagnose, predict and monitor therapy effect of malignant diseases. Circulating tumor cells (CTC) have the ability to fulfil all these criteria. The introduction of the monothematic thesis deals with the problematics of CTC in general and its application in clinical medicine. It is followed by the author's first publication, which reviews the current status of CTC in gynecological malignancies. The next publication is an original article about CTC in patients with endometrial carcinoma. It reports a successful isolation of vital CTC in 75% of tested patients and identifies CTC as an individual marker of the disease without correlation to the stage, grade or lymph nodes involvement.

The second part of this thesis deals with endometriosis, a benign but often recurrent disease worsening the life quality of women in reproductive age. The multicentre study presents a successful isolation of circulating endometrial cells (CEC) in patients with histologically proven endometriosis with various stages and symptoms. From the total of 423 samples 78.4% were CEC positive. Eleven patients were monitored during their menstrual cycle and CEC tested in different phases, being the early post-ovulatory period in which the highest CEC number was detected. Cytomorphologic and later molecular analysis showed characteristic cell types and genes for different phases, which could lead to better understanding of endometriosis dynamics. The last original article of this thesis is a proof-of-concept study which demonstrates successful isolation and characterization of CEC in patients with spontaneous pneumothorax with very suspect catamenial involvement. In all the 20 patients CEC were detected and with further molecular analysis divided in to two groups. The gene expression profile of the two groups corresponded with the intraoperative findings, which would explain the two pathophysiological routes of endometriosis spread to the thoracic cavity (diaphragm fenestration vs. hematogenous spread). The clinical value of this original study would be the early diagnostics of endometriosis etiology, more effective therapy management and a follow up by the gynaecologist to lower the risk of recurrence.

1. Úvod

Sporadické buňky jsou v krevním řečišti zastoupeny v poměru k ostatním elementům v minimálním množství. U zdravého jedince jsou eliminovány imunitním systémem, u patologického procesu mohou být zdrojem vzdálených metastáz. V gynekologii je jejich výskyt popisován mimo onkologických onemocnění také u endometriózy. Cirkulující nádorové buňky (CTC) jsou izolovány u maligních onemocnění a cirkulující endometriální buňky (CEC) jsou detekovány u endometriózy. Předkládaná disertační monotematická práce přináší důležité poznatky o úspěšné izolaci a poukazuje na možnosti dalšího výzkumu a využití těchto buněk v klinické praxi.

2. Hypotézy a cíle práce

V posledních letech je snaha o nalezení metody, která je mini-invazivně schopna potvrdit a specifikovat onemocnění, odhadnout prognózu, efektivně monitorovat terapii a včas odhalit možnou recidivu. **Výzkum byl zaměřen na využití cirkulujících sporadických buněk v léčbě a diagnostice u maligních onemocnění (detekcí CTC), jakož i u benigních onemocnění (CEC u endometriózy).**

Cirkulující sporadické buňky jsou možným biomarkerem, který by mohl vyhovět výše uvedeným nárokům. **Cílem bylo zjistit korelaci CTC se stadiem onemocnění** (v našem případě karcinomu endometria). Úkolem byla izolace viabilní CTC a jejich dlouhodobá kultivace, což umožní další studium onemocnění.

Významným cílem plánovaného výzkumu bylo využití izolační metody využívané doposud pouze při onkologické diagnostice u pacientek s endometriózou. Detekované buňky po filtraci periferní krve jsme nazvali cirkulující endometriální buňky (CEC). Následně jsme získané buňky podrobili genové analýze, jejíž výsledky by sloužily k dalšímu výzkumu daného onemocnění. Získané zkušenosti a poznatky jsme využili ve studii, ve které je cílem popis výskytu a molekulární charakteristiky CEC u žen se spontánním pneumotoraxem s podezřením na katameniální charakter.

Souhrnem byly stanoveny následující otázky-hypotézy:

- 2.1. Existuje korelace stadia nádorového onemocnění s přítomností živých CTC? Je možná dlouhodobá kultivace in vitro vyzolovaných CTC?
- 2.2. Je možno využití cirkulujících endometriálních buněk v diagnostice a monitorování endometriózy?
- 2.3. Je možné cirkulující endometriální buňky využít v diagnostice a léčbě u pacientek se spontánním pneumotoraxem?

3. Materiál a metodika

3.1. Izolace CTC

Sporadické buňky: cirkulující nádorové buňky (CTC) a cirkulující endometriální buňky (CEC) jsme získali odběrem periferní krve. Izolace buněk z venózní krve proběhla metodou filtrace. Systém obsahuje membránu s póry o velikosti 8 μm , přes které je filtrováno cca 8 ml krve. Na membráně se spolu s leukocyty nebo makrofágy zachytí i patologické buňky jako nádorové nebo endometriální. Významnou výhodou oproti jiným metodám je zachování životnosti buněk (viability) a tedy možnost následné kultivace. Po 3 až 6 denní kultivaci, během které dochází k odumření většiny leukocytů a makrofágů, aplikujeme na vzorky fluorescenční barvení (NuceBlue™, CellTracker™, MitoTracker™) a pod fluorescenčním mikroskopem hodnotíme cytomorfológii buněk.

3.2. Cytomorfológická analýza

Cytomorfológická analýza se skládá ze dvou kroků. V prvním, jsou při zvětšení 10x-20x lokalizovány viabilní buňky, ve druhém při zvětšení 40x-60x jsou pozorovány detaily cytoplazmy, jádra s jadérky a mitochondrie. Mikroskopický obraz je digitalizován a snímky uloženy ke kontrolnímu čtení zkušeným vědeckým pracovníkem nebo patologem. Všechny vzorky jsou analyzovány dvěma různými specialisty.

Po cytomorfológické analýze je membrána s buňkami fixována sušením k další imunohistochemické analýze nebo uskladnění v RLT bufferu k další RNA analýze. Imunohistochemická analýza slouží k potvrzení endometriálního původu sporadických buněk v periferní krvi u pacientek s endometriózou. Rutinně se k diagnostice endometriózy užívá CD10, ESR a VIM protilátky.

3.3. Molekulární analýza

Molekulární analýza vzorků probíhá pomocí kvantitativní polymerázové řetězové reakce (qPCR) s možností testování až 24 genů v jednotlivých vzorcích. Identifikace genů se zvýšenou expresí v CTC a CEC je dosažena porovnáním molekulárního profilu plné krve (ještě před filtrací membránou) a buněk separovaných na membráně. Z uchovaných vzorků v RLT bufferu jsme RNA izolovali pomocí RNeasy Mini Kit (QIAGEN) a poté je koncentrace RNA měřena přístrojem NanoDrop (Thermo Fisher Scientific). Produkce cDNA probíhá pomocí vysoko kapacitní cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific), genová analýza probíhá s využitím Taqman sond. Detailní popis izolování buněk, imunohistochemie a genové analýzy je popsán v jednotlivých publikacích v příloze disertační práce.

4. Výsledky a hodnocení hypotéz

4.1. Korelace mezi stadiem onemocnění a přítomnosti živých CTC u žen s karcinomem endometria

4.1.1. Výsledky

Studie byla zaměřena na pacientky s karcinomem endometria. Do studie bylo zařazeno 92 pacientek s různým histologickým typem a stádiem onemocnění, u kterých byly CTC detekovány v 75% případech. CTC pozitivita nesouvisela se stádiem onemocnění ani s metastazováním do spádových lymfatických uzlin. Důležitým aspektem studie byla úspěšná dlouhodobá kultivace izolovaných nádorových buněk až 6 měsíců. Kultivované buňky mohou sloužit jako cenný materiál k dalšímu zkoumání genové analýzy i ke stanovení chemorezistence při managementu personalizované terapie karcinomu endometria.

4.1.2. Diskuze

Tekutá biopsie (liquid biopsy) znamená revoluci v onkologii všeobecně a má předpoklady hrát významnou roli v personalizované terapii nemocných. Vedle děložního aspirátu, cfDNA, ctDNA, cirkulující miRNA a EPC řadí CTC mezi potencionálně využitelné v hodnocení prognózy karcinomu endometria a plánování pooperační terapie. Předpokladem je, že kombinováním těchto metod identifikujeme mutace, které nám pomůžou v strategii přístupu pokročilého onemocnění, časně detekce recidivy a personalizovaném přístupu u terapeutické rezistence vedoucí k relapsu.

4.1.3. Závěry

Vysoká pozitivita CTC i u dobře diferencovaných karcinomů v časném stádiu upozorňuje na potenciál šíření metastáz tohoto onemocnění. Neprokázali jsme korelaci mezi CTC a stádiem, stupněm a postižením lymfatických uzlin značící jejich individuální charakter s eventuální možností využití i při monitoringu efektivity léčby. Velkou výhodou metody izolace je i možná další kultivace živých CTC s následnou funkční a molekulární analýzou.

4.2. Cirkulující endometriální buňky: Nový zdroj informací o dynamice endometriózy

4.2.1. Výsledky

Studie byla koncipovaná jako prospektivní a multicentrická (Polsko, Itálie a Česká republika, ve které spolupracovalo 9 center). Ze 423 vzorků byly CEC detekovány ve 331 případech (pozitivita 78 %). Důkladným cytomorfológickým vyšetřením byly zjištěny epiteliální, glandulární a buňky podobné kmenovým (stem cell-like). Pozitivita vzorků se nelišila mezi jednotlivými pracovišti, a ve všech typech i stádiích endometriózy se detekovali CEC bez výraznější kvantitativní odchylky.

K výběru nejvíce specifických genů endometriózy jsme dospěli porovnáním genové analýzy získané z tkáně ovariální endometriózy (endometriomu) a venózní krve (s cirkulujícími endometriálními buňkami) u stejné pacientky. Celkově bylo do analýzy zahrnuto 20 genů. Dle klastrové analýzy výsledků qPCR byla vybrána skupina genů (KRT18, KRT19, VIM, NANOG), které dále sloužily k identifikaci CEC v dalších vzorcích a doporučujeme jejich využití i v budoucích pracích na CEC.

4.2.2. Diskuze

Cytomorfológickou a následně molekulární analýzou byly zjištěny buněčné typy a geny charakteristické pro jednotlivé fáze cyklu umožňující vysvětlení dynamiky patofyziologie endometriózy. Studie spolu s aktuálně dostupní literaturou teoretizuje jednak o podobné iniciaci šíření endometriózy jako metastázování maligních nádorů a rovněž vznikem vzdálených ložisek prostřednictvím mesenchymálních kmenových endometriálních buněk.

4.2.3. Závěry

CEC je individuální marker endometriózy bez spojitosti se stádiem a typem onemocnění a subjektivními potíži pacientky. Nejvyšší počet CEC je detekován bezprostředně po ovulaci. Během menstruačního cyklu se mění cytomorfológické složení i genový profil CEC dle fáze cyklu. Omezená exprese estrogenových receptorů a absence progesteronových receptorů by v budoucnu mohla personalizovat konzervativní léčbu endometriózy. Detekce buněk podobajících se kmenovým buňkám podporuje hypotézu endometriózy jako onemocnění kmenových buněk.

4.3. Cirkulující endometriální buňky u žen se spontánním pneumotoraxem

4.3.1. Výsledky

Ve všech 40 vzorcích u 20 žen hospitalizovaných pro spontánní pneumotorax s katameniálním charakterem byly detekované CEC (100 % pozitivita). Z 20 pacientek mělo 7 (35%) počet izolovaných CEC více než 100, z těchto 7 měli 3 (43%) potvrzená ložiska endometriózy na pleuře nebo noduly v plicní tkáni a u 5 (72%) to byla opakovaná epizoda pneumotoraxu. Z tohoto můžeme uvažovat spojitost vysokého počtu CEC a katameniálním pneumotoraxem. In vitro kultivací jsme pozorovali rostoucí i aktivně se dělicí individuální CEC i shluky buněk. Zvýšenou expresi ve vzorků od pacientek s pneumotoraxem jsme zaznamenali u genů VIM, KRT18, NANOG, CD10 a ESRRA. Porovnáním genových profilů jsme detekovali dva různé fenotypy CEC: první fenotyp u pacientek s potvrzenou endometriózou bránice a druhý fenotyp ve spojitosti s endometriálními ložisky na pleuře. V porovnání molekulárního profilu vzorků od pacientek se spontánním pneumotoraxem se vzorky pacientek s histologicky prokázanou

pánevní endometriózou, byla u žen po spontánním pneumotoraxu signifikantně zvýšena exprese HER2, což spolu s KRT18 může sloužit jako specifický marker k identifikaci epizod pneumotoraxu.

4.3.2. Diskuze

Studie poskytuje možnou odpověď výběru žen se známou endometriózou s rizikem vzniku spontánního pneumotoraxu. Na druhou stranu při podezření na katamenální charakter spontánního pneumotoraxu a nález CEC je možné pacientku gynekologicky vyšetřit pro pravděpodobnou etiologii endometriózy a zahájit následnou léčbu ke snížení riziku recidivy. Pro chirurgy by včasná diagnostika endometriální etiologie pomohla ve volbě vhodného zákroku již při začátku prezentace pneumotoraxu a vyloučilo jinou etiologii potíží.

4.3.3. Závěry

Prezentujeme úspěšnou izolaci CEC u všech pacientek se spontánním pneumotoraxem s podezřením na katamenální charakter. Genetická analýza CEC poukazuje na různé patofyziologické pochody, korespondující s perioperačním nálezem (brániční fenestrace vs. pleurální implantace ložisek endometriózy). Signifikantní elevace genu HER2 ve vzorků CEC u žen se spontánním pneumotoraxem může sloužit jako marker u žen s již známou endometriózou pro vznik pneumotoraxu v budoucnu. Při první epizodě pneumotoraxu a nález CEC je časně odeslání ke gynekologické konzultaci a potvrzení endometriózy s následnou léčbou klíčové ke snížení rizika opakujících se pneumotoraxů.

5. Souhrn

CTC a CEC jsou potencionálními nástroji v diagnostice a terapii v tzv. personalizované medicíně. Je potřeba dalších studií k podložení prezentovaných dat, které vedou k přesvědčení i širší odborné veřejnosti k budoucímu klinickému využití těchto sporadických buněk.

6. Použitá literatura

1. Alix-Panabières, C., Pantel, K., 2021. Liquid Biopsy: From Discovery to Clinical Application. *Cancer Discov* 11, 858–873. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-20-1311>
2. Azevedo, R., Soares, J., Peixoto, A., Cotton, S., Lima, L., Santos, L.L., Ferreira, J.A., 2018. Circulating tumor cells in bladder cancer: Emerging technologies and clinical implications foreseeing precision oncology. *Urol Oncol* 36, 221–236. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2018.02.004>

3. Bankó, P., Lee, S.Y., Nagygyörgy, V., Zrínyi, M., Chae, C.H., Cho, D.H., Telekes, A., 2019. Technologies for circulating tumor cell separation from whole blood. *J Hematol Oncol* 12. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0735-4>
4. Banys-Paluchowski, M., Fehm, T., Neubauer, H., Paluchowski, P., Krawczyk, N., Meier-Stiegen, F., Wallach, C., Kaczerowsky, A., Gebauer, G., 2020. Clinical relevance of circulating tumor cells in ovarian, fallopian tube and peritoneal cancer. *Arch Gynecol Obstet* 301, 1027–1035. <https://doi.org/10.1007/s00404-020-05477-7>
5. Bobek, V., Kolostova, K., Kucera, E., 2014. Circulating endometrial cells in peripheral blood. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 181, 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.07.037>
6. Chen, V.L., Xu, D., Wicha, M.S., Lok, A.S., Parikh, N.D., 2020. Utility of Liquid Biopsy Analysis in Detection of Hepatocellular Carcinoma, Determination of Prognosis, and Disease Monitoring: A Systematic Review. *Clin Gastroenterol Hepatol* 18, 2879-2902.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2020.04.019>
7. Chen, Y., Zhu, H.-L., Tang, Z.-W., Neoh, K.H., Ouyang, D.-F., Cui, H., Cheng, H.-Y., Ma, R.-Q., Ye, X., Han, R.P., Chang, X.-H., 2017. Evaluation of Circulating Endometrial Cells as a Biomarker for Endometriosis. *Chin. Med. J.* 130, 2339–2345. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.215325>
8. Cui, K., Ou, Y., Shen, Y., Li, S., Sun, Z., 2020. Clinical value of circulating tumor cells for the diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma (HCC). *Medicine (Baltimore)* 99. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000022242>
9. Gao, Y., Xi, H., Wei, B., Cui, J., Zhang, K., Li, H., Cai, A., Shen, W., Li, J., Rosell, R., Chao, J., Chen, T., Klempner, S., Qiao, Z., Chen, L., 2019. Association Between Liquid Biopsy and Prognosis of Gastric Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol* 9. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01222>
10. Hayflick, L., 1997. Mortality and immortality at the cellular level. A review. *Biochemistry (Mosc)* 62, 1180–1190.
11. Hüsemann, Y., Geigl, J.B., Schubert, F., Musiani, P., Meyer, M., Burghart, E., Forni, G., Eils, R., Fehm, T., Riethmüller, G., Klein, C.A., 2008. Systemic spread is an early step in breast cancer. *Cancer Cell* 13, 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.12.003>
12. Jiang, S.-S., Deng, B., Feng, Y.-G., Qian, K., Tan, Q.-Y., Wang, R.-W., 2019. Circulating tumor cells prior to initial treatment is an important prognostic factor of survival in non-small cell lung cancer: a meta-analysis and system review. *BMC Pulm Med* 19, 262. <https://doi.org/10.1186/s12890-019-1029-x>

13. Khetrupal, P., Lee, M.W.L., Tan, W.S., Dong, L., de Winter, P., Feber, A., Kelly, J.D., 2018. The role of circulating tumour cells and nucleic acids in blood for the detection of bladder cancer: A systematic review. *Cancer Treat Rev* 66, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.03.007>
14. Kim, M., Suh, D.H., Choi, J.Y., Bu, J., Kang, Y.-T., Kim, K., No, J.H., Kim, Y.B., Cho, Y.-H., 2019. Post-debulking circulating tumor cell as a poor prognostic marker in advanced stage ovarian cancer. *Medicine (Baltimore)* 98. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000015354>
15. Kim, N.W., Piatyszek, M.A., Prowse, K.R., Harley, C.B., West, M.D., Ho, P.L., Coviello, G.M., Wright, W.E., Weinrich, S.L., Shay, J.W., 1994. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 266, 2011–2015. <https://doi.org/10.1126/science.7605428>
16. Kiss, I., Kolostova, K., Pawlak, I., Bobek, V., n.d. Circulating tumor cells in gynaecological malignancies 11.
17. Kiss, I., Pospisilova, E., Kolostova, K., Maly, V., Stanek, I., Lischke, R., Schutzner, J., Pawlak, I., Bobek, V., 2020. Circulating Endometrial Cells in Women With Spontaneous Pneumothorax. *Chest* 157, 342–355. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2019.09.008>
18. Lauritano, D., Oberti, L., Gabrione, F., Lucchese, A., Petruzzi, M., Carinci, F., Lo Muzio, L., 2019. Liquid biopsy in head and neck squamous cell carcinoma: Prognostic significance of circulating tumor cells and circulating tumor DNA. A systematic review. *Oral Oncology* 97, 7–17. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2019.07.003>
19. Li, F., Alderman, M.H., Tal, A., Mamillapalli, R., Coolidge, A., Hufnagel, D., Wang, Z., Neisani, E., Gidicsin, S., Krikun, G., Taylor, H.S., 2018. Hematogenous Dissemination of Mesenchymal Stem Cells from Endometriosis. *Stem Cells* 36, 881–890. <https://doi.org/10.1002/stem.2804>
20. Li, Y., Wu, G., Yang, W., Wang, X., Duan, L., Niu, L., Zhang, Y., Liu, J., Hong, L., Fan, D., 2020. Prognostic value of circulating tumor cells detected with the CellSearch system in esophageal cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer* 20, 581. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07059-x>
21. Manaker, S., 2020. Circulating Endometrial Cells. *Chest* 157, 245–246. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2019.10.036>
22. Mansouri, S., Mokhtari-Hesari, P., Naghavi-Al-Hosseini, F., Majidzadeh-A, K., Farahmand, L., 2019. The Prognostic Value of Circulating Tumor Cells in Primary

- Breast Cancer Prior to any Systematic Therapy: A Systematic Review. *Curr Stem Cell Res Ther* 14, 519–529. <https://doi.org/10.2174/1574888X14666190306103759>
23. Marquette, C.-H., Boutros, J., Benzaquen, J., Ferreira, M., Pastre, J., Pison, C., Padovani, B., Bettayeb, F., Fallet, V., Guibert, N., Basille, D., Ilie, M., Hofman, V., Hofman, P., AIR project Study Group, 2020. Circulating tumour cells as a potential biomarker for lung cancer screening: a prospective cohort study. *Lancet Respir Med* 8, 709–716. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30081-3](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30081-3)
24. Matsushita, D., Arigami, T., Okubo, K., Sasaki, K., Noda, M., Kita, Y., Mori, S., Uenosono, Y., Ohtsuka, T., Natsugoe, S., 2020. The Diagnostic and Prognostic Value of a Liquid Biopsy for Esophageal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancers (Basel)* 12. <https://doi.org/10.3390/cancers12103070>
25. Muinelo-Romay, L., Casas-Arozamena, C., Abal, M., 2018. Liquid Biopsy in Endometrial Cancer: New Opportunities for Personalized Oncology. *International Journal of Molecular Sciences* 19, 2311. <https://doi.org/10.3390/ijms19082311>
26. Pantel, K., Denève, E., Nocca, D., Coffy, A., Vendrell, J.-P., Maudelonde, T., Riethdorf, S., Alix-Panabières, C., 2012. Circulating Epithelial Cells in Patients with Benign Colon Diseases. *Clinical Chemistry* 58, 936–940. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2011.175570>
27. Quintanal-Villalonga, Á., Chan, J.M., Yu, H.A., Pe'er, D., Sawyers, C.L., Sen, T., Rudin, C.M., 2020. Lineage plasticity in cancer: a shared pathway of therapeutic resistance. *Nature Reviews Clinical Oncology* 17, 360–371. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0340-z>
28. Sasson, I.E., Taylor, H.S., 2008. Stem cells and the pathogenesis of endometriosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1127, 106–115. <https://doi.org/10.1196/annals.1434.014>
29. Sparano, J., O'Neill, A., Alpaugh, K., Wolff, A.C., Northfelt, D.W., Dang, C.T., Sledge, G.W., Miller, K.D., 2018. Association of Circulating Tumor Cells With Late Recurrence of Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol* 4, 1700–1706. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.2574>
30. Takakura, M., Kyo, S., Nakamura, M., Maida, Y., Mizumoto, Y., Bono, Y., Zhang, X., Hashimoto, Y., Urata, Y., Fujiwara, T., Inoue, M., 2012. Circulating tumour cells detected by a novel adenovirus-mediated system may be a potent therapeutic marker in gynaecological cancers. *Br J Cancer* 107, 448–454. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.276>

31. Takakura, M., Matsumoto, T., Nakamura, M., Mizumoto, Y., Myojyo, S., Yamazaki, R., Iwadare, J., Bono, Y., Orisaka, S., Obata, T., Iizuka, T., Kagami, K., Nakayama, K., Hayakawa, H., Sakurai, F., Mizuguchi, H., Urata, Y., Fujiwara, T., Kyo, S., Sasagawa, T., Fujiwara, H., 2018. Detection of circulating tumor cells in cervical cancer using a conditionally replicative adenovirus targeting telomerase-positive cells. *Cancer Sci* 109, 231–240. <https://doi.org/10.1111/cas.13449>
32. Takakura, M., Takata, E., Sasagawa, T., 2020. A Novel Liquid Biopsy Strategy to Detect Small Amounts of Cancer Cells Using Cancer-Specific Replication Adenoviruses. *J Clin Med* 9. <https://doi.org/10.3390/jcm9124044>
33. Tan, Y., Wu, H., 2018. The significant prognostic value of circulating tumor cells in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Curr Probl Cancer* 42, 95–106. <https://doi.org/10.1016/j.currprobcancer.2017.11.002>
34. Trapp, E., Janni, W., Schindlbeck, C., Jückstock, J., Andergassen, U., de Gregorio, A., Alunni-Fabbroni, M., Tzschaschel, M., Polasik, A., Koch, J.G., Friedl, T.W.P., Fasching, P.A., Haeberle, L., Fehm, T., Schneeweiss, A., Beckmann, M.W., Pantel, K., Mueller, V., Rack, B., Scholz, C., SUCCESS Study Group, 2019. Presence of Circulating Tumor Cells in High-Risk Early Breast Cancer During Follow-Up and Prognosis. *J Natl Cancer Inst* 111, 380–387. <https://doi.org/10.1093/jnci/djy152>
35. Vallvé-Juanico, J., López-Gil, C., Ballesteros, A., Santamaria, X., 2019. Endometrial Stromal Cells Circulate in the Bloodstream of Women with Endometriosis: A Pilot Study. *Int J Mol Sci* 20. <https://doi.org/10.3390/ijms20153740>
36. Wang, L., Li, Y., Xu, J., Zhang, A., Wang, X., Tang, R., Zhang, X., Yin, H., Liu, M., Wang, D.D., Lin, P.P., Shen, L., Dong, J., 2018. Quantified postsurgical small cell size CTCs and EpCAM+ circulating tumor stem cells with cytogenetic abnormalities in hepatocellular carcinoma patients determine cancer relapse. *Cancer Lett* 412, 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.10.004>
37. Wang, Y., Yu, X., Hartmann, D., Zhou, J., 2020. Circulating tumor cells in peripheral blood of pancreatic cancer patients and their prognostic role: a systematic review and meta-analysis. *HPB (Oxford)* 22, 660–669. <https://doi.org/10.1016/j.hpb.2019.11.003>
38. Xun, Y., Cao, Q., Zhang, J., Guan, B., Wang, M., 2020. Clinicopathological and prognostic significance of circulating tumor cells in head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol* 104, 104638. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2020.104638>

39. Yabusaki, M., Sato, J., Kohyama, A., Kojima, T., Nobuoka, D., Yoshikawa, T., Sawada, Y., Murakami, K., Gohda, K., Okegawa, T., Nakamura, M., Takamatsu, K., Ito, M., Kaneko, K., Nakatsura, T., 2014. Detection and preliminary evaluation of circulating tumor cells in the peripheral blood of patients with eight types of cancer using a telomerase-specific adenovirus. *Oncol Rep* 32, 1772–1778. <https://doi.org/10.3892/or.2014.3436>
40. Ye, Y., Li, S.-L., Wang, J.-J., Liu, B., 2019. The diagnostic value of circulating tumor cells for lung cancer. *Medicine (Baltimore)* 98. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014936>
41. Zhao, Q., Yuan, Z., Wang, H., Zhang, H., Duan, G., Zhang, X., 2021. Role of circulating tumor cells in diagnosis of lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Int Med Res* 49. <https://doi.org/10.1177/0300060521994926>
42. Zhu, Y., Zhang, H., Chen, N., Hao, J., Jin, H., Ma, X., 2020. Diagnostic value of various liquid biopsy methods for pancreatic cancer. *Medicine (Baltimore)* 99. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000018581>

Seznam publikací doktoranda v tomto uspořádání:

1. publikace *in extenso*, které jsou podkladem disertace
 - a) s impact factorem:
 - **Kiss, I.**, Kolostova, K., Matkowski, R., Jędryka, M., Czekański, A., Pavlasek, J., Bobek, V., 2018. Correlation Between Disease Stage and the Presence of Viable Circulating Tumor Cells in Endometrial Cancer. *Anticancer Res* 38, 2983–2987. **[IF 1.935]**
 - **Kiss, I.**, Kolostova, K., Pawlak, I., Bobek, V., Circulating tumor cells in gynaecological malignancies, *JBUON* 2020; 25(1): 40-50 **[IF 1.379]**
 - **Kiss, I.**, Pospisilova, E., Kolostova, K., Maly, V., Stanek, I., Lischke, R., Schutzner, J., Pawlak, I., Bobek, V., 2020. Circulating Endometrial Cells in Women With Spontaneous Pneumothorax. *Chest* 157, 342–355. **[IF 9.657]**
 - Pospisilova, E., **Kiss, I.**, Souckova, H., Tomes, P., Spicka, J., Matkowski, R., Jedryka, M., Ferrero, S., Bobek, V., Kolostova, K., 2019. Circulating Endometrial Cells: A New Source of Information on Endometriosis Dynamics. *J Clin Med* 8. **[IF 5.688]**

b) bez IF

2. publikace *in extenso* bez vztahu k tématu disertace

a) s IF :

- Cegan M, Kobierzycki C, Kolostova K, **Kiss I**, Bobek V, Grill R. Circulating tumor cells in urological cancers. *Folia Histochem Cytobiol.* 2017;55(3):107-113. **[1.698]**
- Zahumensky J, Gojis O, **Kiss I**, Kucera E.: Velamentous insertion of the umbilical cord of twin B as a cause of vasa previa in monochorionic diamniotic twins, *Int J Gynaecol Obstet.* 2013 Sep;122(3):261-2. doi: 10.1016/j.ijgo.2013.04.011. Epub 2013 Jun 21. **[IF 1.593]**

b) bez IF

- **Kiss I**, Svobodova P, Karasek L, Svoboda B. Current status on robotic assisted myomectomy. *Mini-invasive Surg* 2021;5:55. <http://dx.doi.org/10.20517/2574-1225.2021.70>
- Kiss K, **Kiss I**, Kološtová K, Pospíšilová E, Šíroková M, Fibír A. Presence of circulating tumor cells in a patient with multiple invasive basal cell carcinoma - a case report. *Acta Chir Plast.* 2021;63(2):64-68.
- Větrovský L, Kiss K, **Kiss I**, Veselá M, Svobodová P, Svoboda B. Late inflammatory complication 20 years after filler application for breast augmentation – case report. *Actual Gyn.* 2021;13:43-47