

**UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI
LÉKAŘSKÁ FAKULTA**



**Vliv opioidní analgezie a exprese opioidních
a kanabinoidních receptorů na hladiny cirkulujících
nádorových buněk a přežití pacientů se solidními
tumory**

Mgr. Monika Vidlařová

Doktorský studijní program: Pediatrie
Autoreferát disertační práce

Školitel:

MUDr. Josef Srovnal, Ph.D.

Olomouc 2024

Disertační práce byla vypracována na Ústavu molekulární a translační medicíny, LF UP.

Ředitel: doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.

Vážení oponenti:

Doc. Mgr. Jiří Šána, Ph.D.

Ústav biologie, LF MUNI Brno

Mgr. Jana Steigerová, Ph.D.

Ústav klinické a molekulární patologie, LF UP Olomouc

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba disertační práce se koná dne:

S disertační prací je možné se seznámit na Referátu vědy a výzkumu Děkanátu lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

Obsah

1	Úvod do problematiky	4
1.1	Opioidní receptory	4
1.2	Kanabinoidní receptory	5
1.3	Vliv chirurgického výkonu a použité analgezie na recidivu nádorů	6
1.4	Cirkulující nádorové buňky	8
2	Experimentální část	10
2.1	Cíle práce	10
2.2	Metodika a pacienti	10
2.3	Výsledky	11
2.4	Diskuse	12
3	Souhrn	15
4	Použitá literatura	17
5	Publikační aktivita	21

1 Úvod do problematiky

Na základě informací vypracovaných Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny využívající odhady incidence a mortality GLOBOCAN 2020 bylo v roce 2020 celosvětově diagnostikováno 19,3 miliónů nových nádorů. Díky novým diagnostickým a léčebným metodám však onemocnění podlela pouze polovina pacientů ve srovnání s rokem 2008, kdy na onemocnění zemřelo přibližně 60 % diagnostikovaných pacientů.¹ Přežití pacientů je závislé na včasné diagnostice, díky které lze zabránit tvorbě vzdálených metastáz, často vznikajících z cirkulujících nádorových buněk (circulating tumor cells, CTCs).²

1.1 Opioidní receptory

Opioidy a opioidní analgetika působí prostřednictvím interakcí s celou řadou opioidních a kanabinoidních receptorů. Opioidní a kanabinoidní receptory sdílejí několik základních vlastností. Všechny receptory patří do rodiny transmembránových proteinů spřažených s G-proteinem (GPCRs, G-protein-coupled receptors), ten transdukuje signál prostřednictvím aktivace $G_{i/o}$ proteinu, který inhibuje adenylát cyklázovou aktivitu, aktivitu Ca^{2+} kanálů a uvolňování neurotransmiterů. Aktivace těchto receptorů vyvolává různé systémové reakce jako je analgezie, euforie a snížená střevní motilita.³

Opioidní receptory nejsou přítomny pouze v buňkách nervové soustavy, ale také v buňkách periferních orgánů jako jsou srdce, plíce, játra, gastrointestinální, reprodukční a imunitní

systém. Nicméně distribuce a exprese těchto receptorů se významně liší v závislosti na druhu orgánu.⁴

Nádorové buňky a nádorové mikroprostředí často exprimují opioidní receptor μ (MOR). Morfinem indukovaná aktivace MOR podporuje signalizaci prostřednictvím dráhy EGFR, který je v nádorech často nadměrně exprimován, což způsobuje zvýšení proliferace prostřednictvím fosforylace MAPK, ERK a Akt.⁵

Řada studií prokázala vliv opioidů na modulaci angiogeneze a regulaci nádorových metastáz. Opioidy přímo stimulují endoteliální buňky, stromální a nádorové buňky a regulují uvolňování oxidu dusného (NO), prostaglandinu E2 (PGE2) a VEGF. Morfin může prostřednictvím MOR a KOR aktivovat dráhu VEGF, čímž aktivuje signalizaci MAPK a proliferaci buněk a prostřednictvím NO morfin indukuje tvorbu nových cév.⁶

Nicméně existují i studie, které prokázaly opačný účinek opioidů jako je morfin, tj. podpora apoptózy u různých druhů nádorů, inhibice progresu buněčného cyklu z G1 do S fáze a tím zastavení proliferace nádorových buněk.⁷ V případě fentanylu byl prokázán protinádorový efekt na buňky kolorektálního karcinomu. Fentanyl inhiboval buněčnou migraci, invazi a růst buněčných kolonií.⁸

1.2 Kanabinoidní receptory

Kanabinoidní receptory patří stejně jako opioidní receptory do skupiny receptorů spřažených s G-proteinem. CB1 receptor, kódovaný genem *CNR1*, je hlavním receptorem

endokanabinoidního systému. Jeho dlouhá forma je nejvýrazněji zastoupena v mozku a kosterním svalstvu. Kratší izoformy jsou exprimovány převážně v buňkách jater a pankreatických ostrůvků a podílí se na metabolismu.⁹

CB2 receptor, kódovaný genem *CNR2*. U lidí byly identifikovány dvě izoformy CB2. Jedna je výrazně exprimována ve varlatech a v menší míře v mozku, druhá hlavně ve slezině a opět v nižší míře také v mozku.¹⁰ CB2 je dále výrazně exprimován v buňkách imunitního systému, převážně v B-lymfocytech, monocytech a neutrofilech. mRNA genů pro *CNR1* i *CNR2* receptory byla detekována ve slezině, mandlích a plicních endoteliálních buňkách.¹¹

Aktivace CB1 vede k aktivaci signálních drah MAPK, včetně kinázy ERK1/2, JNK a p38, které se podílejí na regulaci buněčné proliferace, řízení buněčného cyklu a buněčné smrti.¹²

Kanabinoidy a jejich receptory byly studovány u různých typů nádorů např. karcinomu mozku, prsu, plic a prostaty. Je známo, že jsou supresory angiogeneze a nádorové invaze, a ovlivňují růst, migraci a invazi některých nádorů.¹³ Deregulace produkce endokanabinoidů spolu se změnou exprese jejich receptorů jsou charakteristickým znakem nádorových onemocnění.¹⁴

1.3 Vliv chirurgického výkonu a použité analgie na recidivu nádorů

Radikální chirurgické odstranění nádoru je zásadním předpokladem pro úspěšnou léčbu solidních nádorů. Nicméně

je také známo, že operativní odstranění nádoru může usnadnit proces metastázování. Velké operace jsou spojeny s neuroendokrinní a cytokinovou stresovou reakcí, která způsobuje přechodné potlačení buněčné imunity v době, kdy jsou v důsledku operace neúmyslně rozptýleny nádorové buňky a může tak docházet ke vzniku metastáz.¹⁵

V průběhu operace se uvolňuje mnoho látek podporujících angiogenezi nezbytnou pro následný proces hojení. Nádorová angiogeneze je složitý dynamický proces zprostředkovaný řadou klíčových proangiogenních (např. vaskulární endoteliální růstový faktor (vascular endothelial growth factor; VEGF), angiopoietin-2 (Ang-2), transformující růstový faktor β (transforming growth factor β , TGF β) a fibroblastový růstový faktor) a antiangiogenních (např. angiostatin, endostatin) faktorů, které musí být za normálních podmínek v rovnováze. Chirurgický zákrok snižuje hladiny endogenních antiangiogenních faktorů jako je endostatin a angiostatin, zvyšuje hladinu proangiogenních MMP-9 a VEGF, a zároveň oslabuje imunitní dohled potřebný k inhibici růstu metastatických lézí.¹⁵

Opioidy jsou běžně používanými analgetiky, která jsou klíčovým nástrojem pro zvládnání nádorové bolesti, ať už chronické, související s nemocí či léčbou, nebo akutní pooperační bolesti. Avšak klinické studie hodnotící vliv opioidů na nádorové procesy jsou velmi omezené. Jak ale bylo popsáno výše, z experimentálních studií je známo, že opiáty mají imunomodulační účinky, které mohou mít vliv na progresi a recidivu nádorů.¹⁶ Řada studií prokázala *in vitro* i *in vivo*, jak na zvířecích modelech, tak na lidech, imunosupresivní účinky

opioidů. Opioidy potlačují imunitní funkce prostřednictvím inhibice jak humorální, tak buněčně zprostředkované imunity, ale ne všechny ve stejné míře, nebo stejným způsobem, přičemž nejvíce zkoumaným opiátem je morfin.¹⁷

1.4 Cirkulující nádorové buňky

Cirkulující nádorové buňky jsou buňky, které se uvolňují z primárního nádoru do krevního řečiště pacienta. Proces uvolnění nádorových buněk, jejich intravazace do oběhu, přežití v krevním oběhu a následná extravazace z cirkulace a kolonizace metastatického místa jsou hlavními stupni metastatického procesu a CTCs jsou považovány za základ metastáz.² Nicméně, pravděpodobně pouze jedna z 10 000 CTCs může vytvořit vzdálenou metastázu. Zbývající buňky jsou často mechanicky poškozeny v krevním řečišti, zničeny imunitními buňkami, nebo podlehnou anoikis, tedy programované buněčné smrti, ke které dochází u buněk závislých na ukotvení poté, co jsou odděleny od extracelulární matrix.¹⁸ Životnost buněk v krevním oběhu je obvykle pouze několik hodin od uvolnění a heterogenita nádorů způsobuje značné rozdíly v molekulárních markerech charakterizujících jednotlivé CTCs.¹⁹

Většina nádorů je epitelálního původu, proto nejběžnějším markerem používaným pro detekci CTCs je epitelální adhezní molekula EpCAM (Epithelial cell adhesion molecule). Většina metod detekce a enrichmentu (obohacení) CTCs je založena právě na expresi EpCAM.²

Další významnou skupinou biomarkerů jsou cytokeratiny (cytokeratins, CKs), patřící do rodiny proteinů intermediálních filament. Pro detekci CTCs u metastatického kolorektálního karcinomu se osvědčila detekce CK8/18/19 a CK20.²⁰ U karcinomu prsu jsou nejvíce zastoupeny CK8/18/19 a CK7. Kromě cytokeratinů se pro charakterizaci CTCs u karcinomu prsu používají lidský epidermální receptor 2 (human epidermal receptor 2, HER2) a receptor pro epidermální růstový faktor (epidermal growth factor receptor, EGFR).²¹ U karcinomu pankreatu lze k detekci CTCs využít CK19, CA19-9, karcinoembryonálního antigenu (carcinoembryonic antigen, CEA) a lidské telomerázové reverzní transkriptázy (human telomerase reverse transcriptase, hTERT).²²

Na uvolňování buněk z primárního nádoru do krevního řečiště má vliv také celá řada zevních faktorů, ať již použité vyšetřovací metody jako je biopsie, nebo průběh chirurgické resekce, tak i použitá analgezie.²³ Jak bylo popsáno výše, v klinické praxi se k léčbě bolesti běžně používají různá opioidní analgetika, nejčastěji morfin a piritramid, avšak zatím nebyl prokázán jejich klinický dopad na nádorovou diseminaci. Vzhledem k faktu, že nádorové buňky vykazují změněnou expresi opioidních a kanabinoidních receptorů, podporující buněčnou proliferaci, existuje hypotéza, že terapeuticky podávaná opioidní analgetika mohou ovlivnit nádorovou diseminaci včetně hladin CTCs.

2 Experimentální část

2.1 Cíle práce

Cíl 1: Analýza exprese opioidních a kanabinoidních receptorů v nádorové tkáni kolorektálního karcinomu, karcinomu pankreatu a nemalobuněčného karcinomu plic a její vliv na přežití

Cíl 2: Zhodnocení vlivu použité pooperační analgezie na diseminaci cirkulujících nádorových buněk a na přežití pacientů s kolorektálním karcinomem a karcinomem pankreatu

2.2 Metodika a pacienti

Na retrospektivních souborech pacientů s CRC, PDAC a NSCLC byla analyzována genová exprese receptoru pro opioidní růstový faktor (*OGFR*), opioidních receptorů δ (*OPRD*), κ (*OPRK*), μ (*OPRM*), nociceptinového receptoru (*OPRL*) a kanabinoidních receptorů 1 (*CNR1*) a 2 (*CNR2*) v nádorové tkáni metodou reverzně transkriptázové polymerázové řetězové reakce v reálném čase (real-time RT-PCR) a hodnocen její vliv na délku přežití pacientů. U vybraných pacientů s NSCLC byla imunohistochemicky analyzována také proteinová exprese kanabinoidního receptoru 1 (CB1) a 2 (CB2), a u CRC pak opioidních receptorů μ (MOR) a κ (KOR) v tumoru. Přítomnost CTCs byla detekována na základě exprese specifických markerů (cytokeratin 20 (*CK20*), karcinoembryonální antigen (*CEA*), receptor pro epidermální růstový faktor (*EGFR*), lidská telomerázová reverzní transkriptáza (*hTERT*)) v systémové krvi a kostní dřeni pacientů

s CRC a PDAC. U těchto pacientů byl studován také vliv použité perioperační analgezie na hladiny CTCs a parametry přežití. Genová a proteinová exprese opioidních a kanabinoidních receptorů byla porovnána se stádiem onemocnění, histologií, použitou terapií a s parametry přežití.

2.3 Výsledky

Expresе opioidních (*OGFR*, *OPRM*, *OPRK*, *OPRD*, *OPRL*) a kanabinoidních (*CNR1*, *CNR2*) receptorů byla analyzována v nádorové tkáni 131 pacientů s CRC, 137 pacientů s karcinomem pankreatu a 98 pacientů s NSCLC.

U jednotlivých nádorů jsme pozorovali signifikantní rozdíl v podílu exprese jednotlivých receptorů. Všechny typy opioidních a kanabinoidních receptorů měly výrazně nižší podíl exprese u pacientů s CRC. Nejvyšší podíl pozitivní exprese byl pozorován u NSCLC pro všechny receptory s výjimkou *OPRM*, který měl nejvyšší podíl pozitivní exprese u PDAC.

Zvýšená exprese genu *CNR2* v nádorové tkáni u pacientů s NSCLC a PDAC signifikantně korelovala s delší dobou přežití. Genová exprese *CNR2* a *CNR1* byla hodnocena v párových vzorcích nádorových a nenádorových plicních tkání v nezávislé kohortě 10 pacientů s NSCLC. Bylo zjištěno, že oba *CNR1* ($p=0,008$) a *CNR2* ($p=0,056$) geny byly exprimovány v nižších hladinách ve vzorcích nádorové tkáně než v plicní tkáni bez nádoru.

Delší doba přežití byla u NSCLC pozorována také u nádorové exprese genu *OPRL*, a u PDAC pro *OGFR*.

Analýza přežití neprokázala statisticky signifikantní vliv exprese analyzovaných opioidních a kanabinoidních receptorů v nádorové tkáni na přežití pacientů s CRC. Nicméně v případě CRC byl pozorován pozitivní vliv piritramidové perioperační analgezie na délku přežití bez relapsu ve srovnání s morfinovou analgezií.

Zjistili jsme, že u CRC pacientů s přítomností *CK20* pozitivních cirkulujících nádorových buněk perioperační podání piritramidu zlepšilo významně přežití do relapsu (TTR) ve srovnání s pacienty analgetizovanými morfinem. Naopak, u pacientů s PDAC vedla ke zlepšení CSS morfinová analgezie ve srovnání s piritramidovou analgezií.

2.4 Diskuse

V předkládané disertační práci byl hodnocen vliv exprese opioidních a kanabinoidních receptorů a efekt opioidních analgetik na hladinu cirkulujících nádorových buněk u pacientů s kolorektálním karcinomem, karcinomem pankreatu a karcinomem plic a na jejich parametry přežití.

Naše práce prokázala vysokou expresi genu *CNR2* ve tkáni PDAC, v souladu s výsledky Michalského et al. (2008).²⁴ Na rozdíl od jejich zjištění jsme však pozorovali nízkou expresi genu *CNR1* a OS bylo zvýšeno pouze vysokou expresí *CNR2*, nikoli *CNR1*.²⁴ Dále jsme zjistili, že celkové přežití (OS) bylo delší u PDAC pacientů, jejichž nádory se vyznačovaly nejen vysokou

expresí genu *CNR2*, ale také *OGFR*, a nízkou expresí genu *OPRD*. Zagon et al. zjistili, že vazba OGF na receptor OGFR potlačuje růst PDAC buněk v kultuře i u nahých myší. Modulace dráhy OGF-OGFR tak může mít potenciálně terapeutický účinek u pacientů s karcinomem pankreatu.^{25,26}

Pozitivní vliv exprese *CNR2* na délku přežití jsme pozorovali také u plicního karcinomu.²⁷ Zjistili jsme také, že pozitivní účinky exprese genu *CNR2* na OS, CSS a DFS u NSCLC jsou nezávislé na jiných prognostických ukazatelích. To naznačuje, že jeho pozitivní účinky souvisejí se zvýšením transkripce genu *CNR2*, a/nebo stability mRNA, endogenními kanabinoidy, a/nebo jinými agonisty, protože nádory s vyšší expresí genu *CNR2* (a produkcí receptoru CB2) pravděpodobně na takové látky reagují lépe. Tato hypotéza je podpořena několika poznatky. Za prvé, Ravi et al. (2014) prokázali, že kombinovaná léčba přirozeným agonistou kanabinoidního receptoru anandamidem a inhibitorem hydrolázy amidu mastných kyselin (FAAH; anandamid inaktivující enzym) snižuje motilitu, migraci a invazivitu buněk NSCLC. Kombinovaná léčba anandamidem a inhibitorem FAAH také indukuje zástavu buněčného cyklu G0/G1, což vede k apoptóze buněk NSCLC.²⁸

V našich kohortách pacientů s kolorektálním karcinomem a karcinomem pankreatu jsme analyzovali metodou RT-PCR vliv podané analgezie na diseminaci cirkulujících nádorových buněk. Přítomnost *CK20* pozitivních CTCs v periferní krvi a kostní dřeni byla u pacientů s kolorektálním karcinomem spojena s kratší dobou přežití (time to recurrence, TTR). Přítomnost CTCs je spojována s agresivnějšími formami nádorů a horší prognózou. Výzkumy ukazují, že přítomnost *CK20*

pozitivních CTCs je často spojena s vyšší mírou metastáz, pokročilejšími stadii onemocnění a nižší diferenciací nádorových buněk, což jsou faktory přispívající ke zkrácení přežití pacientů.²⁹

Dále byl hodnocen možný vliv analgezie na délku přežití pacientů s CRC a přítomnost CTCs v krvi. Zjistili jsme, že CRC pacienti, kterým byl perioperačně podáván převážně morfin (morfin a piritramid v poměru 80:20) měli signifikantně kratší TTR než CRC pacienti, kteří byli analgetizováni piritramidem. Je tedy možné, že piritramid inhibuje proliferaci a migraci buněk kolorektálního karcinomu, nebo způsobuje jejich apoptózu. Naopak, byly publikovány práce o negativním vlivu morfinu na imunitní systém³⁰ a zároveň o jeho schopnosti aktivovat dráhu EGFR, MAPK, ERK, Akt a PI3K, prostřednictvím aktivace MOR, ale také stimulovat uvolňování VEGF, čímž podporuje proliferaci a migraci nádorových buněk a angiogenezi.^{5,6}

Podobně jako u pacientů s CRC jsme i u pacientů s PDAC analyzovali vliv použité analgezie na délku přežití. Zjistili jsme, že morfinová analgezie u pacientů po radikální operaci karcinomu pankreatu zlepšuje (na rozdíl od CRC) nádorově specifické přežití (CSS) ve srovnání s piritramidovou analgezií. Pokud je nám známo, jedná se o první studii popisující přínosy morfinové analgezie na přežití ve srovnání s piritramidovou analgezií po radikální operaci PDAC a také o první studii popisující vliv exprese genů *CNR2* a *OGFR* na délku přežití u pacientů s PDAC.²³

3 Souhrn

V úvodní teoretické části této práce je popsána role opioidních a kanabinoidních receptorů v aktivaci buněčných signálních drah ovlivňujících schopnost proliferace, angiogeneze a metastazování. Dále je popsán vliv opioidních analgetik a operačních technik na uvolňování cirkulujících nádorových buněk (CTCs) a na nádorovou diseminaci u pacientů se solidními nádory. Podrobně jsou popsány aspekty detekce CTCs a vliv CTCs na prognózu pacientů s karcinomem plic, kolorekta a pankreatu.

Praktická část se zabývá analýzou exprese opioidních a kanabinoidních receptorů v nádorové tkáni pacientů s karcinomem pankreatu, kolorekta a nemalobuněčným karcinomem plic, kdy byl hodnocen vliv exprese receptorů na parametry přežití. Parametry přežití byly dále hodnoceny v souvislosti s typem použité perioperační analgezie a dle přítomnosti cirkulujících nádorových buněk.

Zjistili jsme, že zvýšená exprese genu *CNR2* v nádorové tkáni u pacientů s NSCLC a PDAC signifikantně korelovala s delší dobou přežití. Podobný vliv byl u NSCLC pozorován také u nádorové exprese genu *OPRL*, a u PDAC pro *OGFR*. V případě CRC byl pozorován pozitivní vliv piritramidové perioperační analgezie na délku přežití bez relapsu ve srovnání s morfinovou analgezií. Zjistili jsme, že u CRC pacientů s přítomností *CK20* pozitivních cirkulujících nádorových buněk perioperační podání piritramidu zlepšilo významně přežití do relapsu (TTR) ve srovnání s pacienty analgetizovanými morfinem. Naopak, rozdílná exprese opioidních a kanabinoidních receptorů v tkáni

adenokarcinomu pankreatu, vedla u pacientů s PDAC ke zlepšení CSS morfinová analgezie ve srovnání s piritramidovou analgezií.

Předkládaná práce poskytuje výsledky, které by mohly vést ke změně perioperační analgezie v onkochirurgii a také k objevu nových terapeutických cílů.

4 Použitá literatura

1. Jemal, A. *et al.* Global cancer statistics. *CA. Cancer J. Clin.* **61**, 69–90 (2011).
2. Lin, D. *et al.* Circulating tumor cells: biology and clinical significance. *Signal Transduct. Target. Ther.* **6**, 404 (2021).
3. Ferry, J. *et al.* Research priorities in regional anaesthesia: an international Delphi study. *Br. J. Anaesth.* **132**, 1041–1048 (2024).
4. Peng, J., Sarkar, S. & Chang, S. L. Opioid receptor expression in human brain and peripheral tissues using absolute quantitative real-time RT-PCR. *Drug Alcohol Depend.* **124**, 223–228 (2012).
5. Fujioka, N. *et al.* Morphine-Induced Epidermal Growth Factor Pathway Activation in Non–Small Cell Lung Cancer. *Anesth. Analg.* **113**, 1353–1364 (2011).
6. Gupta, K. *et al.* Morphine stimulates angiogenesis by activating proangiogenic and survival-promoting signaling and promotes breast tumor growth. *Cancer Res.* **62**, 4491–4498 (2002).
7. Tegeder, I. *et al.* G protein-independent G1 cell cycle block and apoptosis with morphine in adenocarcinoma cells: involvement of p53 phosphorylation. *Cancer Res.* **63**, 1846–1852 (2003).
8. Li, A., Xin, W. & Ma, C. Fentanyl inhibits the invasion and migration of colorectal cancer cells via inhibiting the negative regulation of Ets-1 on BANCRC. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **465**, 594–600 (2015).
9. Ryberg, E. *et al.* Identification and characterisation of a novel splice variant of the human CB1 receptor. *FEBS Lett.* **579**, 259–264 (2005).
10. Liu, Q. -R. *et al.* Species differences in cannabinoid receptor 2 (*CNR2* gene): identification of novel human and rodent CB2 isoforms, differential tissue expression and

- regulation by cannabinoid receptor ligands. *Genes Brain Behav.* **8**, 519–530 (2009).
11. Atwood, B. K. & Mackie, K. CB₂: a cannabinoid receptor with an identity crisis. *Br. J. Pharmacol.* **160**, 467–479 (2010).
 12. Turu, G. & Hunyady, L. Signal transduction of the CB1 cannabinoid receptor. *J. Mol. Endocrinol.* **44**, 75–85 (2010).
 13. Pennant, N. M. & Hinton, C. V. The evolution of cannabinoid receptors in cancer. *WIREs Mech. Dis.* **15**, e1602 (2023).
 14. Tutino, V. *et al.* Down-Regulation of Cannabinoid Type 1 (CB1) Receptor and its Downstream Signaling Pathways in Metastatic Colorectal Cancer. *Cancers* **11**, 708 (2019).
 15. Heaney, Á. & Buggy, D. J. Can anaesthetic and analgesic techniques affect cancer recurrence or metastasis? *Br. J. Anaesth.* **109**, i17–i28 (2012).
 16. Afsharimani, B., Cabot, P. J. & Parat, M.-O. Morphine Use in Cancer Surgery. *Front. Pharmacol.* **2**, (2011).
 17. Ash, S. A. & Buggy, D. J. Does regional anaesthesia and analgesia or opioid analgesia influence recurrence after primary cancer surgery? An update of available evidence. *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* **27**, 441–456 (2013).
 18. Wang, L. *et al.* 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 (2018).
 19. Bankó, P. *et al.* Technologies for circulating tumor cell separation from whole blood. *J. Hematol. Oncol. J Hematol Oncol* **12**, 48 (2019).
 20. Welinder, C., Jansson, B., Lindell, G. & Wenner, J. Cytokeratin 20 improves the detection of circulating

- tumor cells in patients with colorectal cancer. *Cancer Lett.* **358**, 43–46 (2015).
21. Shao, M.-M. *et al.* Keratin expression in breast cancers. *Virchows Arch.* **461**, 313–322 (2012).
 22. Al-Shaheri, F. N. *et al.* Blood biomarkers for differential diagnosis and early detection of pancreatic cancer. *Cancer Treat. Rev.* **96**, 102193 (2021).
 23. Vecera, L. *et al.* Morphine Analgesia, Cannabinoid Receptor 2, and Opioid Growth Factor Receptor Cancer Tissue Expression Improve Survival after Pancreatic Cancer Surgery. *Cancers* **15**, 4038 (2023).
 24. Michalski, C. W. *et al.* Cannabinoids in pancreatic cancer: Correlation with survival and pain. *Int. J. Cancer* **122**, 742–750 (2008).
 25. Zagon, I. S. Opioid growth factor and the treatment of human pancreatic cancer: A review. *World J. Gastroenterol.* **20**, 2218 (2014).
 26. Zagon, I. S., Rahn, K. A. & McLaughlin, P. J. Opioids and migration, chemotaxis, invasion, and adhesion of human cancer cells. *Neuropeptides* **41**, 441–452 (2007).
 27. Vidlarova, M. *et al.* Cannabinoid receptor 2 expression in early-stage non-small cell lung cancers identifies patients with good prognosis and longer survival. *Transl. Lung Cancer Res.* **11**, 2040–2050 (2022).
 28. Ravi, J., Sneh, A., Shilo, K., Nasser, M. W. & Ganju, R. K. FAAH inhibition enhances anandamide mediated anti-tumorigenic effects in non-small cell lung cancer by downregulating the EGF/EGFR pathway. *Oncotarget* **5**, 2475–2486 (2014).
 29. Luo, H.-T., Liang, C.-X., Luo, R.-C. & Gu, W.-G. Identification of relevant prognostic values of cytokeratin 20 and cytokeratin 7 expressions in lung cancer. *Biosci. Rep.* **37**, BSR20171086 (2017).

30. Wang, L., Lankhorst, L. & Bernards, R. Exploiting senescence for the treatment of cancer. *Nat. Rev. Cancer* **22**, 340–355 (2022).

5 Publikační aktivita

Publikace související s disertační prací

VIDLAROVA M., BERTA E., PRASIL P., PROKOPOVA A., GURSKA S., KHOYLOU M., REHULKOVA A., KOURILOVA P., CHUDACEK J., SZKORUPA M., KLEIN J., SKARDA J., SROVNAL J., HAJDUCH M. Cannabinoid receptor 2 expression in early-stage non-small cell lung cancers identifies patients with good prognosis and longer survival. *Transl Lung Cancer Res.* **2022**, 11(10), 2040-2050. *IF (2022): 4,0.* (Příloha 1)

VECERA L., PRASIL P., SROVNAL J., BERTA E., **VIDLAROVA M.**, GABRHELIK T., KOURILOVA P., LOVECEK M., SKALICKY P., SKARDA J., KALA Z., MICHALEK P., HAJDUCH M. Morphine analgesia, cannabinoid receptor 2, and opioid growth factor receptor cancer tissue expression improve survival after pancreatic cancer surgery. *Cancers.* **2023**; 15, 4038. *IF (2023): 4,5.* (Příloha 2)

VIDLAROVA M., REHULKOVA A., STEJSKAL P., PROKOPOVA A., SLAVIK H., HAJDUCH M., SROVNAL J. Recent advances in methods for circulating tumor cell detection. *Int J Mol Sci.* **2023**; 24, 3902. *IF (2023): 4,9.* (Příloha 3)

Publikace v recenzovaných časopisech

REHULKOVA A., CHUDACEK J., PROKOPOVA A., **VIDLAROVA M.**, STRANSKA J., DRABEK J., POTOCKOVA J., TROJANEC R., VRBKOVA J., SKARDA J., BOHANES T., SZKORUPA M., TOLMACI B., KLEIN J., SROVNAL J., HAJDUCH M. Clinical and prognostic significance of detecting CEA, EGFR, LunX, c-met and EpCAM mRNA-positive cells in the peripheral blood, tumor-draining

blood and bone marrow of non-small cell lung cancer patients. *Transl Lung Cancer Res.* **2023**; 12(5):1034-1050. *IF (2023): 4,0.*

SLAVÍK H., BALIK V., VRBKOVÁ J., ŘEHULKOVÁ A., VEVERKA M., HRABÁLEK L., EHRMANN J., **VIDLAŘOVÁ M.**, GURSKÁ S., HAJDÚCH M., SROVNAL J. Identification of meningioma patients at high risk of tumor recurrence using MicroRNA profiling. *Neurosurgery.* **2020**, 87(5), 1055-1563. *IF (2020): 4,65.*

GHOTHIM, M., SROVNAL J., BÉBAROVÁ L., TESAŘÍKOVÁ J., SKALICKÝ P., KLOS D., PROKOPOVÁ A., **VAHALÍKOVÁ M.**, SLAVÍK H., VRBKOVÁ J., NEORAL C., HAVLÍK P., HAJDÚCH M. a LOVEČEK M. Determination of CEA, EGFR and hTERT expression in peritoneal lavage in patients with pancreatic adenocarcinoma using RT - PCR method. *Rozhledy v chirurgii.* **2015**, 94(11), 464-9. ISSN 0035-9351. *Recenzovaný článek v češtině.*

Aktivní účast na konferencích s publikovanými abstrakty

VIDLAROVA M., SROVNAL J., BERTA E., VECERA L., PRASIL P., GABRHELIK T., LOVECEK M., SKALICKY P., SKARDA J., KOURILOVA P., HAJDUCH M. Morphine analgesia, opioid growth factor receptor and cannabinoid receptor 2 gene expression in tumor tissue improve survival of patients with pancreatic cancer. 18th Czech Annual Cancer Research Meeting: Abstract Book. Olomouc, 20. 11. – 22. 11. **2023**, Olomouc, Česká republika. ISBN: 978-80-908348-2-8.

VIDLAROVA M., J. SROVNAL, E. BERTA, P. SKALICKY, K. VYSLOUZIL, P. PRASIL, S. GURSKA, A. REHULKOVA, K. JECMENOVA, P. KOURILOVA, M. HAJDUCH. Effect of opioid

analgesia on presence of circulating/disseminated tumor cells and survival of patients after radical colorectal cancer surgery – retrospective study. 6th Advances in Circulating Tumor Cells **2023**: Abstract Book. Skiathos, 20. 9. – 23. 9. 2023, Skiathos, Řecko.

VIDLAROVA M., J. SROVNAL, E. BERTA, S. GURSKA, A. REHULKOVA, P. KOURILOVA, M. HAJDUCH. Effect of opioid and cannabinoid receptors gene expression on survival of patients with colorectal cancer. 17th Czech Annual Cancer Research Meeting: Abstract Book. Olomouc, 1. 12. – 2. 12. **2022**, Olomouc, Česká republika. ISBN: 978-80-908348-1-1.

VIDLAROVA, M., J. SROVNAL, E. BERTA, S. GURSKA, A. REHULKOVA, P. KOURILOVA, M. HAJDUCH. Effect of opioid and cannabinoid receptors gene expression on survival of patients with colorectal cancer. AACR Annual Meeting 2023: Abstract Book. Orlando, 14. 4. – 19. 4. **2023**, Orlando, Florida, USA.

VIDLAROVA M., SROVNAL J., BERTA E., GURSKA S., REHULKOVA A., KOURILOVA P., HAJDUCH M. Effect of opioid and cannabinoid receptors gene expression on survival of patients with colorectal cancer. 17th Czech Annual Cancer Research Meeting: Abstract Book, Olomouc, 1. 12. - 2. 12. **2022**, Olomouc, Česká Republika. ISSN 2788-1695.

VIDLAŘOVÁ M., SROVNAL J., BERTA E., VEČEŘA L., GURSKÁ S., ŘEHULKOVÁ A., KOUŘILOVÁ P., HAJDÚCH M. Vliv exprese opioidních a kanabinoidních receptorů na přežití pacientů s karcinomem pankreatu. XXV. Biologické dny: Abstrakt přednášek a posterů, Brno, 5. 9. – 6. 9. **2022**, Brno, Česká republika. ISSN 1805-9619.

VIDLAŘOVÁ, M., J. SROVNAL, E. BERTA, P. PRÁŠIL, A. PROKOPOVÁ, S. GURSKÁ, A. ŘEHULKOVÁ, J. VRBKOVÁ, M. HAJDÚCH. Vliv exprese opioidních a kanabinoidních receptorů na přežití pacientů s kolorektálním karcinomem. 9. pražské mezioborové onkologické kolokvium: Abstract Book. Praha, 24. 1. – 26. 1. **2018**, Praha, Česká republika. ISBN: 978-80-87339-36-7

VIDLAŘOVÁ, M., J. SROVNAL, E. BERTA, P. PRÁŠIL, A. PROKOPOVÁ, S. GURSKÁ, A. ŘEHULKOVÁ, J. VRBKOVÁ, M. HAJDÚCH. Expres opioidních a kanabinoidních receptorů ovlivňuje přežití pacientů s kolorektálním karcinomem. 42. Brněnské onkologické dny a 32. Konference pro nelékařské zdravotnické pracovníky: Abstract Book. Brno, 16. 5. – 18. 5. **2018**, Brno, Česká republika. ISSN: 1802-5307

VIDLAROVA, M., J. SROVNAL, E. BERTA, P. PRASIL, A. PROKOPOVA, S. GURSKA, A. REHULKOVA, J. VRBKOVA, M. HAJDUCH. The opioid and cannabinoid receptors expression affects survival of colorectal cancer patients. XIII. DDPEO: Abstract Book, Olomouc, 28. 11. – 30. 11. **2017**, Olomouc, Česká republika. ISSN 2336-8284

VAHALÍKOVÁ M., SROVNAL J., BERTA E., PROKOPOVÁ A., GURSKÁ S., ŘEHULKOVÁ A., VRBKOVÁ J., PRÁŠIL P., KLEIN J., HAJDÚCH M. Vliv nádorové exprese kanabinoidních receptorů 1 a 2 na přežití pacientů s nemalobuněčným karcinomem plic. Sborník abstrakt, XLI. Brněnské onkologické dny a XXXI. Konference pro nelékařské zdravotnické pracovníky. 26. - 28. 4. **2017**, Brno. Klinická onkologie, ročník 30, 2017, sup.1. ISSN 0862-495X.

VAHALIKOVA M., SROVNAL J., BERTA E., PROKOPOVA A., GURSKA S., CHASOVSKYKH A., VRBKOVA J., HAJDUCH M. Differences in the cannabinoid and opioid receptors expression in colorectal and pancreatic cancer. Poster presentation abstracts, 20. - 21. 10. **2016**, London, UK.

VAHALIKOVA M., SROVNAL J., BERTA E., PROKOPOVA A., GURSKA S., REHULKOVA A., VRBKOVA J., PRASIL P. Cannabinoid receptors expression affects NSCLC patients' survival. Abstract book, 30. 11. – 1. 12. **2016**, Olomouc. ISSN 2336-8284

VAHALÍKOVÁ M., SROVNAL J., PROKOPOVÁ A., GURSKÁ S., CHASOVSKYKH A., VRBKOVÁ J., HAJDÚCH M. Differences in the opioid receptors expression in colorectal and pancreatic cancer. XL. Brněnské onkologické dny a XXX. Konference pro nelékařské zdravotnické pracovníky: Klinická onkologie: sborník abstrakt. Brno, 27.-29. dubna 2016. Brno: Masarykův onkologický ústav, **2016**. ISSN 1802-5307

VAHALÍKOVÁ M., SROVNAL J., GURSKÁ S., CHASOVSKYKH A., VRBKOVÁ J., HAJDÚCH M. The expression of opioid receptors in colorectal and pancreatic cancer. 7. pražské mezioborové onkologické kolokvium: Prague Onco Journal, Praha 25. - 27. ledna **2016**. Praha: 1. LF UK a onkologické kliniky VFN ve spolupráci s 2. a 3. LF UK, 2016. ISSN 1804-2252.

VAHALÍKOVÁ M., SROVNAL J., BERTA E., PRÁŠIL P., PROKOPOVÁ A., VRBKOVÁ J., HAJDÚCH M. The influence of opioid analgesia for the presence of circulating tumor cells in colorectal and pancreatic cancer. XI. Diagnostic, Predictive and Experimental Oncology Days: abstract book. Olomouc 2. - 3.

December **2015**. Olomouc: Institute of Molecular and Translational Medicine, 2015. ISBN 978-80-260-8368-9.

VAHALÍKOVÁ M., SROVNAL J., BERTA E., PRÁŠIL P., PROKOPOVÁ A., VRBKOVÁ J., HAJDÚCH M. Vliv opioidní analgezie na přítomnost cirkulujících nádorových buněk u nádorů tlustého střeva a pankreatu. Sborník abstrakt, Brněnské onkologické dny a XXXIX. Konference pro nelékařské zdravotnické pracovníky. Brno, 8.-10. dubna 2015. Brno: Masarykův onkologický ústav, **2015**, ISBN 978-80-86793-32-0.