

## LYSOFOSFATIDOVÁ KYSELINA U PACIENTEK S OVARIÁLNÍM KARCINOMEM

## LYSOPHOSPHATIDIC ACID IN OVARIAN CARCINOMA PATIENTS

SEDLÁKOVÁ I.<sup>1</sup>, VÁVROVÁ J.<sup>2</sup>, TOŠNER J.<sup>1</sup>, HANOUSEK L.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>PORODNICKÁ A GYNEKOLOGICKÁ KLINIKA LFUK A FN HRADEC KRÁLOVÉ

<sup>2</sup>ÚSTAV KLINICKÉ BIOCHEMIE A DIAGNOSTIKY LFUK A FN HRADEC KRÁLOVÉ

<sup>3</sup>GYNEKOLOGICKO - PORODNICKÉ ODDĚLENÍ NEMOCNICE V PARDUBICÍCH

**Souhrn:** *Východisko:* Lysofosfatidová kyselina (LPA, 1-acyl-2-lyso-sn-glycero-3-fosfát) byla prokázána ve vyšších koncentracích u pacientek s ovariálním karcinodem. LPA vykazuje vyšší senzitivitu zejména v časných stádiích ovariálního karcinomu. *Typ studie a soubor:* Cílem projektu bylo zhodnocení plazmatických hodnot lysofosfatidové kyseliny u pacientek s ovariálním karcinodem ve srovnání s pacientkami bez tohoto novotvaru. *Metody a výsledky:* Po zavedení metodiky ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové v roce 2003 jsme LPA stanovovali pomocí vysokoúčinné kapilární elektroforézy s nepřímou UV detekcí. Tato metoda umožňuje stanovit jednotlivé podtypy LPA. Venózní krev byla odebrána u 93 pacientek - 29 pacientek s ovariálním karcinodem, 64 pacientek bez ovariálního karcinomu. Zjistili jsme signifikantně vyšší hodnoty všech podtypů lysofosfatidové kyseliny ve skupině pacientek s ovariálním karcinodem ( $\Sigma$  LPA med 19,9  $\mu\text{mol/l}$ , min 4,5  $\mu\text{mol/l}$ , max 42,7  $\mu\text{mol/l}$ ,  $p < 0,001$ ). Statisticky významně nižší hodnoty jsme diagnostikovali jak u pacientek bez patologie na obou ovariích ( $n=35$ ) ( $\Sigma$  LPA med 2,6  $\mu\text{mol/l}$ , min 0,9  $\mu\text{mol/l}$ , max 22,9  $\mu\text{mol/l}$ ,  $p < 0,001$ ), tak u pacientek s histologicky prokázanou benigní ovariální cystou ( $n=20$ ) ( $\Sigma$  LPA med 10,4  $\mu\text{mol/l}$ , min 1,1  $\mu\text{mol/l}$ , max 28,8  $\mu\text{mol/l}$ ,  $p < 0,001$ ). *Závěr:* Dosavadní výsledky ukazují lysofosfatidovou kyselinu jako perspektivní nádorový marker u pacientek s ovariálním karcinodem.

**Klíčová slova:** ovariální karcinom, lysofosfatidová kyselina, onkomarker

**SUMMARY:** *Backgrounds:* Lysophosphatidic acid (LPA, 1-acyl-2-lyso-sn-glycero-3-phosphate) has been shown to stimulate proliferation of ovarian cancer cells. Elevated LPA levels were detected in early-stage ovarian cancer. *Design and subjects:* The objective of this study was to compare plasma lysophosphatidic acid levels in ovarian cancer patients and patients without this disease. *Methods and results:* The method for LPA level analysis with specification by capillary electrophoresis using indirect ultraviolet detection has been implemented. Since beginning of this project venous blood samples from 93 patients (29 patients with ovarian cancer, 64 patients without ovarian cancer) have been obtained. Plasma LPA levels were elevated in ovarian cancer patients ( $\Sigma$  LPA med 19,9  $\mu\text{mol/l}$ , range 4,5 - 42,7  $\mu\text{mol/l}$ ,  $p < 0,001$ ). Patients without ovarian pathology ( $n=35$ ) ( $\Sigma$  LPA med 2,6  $\mu\text{mol/l}$ , min 0,9  $\mu\text{mol/l}$ , max 22,9  $\mu\text{mol/l}$ ,  $p < 0,001$ ) and patients with benign ovarian disease ( $n=20$ ) ( $\Sigma$  LPA med 10,4  $\mu\text{mol/l}$ , min 1,1  $\mu\text{mol/l}$ , max 28,8  $\mu\text{mol/l}$ ,  $p < 0,001$ ) had statistically significant lower plasma LPA levels compared with ovarian cancer patients. *Conclusions:* Our preliminary results suggest that plasma LPA level may represent a potential ovarian cancer marker.

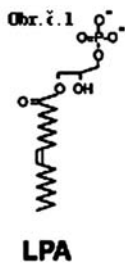
**Key words:** ovarian cancer, lysophosphatidic acid, marker

### Úvod

Incidence ovariálního karcinomu vykazuje v České republice prokazatelný vzestup. V roce 1979 bylo v České republice zachyceno 796 případů, to je 14,9 na 100000 žen, v roce 1994 byl záchyt již 1090 případů, což odpovídá relativní incidenci 20,5/100 000 (1). Trend standardizované úmrtnosti se za posledních 25 let téměř nezměnil. Pětileté přežití u pacientek s ovariálním karcinodem diagnostikovaném ve stadiu IA se uvádí 90% a u II. stadia 70%, u stadia III 15-25% a stadia IV 5-10% (2). U 75% žen s karcinodem ovaria je však nádorové onemocnění zjištěno až v pokročilém stadiu. To je dáno především omezenou schopností detekovat tumor v časném stadiu a dále nedostatkem efektivní terapie pokročilých nádorů.

Časná diagnostika je vzhledem k asymptomatickému průběhu onemocnění velice obtížná a do dnešní doby nemáme k dispozici žádnou efektivní metodu pro časnou detekci. Dnes nejčastěji užívaným nádorovým markerem karcinomu ovaria je glykoprotein Ca 125. Zvýšené plazmatické hladiny Ca 125 nejsou však specifické pouze pro ovariální karcinom a vyskytují se mimo jiné i u pacientek s negynekologickými malignitami, endometriózou, adenomyózou, salpingitidou (3). Pouze 45-50% ve stadiu I má zvýšené Ca 125. Proto jsou hledány nové nádorové markery (4). Velmi perspektivní se ukazuje lysofosfatidová kyselina (LPA). Plazmatická koncentrace LPA je zvýšena u 98% všech pacientek s karcinodem ovaria, včetně 90% pacientek s onemocněním v I. stadiu (5). Lys-

ofosfatidová kyselina je zvýšená v plazmě a ascitu pacientek s ovariálním karcinomem (6). Lysofosfatidová kyselina (1-acyl-2-lyso-sn-glycero-3-fosfát) je nejjednodušší formou fosfolipidu a její koncentrace v plazmě je fyziologicky velmi nízká. LPA je produkována maligním ovariálním epitelem a aktivuje zde množství biologických odpovědí zahrnující zvýšení buněčné proliferace, zvýšení doby přežití snížením apoptózy, pokles senzitivity k cis- platině, zvýšení invazivity nádorových buněk, zvýšení produkce vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) a zvyšuje produkci sebe sama (7). LPA nezpůsobuje podobné odpovědi na zdravých buňkách povrchového epitelu ovaria. Různý efekt LPA na normální ovariální epitel ve srovnání s ovariálními nádorovými buňkami je pravděpodobně důsledkem různé exprese LPA receptorů (8, 9). Bioaktivní lipid LPA zásadně ovlivňuje chování karcinomu ovaria (9).



Obr. č. 1 - Chemická struktura lysofosfatidové kyseliny

### Cíl práce

Hlavním cílem projektu bylo přispět ke zvýšení efektivity diagnostiky ovariálního karcinomu a umožnění záchytu časných stadií tohoto novotvaru prostřednictvím stanovení hladiny lysofosfatidové kyseliny v plazmě. V roce 2003 jsme ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové zavedli metodiku stanovení lysofosfatidové kyseliny v plazmě u pacientek s ovariálním karcinomem pomocí vysokoúčinné kapilární elektroforézy s nepřímou UV detekcí. Specifikovali jsme jednotlivé podtypy lysofosfatidové kyseliny. Zhodnotili jsme rozdíl hladiny LPA u pacientek s ovariálním karcinomem a žen zdravých. Zjišťovali jsme význam hladiny LPA v plazmě v souvislosti se stadiem onemocnění, histologickým typem nádoru a stupněm diferenciaci. Nejvýznamnějším momentem tohoto projektu je posouzení možnosti využití stanovení hladiny LPA v plazmě jako nového nádorového markeru v diagnostice ovariálního karcinomu.

### Metodika

Pro stanovení hladiny LPA jsme použili vysokoúčinnou kapilární elektroforézu s nepřímou UV detekcí. Tato metoda poskytuje možnost stanovení jednotlivých podtypů lysofosfatidové kyseliny v biologickém materiálu. Jedná se o: LPA(M) 1-myristoyl-2-hydroxy- sn-glycerofosfatidovou kyselinu, LPA(P) 1-palmitoyl-2-hydroxy- sn-glycerofosfatidovou kyselinu, LPA(S) 1-stearoyl-2-hydroxy- sn-glycerofosfatidovou kyselinu a LPA(O) 1-oleoyl-2-hydroxy- sn-glycerofosfatidovou kyselinu.

### Přístrojové vybavení

Pro separaci byl použit systém pro kapilární elektroforézu (P/A-CE 5510, Beckman Ins., USA) se softwarovým systémem Gold (Beckman Ins., USA). Přístroj využíval on-line UV detektor (Beckman Ins., USA), pracoval při teplotě 25°C. Vzorky byly dávkovány tlakem 3,45 kPa po dobu 5 s. Separace probíhala při vložení napětí 25 kV (normální polarita s katodou na výstupu). K analýze byla použita otevřená neupravená křemenná kapilára (Watrex, ČR), délka 47 cm o vnitřním průměru 75 μm. Nová kapilára byla před prvním použitím kondicionována po dobu 1 hod. 0,1 mol/l roztokem NaOH, 20 min. deionizovanou vodou, 20 min. metanolem a 30 min. separačním pufrem. Denně byla kapilára promývána 0,1 mol/l NaOH po dobu 5 min., deionizovanou vodou 2 min. a separačním pufrem po dobu 15 minut.

### Chemikálie a použité materiály

Standardy lysofosfatidových kyselin (syntetické, čistota >99 %) : 1-Oleoyl-2-Hydroxy- sn-Glycero-3-[Phospho- rac-(1-glycerol)] sodná sůl (LPG(O)), 1-Oleoyl-2-Hydroxy- sn-Glycero-3-Phosphate sodná sůl (LPA(O)), 1-Oleoyl-2-Hydroxy- sn-Glycero-3-Phosphoethanolamine (LPE (O)), 1-Myristoyl- 2- Hydroxy - sn-

Glycero-3-Phosphate sodná sůl (LPA(M)), 1-Palmitoyl-2-Hydroxy- sn-Glycero-3-Phosphate sodná sůl (LPA (P)), 1-Stearoyl-2-Hydroxy- sn-Glycero-3-Phosphate sodná sůl (LPA(S)), 1-Palmitoyl-2-Hydroxy- sn-Glycero-3-Phosphoethanolamine (LPE (P)), 1-Palmitoyl-2-Hydroxy- sn-Glycero-3-[Phospho- rac-(1-glycerol)] sodná sůl (LPG (P)) a 1-Oleoyl-2-Hydroxy- sn-Glycero-3-[Phospho-L-Serine] sodná sůl (LPS (O)) byly dodány firmou Avanti Polar Lipids, Inc. (USA). Adenosin-5-monofosfát-monohydrát (AMP, Sigma-Aldrich, SRN), metanol (p.a., Lachema, ČR), kyselina boritá (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, p.a., Lachema, ČR), NaOH p.a. (Lachema, ČR), fólie TLC POLY SIL 20x20 cm (Macherey-Nagel, SRN). Vodné roztoky byly připravovány rozpouštěním substancí v deionizované vodě (R >18 MW, Millipore-milli-Q plus, Francie). Zásobní roztoky standardů byly připraveny rozpuštěním standardu ve směsi metanol-chloroform (2:1 v/v) s koncentrací 5 mmol/l jednotlivých kyselin. Pracovní standardy byly připraveny vždy čerstvě ředěním ze zásobního roztoku.

### Příprava vzorků a jejich analýza

Pro extrakce vzorků bylo nutno zajistit teplotu 0-4°C, aby se minimalizovala tvorba esterových vazeb. K výchozímu objemu biologického materiálu (1 ml séra) se přidalo 50 μl pracovního roztoku standardní směsi přídavek LPA (S), LPA (P), LPA(O), LPA (M) a LPA (D), ke směsi se pipetovalo 0,2 ml 12 mol/l HCl a 4 ml směsi metanol-chloroform (2:1). Po 10 min. třepání v chladu se přidával 1 ml chloroformu a 1,25 ml vody. Po centrifugaci (10 min/1000 g) se spodní vrstva odtáhla a odpařila pod dusíkem na objem cca 50 μl, takto koncentrovaný extrakt se nanášel na desku pro tenkovrstvou chromatografii, aby došlo k oddělení fosfolipidů od lysofosfatidových kyselin (LPA). Využíjící soustavou byla směs: chloroform - metanol - amoniak (65:35:5,5 v/v/v), separace byla na startu vizualizována postřikem 0,1% 8-anilino-1-naftalensulfonovou kyselinou. Spot LPA se detekoval postřikem vodou, extrahoval se z chromatografické desky, extrakt se odpařil pod dusíkem, odpárek se poté rozpustil v 1 ml 5% roztoku separačního pufru ve směsi metanol-voda (9:1 v/v) a aplikoval se do systému kapilární elektroforézy. Separace probíhala v separačním pufru 5 mmol/l adenosin-5-monofosfát-monohydrátu s 10 mmol/l kyseliny borité (roztok ve směsi metanol-voda 9:1), pH 5,4. Při teplotě 25°C a vložení napětí 25 kV s normální polaritou byly píky analyzovaného vzorku dávkovaného tlakem po dobu 5 s detekovány nepřímou fotometrickou detekcí při 254 nm.

### Soubor pacientek

Do studie bylo zařazeno celkem 93 žen - 29 pacientek s karcinomem ovaria (prům.věk 56, min 20, max 82 let),

Charakteristika	Stadium	Stadium
	I + II (n = 7)	III + IV (n = 22)
Věk, median (min, max) let	45 (20– 62)	62 (40–82)
<b>Stadium (FIGO)</b>		
I	4	0
II	3	0
III	0	20
IV	0	2
<b>Stupeň diferenciaci</b>		
G1	4	3
G2	3	13
G3	0	6
<b>Histologický typ nádoru</b>		
Serózní adenokarcinom	1	10
Endometroidní OCa	2	8
Mucinózní OCa	2	3
Bližší nespecif. OCa	2	1

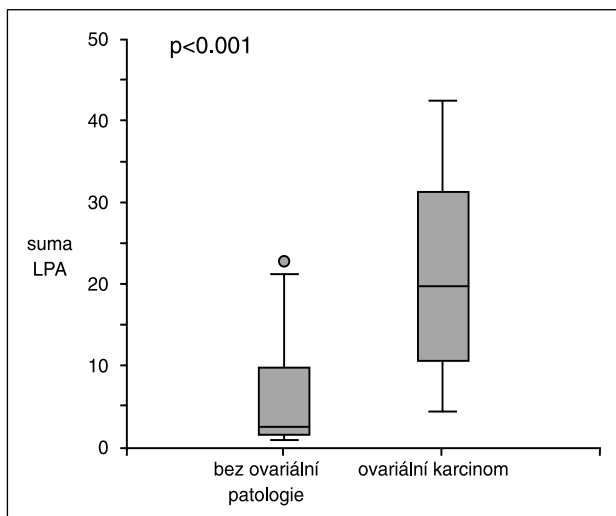
Tab. č. 1 - Charakteristika souboru pacientek s karcinomem ovaria

35 žen s peroperačně normálním nálezem na obou ovarii (prům.věk 50, min 38, max 81 let), 20 žen s histologicky potvrzenou benigní ovariální cystou (prům.věk 39, min 16, max 78 let) a 9 pacientek s jinými malignitami (2 pacientky karcinom hrdla děložního, 2 pacientky karcinom endometria a 5 pacientek s kolorektálním karcinomem) (prům.věk 58, min 32, max 74 let). Charakteristika souboru pacientek s karcinomem ovaria viz. Tab. č. 1.

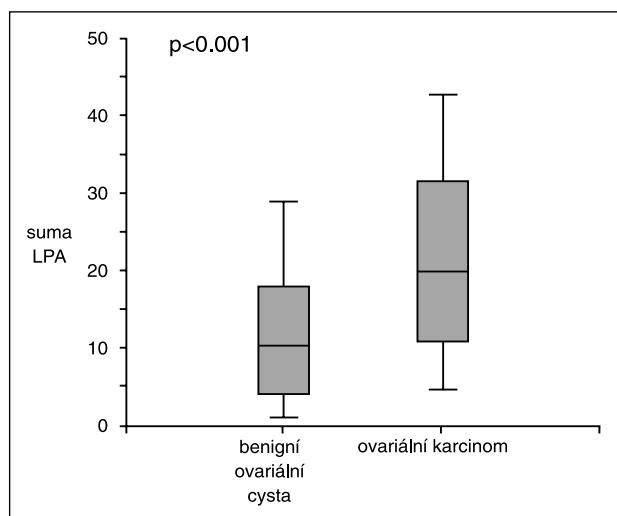
Odběr venózní krve byl prováděn u pacientek na Porodnické a gynekologické klinice Fakultní nemocnice v Hradci Králové a na Gynekologicko-porodnickém oddělení nemocnice v Pardubicích v letech 2003 - 2005. Těmto ženám byla jeden den před plánovanou operací odebrána venózní krev, která byla zpracována po podrobné preanalytické přípravě pomocí vysokoúčinné kapilární elektroforózy s nepřímou UV detekcí. Jelikož odběr venózní krve patří mezi výkony rutinně prováděné u těchto pacientek, nebyl nutný informovaný souhlas pacientky (schváleno etickou komisí Fakultní nemocnice Hradec Králové). Pro statistické zpracování byly použity neparametrické testy Mann-Whitney a Kolmogorov-Smirnov.

## Výsledky

Ve skupině pacientek s ovariálním karcinomem (n=29) s hladinou lysofosfatidové kyseliny stanovenou před zahájením primární léčby jsme specifikovali signifikantně vyšší hodnoty všech podtypů lysofosfatidové kyseliny z celého souboru a to jak v časných tak i pozdních stádiích onemocnění: **LPA-S** (I+II (n=7) med 2,7  $\mu\text{mol/l}$ , III+IV (n=22) med 5,1  $\mu\text{mol/l}$ ), **LPA-O** (I+II med 2,4  $\mu\text{mol/l}$ , III+IV med 1,8  $\mu\text{mol/l}$ ), **LPA-P** (I+II med 3,8  $\mu\text{mol/l}$ , III+ IV med 5,6  $\mu\text{mol/l}$ ), **LPA-M** (I+II med 2,6  $\mu\text{mol/l}$ , III+IV med 2,1  $\mu\text{mol/l}$ ) (p<0,001). Statisticky významně nižší hodnoty jsme diagnostikovali u pacientek bez patologie na obou ovarii (n=35). Hodnoty lysofosfatidové kyseliny u pacientek s histologicky potvrzenou benigní ovariální cystou a pacientek s ostatními malignitami byly také statisticky významně nižší v porovnání s pacientkami s ovariálním karcinomem (p<0,001) (viz. tab. č.2, graf č. 1 a 2). Statisticky významný rozdíl hodnot lysofosfatidové kyseliny v plazmě v závislosti na histologickém typu nádoru a stupni diferenciacie jsme v naší práci nezaznamenali, to může být zkruseno počtem pacientek.



**Graf. č. 1** - Hladina lysofosfatidové kyseliny v plazmě u pacientek s karcinomem ovaria a žen bez patologie na ovarii (p<0,001)



**Graf. č. 2** - Hladina lysofosfatidové kyseliny u pacientek s karcinomem ovaria a žen s benigní ovariální cystou (p<0,001)

Tab.č.2.	Ovariální karcinom		Bez ovariální patologie		Benigní ovariální cysta		Jiné malignity	
	n = 29		n = 35		n = 20		n = 9	
	$\mu\text{mol/l}$ , (p<0,001)		$\mu\text{mol/l}$ , (p<0,001)		$\mu\text{mol/l}$ , (p<0,001)		$\mu\text{mol/l}$ , (p<0,001)	
	med	min - max	med	min - max	med	min - max	med	min - max
<b>LPA - S</b>	2,9	0,7 – 24,8	0,7	0,1 – 11,3	1,0	0,4 – 14,1	2,0	0,6 – 17,9
<b>LPA - O</b>	2,8	0,2 – 7,6	0,2	0 – 7,6	0,8	0 – 7,6	1,4	0,1 – 4,1
<b>LPA - P</b>	6,4	1,9 – 19,1	1,2	0,5 – 6,5	10,2	2,2 – 16,7	1,1	0,3 – 8,9
<b>LPA - M</b>	2,5	0,1 – 10,7	0,1	0,03 – 7,0	0,94	0,1 – 6,9	0,7	0,1 – 3,5
<b>suma LPA</b>	<b>19,9</b>	<b>4,5 – 42,7</b>	<b>2,6</b>	<b>0,9 – 22,9</b>	<b>10,4</b>	<b>1,1 – 28,8</b>	<b>6,9</b>	<b>1,5 – 24,2</b>

**Tab. č. 2** - Hladiny vyšetřovaných podtypů lysofosfatidové kyseliny v plazmě v jednotlivých skupinách pacientek

## Diskuse

Ovariální karcinom je onemocněním asociovaným s vysokou mortalitou především z důvodu nemožnosti diagnostikovat tumor v časném stadiu. Nalezení nového efektivního markeru pro detekci zejména časných stadií onemocnění by mohlo přispět ke zlepšení prognózy a celkové doby přežití. Výsledky této práce ukázaly statisticky významně vyšší hodnoty všech podtypů lysofosfatidové kyseliny v plazmě u pacientek s karcinomem ovaria v porovnání s kontrolní skupinou. Nejvýraznější rozdíl byl patrný mezi skupinou pacientek s ovariálním karcinomem a skupinou žen bez patologie na ováriích. Zmíněné výsledky dosáhly statistické významnosti a podporují představu využití lysofosfatidové kyseliny jako perspektivního markeru ovariálního karcinomu. Stejně jako výsledky studie skupiny 48 zdravých žen a 48 žen s ovariálním karcinomem, které ukazují vyšší senzitivitu LPA pro ovariální karcinom, než ostatní dostupné nádorové markery (5). Signifikantně vyšší hodnoty lysofosfatidové kyseliny v plazmě pacientek s ovariálním karcinomem prokázaly i další studie (10, 11, 12, 13, 14, 15). Pouze práce porovávající LPA v plazmě u 32 pacientek s ovariálním karcinomem a 32 žen zdravých kapalnou chromatografií nezjistila významné rozdíly (16). Jedním z možných vysvětlení tohoto odlišného výsledku může být rozdílný metodický postup. Při stanovení LPA v plazmě je nutné respektovat mimo jiné správné načasování a teplotu před a v průběhu centrifugace, přesnou extrakci a separaci vzorků, správné koncentrace extraktu (10). Vyšší plazmatické hodnoty LPA jsme zaznamenali i v časných stadiích ovariálního karcinomu (FIGO I a II). Stejně jako ve studii porovávající hladiny LPA a Ca 125 v závislosti na stadiu onemocnění. Ve stadiu I mělo LPA zvýšené 89% a 22% mělo elevaci Ca 125, ve stadiu II, III a IV ovariálního karcinomu mělo LPA zvýšené 100% a Ca 125 54% (5). Můžeme tedy předpokládat, že stanovení LPA v plazmě by mohlo přispět k detekci časných stadií onemocnění. Zajímavé je zjištění nepatrně vyšších hodnot jedno-

tlivých podtypů LPA u pacientek s histologicky potvrzenou benigní ovariální cystou v porovnání s pacientkami bez patologie na ováriích. Zhodnocení vztahu mezi benigními změnami ovaria a plazmatickou hladinou tohoto fosfolipidu jsme v dostupné literatuře nezaznamenali. Prokázána je produkce lysofosfatidové kyseliny maligním ovariálním epitelem (10, 13, 14). LPA zvyšuje expresi VEGF v ovariální nádorově změněné tkáni prostřednictvím LPA2 receptorů, které jsou ve velkém množství exprimovány právě na povrchu ovariálních nádorových buněk, ale na povrchových buňkách normálního epitelu ovaria prokázány nebyly (9). Je popisován minimální vliv lysofosfatidové kyseliny na normální povrchový epitel ovaria (17). Předmětem intenzivního zájmu posledních dvou let je způsob jakým lysofosfatidová kyselina ovlivňuje chování ovariálních nádorových buněk (9). Porovnání rozdílů hodnot LPA u pacientek s různými diagnózami včetně benigních ovariálních cyst vyžaduje další rozsáhlejší studie (10, 14), stejně jako zhodnocení plazmatické hodnoty lysofosfatidové kyseliny ve vztahu k histopatologickým a klinickým parametrům.

## Závěr

Prokázali jsme významně vyšší hodnoty lysofosfatidové kyseliny v plazmě pacientek s ovariálním karcinomem v porovnání jak s pacientkami bez patologie na obou ováriích tak s pacientkami s histologicky prokázanou benigní cystou ovaria. Vzestup lysofosfatidové kyseliny v plazmě jsme pozorovali i v časných stadiích onemocnění. Lze tedy předpokládat, že stanovení hladiny lysofosfatidové kyseliny v plazmě umožní zefektivnění diagnostiky ovariálního karcinomu a mohlo by přispět k zachytu časných stadií tohoto onemocnění. Dosavadní výsledky této studie ukazují, že lysofosfatidová kyselina je perspektivní marker ovariálního karcinomu.

## Poděkování

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR 7666-3

## Literatura:

1. Robová H., Rob L., Pluta J. et al.: Zhoubné nádory ovaria. Moderní gynekologie a porodnictví, 4, 2000, 679-693.
2. Citterbart K. et al. Gynekologie. Galén. 2001, 170-173.
3. Hoskins J.W., Perez A.C., Young C.R.: Principles and Practice of Gynecologic Oncology. Lipincott-Raven, 1996
4. Bast R.C., Xu F.J., Yu Y.H. et al.: Ca 125: the past and the future. Int J Biol Markers, 13, 1998, 179-187.
5. Xu Yan, Shen Z, Wiper DW. et al. Lysophosphatidic Acid as a Potential Biomarker for Ovarian and Other Gynecologic Cancers. JAMA. 1998, 280: 719-723.
6. Fishman D.A., Bozorgi K.: The scientific basis of early detection of epithelial ovarian cancer: the National Ovarian Cancer Early Detection Program (NOCEDP). Cancer Treat Res. 107, 2002, 3-28.
7. Fang X., Schummer M., Mao M. et al.: Lysophosphatidic acid is a bioactive mediator in ovarian cancer. Biochimica et Biophysica Acta, 2002, 123-126.
8. Tokumura A. Physiological and pathophysiological roles of lysophosphatidic acids produced by secretory lysophospholipase D in body fluids. Biochimica et Biophysica Acta. 2002, 142-143.
9. So J., Wang F., Navari J. et al.: LPA-induced epithelial ovarian cancer (EOC) in vitro invasion and migration are mediated by VEGF receptor-2 (VEGFR2). Gynec. Oncology, 97, 2005, 870-878.
10. Sutphen R., Xu Y., Wilbanks D. et al.: Lysophospholipids Are Potential Biomarkers of Ovarian Cancer. Cancer Epidem., 13, 2004, 1185 - 1191.

11. Xiao Y., Chen Y., Kennedy A.W. et al.: Evaluation of plasma lysophospholipids for diagnostic significance using electrospray ionization mass spectrometry analyse. Ann NY Acad Sci, 905, 2000, 242-259.
12. Okita M., Gaudette D.C., Mills G.B. et al.: Elevated levels and altered fatty acid composition of plasma lysophosphatidylcholine in ovarian cancer patients. Int J Cancer, 71, 1997, 31-34.
13. Meng Y., Kang S., So J. et al.: Translocation of Fas by LPA prevents ovarian cancer cells from anti-Fas-induced apoptosis. Gynec. Oncology, 96, 2005, 462-469.
14. So J., Navari J., Wang F.O. et al.: Lysophosphatidic acid enhances epithelial ovarian carcinoma invasion through the increased expression of interleukin-8. Gynec. Oncol., 95, 2004, 314-322.
15. Eder A., Sasagawa T., Mao M. et al.: Constitutive and lysophosphatidic acid induced LPA production: role of phospholipase D and phospholipase A2. Clin. Cancer Res., 6, 2000, 2482-2491.
16. Baker D.L., Kortison P., Miller B. et al.: Plasma lysophosphatidic acid concentration and ovarian cancer. JAMA, 287, 2002, 3081-3082.
17. Tanyi J.L., Morfia J.A., Wolf J.K. et al.: The Human Lipid Phosphate Phosphatase-3 Decreases the Growth, Survival, and Tumorigenesis of Ovarian Cancer Cells: Validation of the Lysophosphatidic Acid Signaling Cascade as a Target for Therapy in Ovarian Cancer. Cancer Research, 63, 2003, 1073- 1082.

Došlo: 7. 11. 2005  
Přijato: 4. 2. 2006