

Onkologie

Suppl. B
2009

www.solen.cz

ISSN 1803-5922

ROČNÍK 3.

V. DNY DIAGNOSTICKÉ, PREDIKTIVNÍ A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE

II. SYMPOZIUM O CÍLENÉ BIOLOGICKÉ LÉČBĚ

25.–27. listopadu 2009

Regionální centrum Olomouc

*Sekce diagnostické a prediktivní onkologie České onkologické společnosti ČLS JEP,
Laboratoř experimentální medicíny a Laboratoř molekulární patologie LF UP a FN Olomouc,
Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc, Komplexní onkologické centrum Olomouc,
Nadace pro výzkum rakoviny, Sdružení Šance, společnost SOLEN*

SOLEN
MEDICAL EDUCATION

Kontrola onemocnění – otevření nových možností



**SUTENT® v 1. a 2. linii
metastatického renálního
karcinomu (mRCC)^{2,3,4}**

STANDARD v 1. linii^{1,5}

**HRAZEN
v 1. linii
mRCC*⁶**

*pro pacienty s nízkým a středním rizikem

**Zkrácená informace o přípravku
SUTENT 12,5 mg, 25 mg, 37,5 mg,
50 mg tvrdé tobolky**

Léčivá látka: Sunitinibi malas odpovídající 12,5 mg, 25 mg, 37,5 mg nebo 50 mg sunitinibum v jedné tobolce. **Indikace:** Neresekovatelný a/nebo metastatický maligní gastrointestinální stromální tumor po selhání léčby imatinib-mesylátem v důsledku rezistence nebo intolerance, pokročilý a/nebo metastatický adenokarcinom ledviny. **Dávkování a způsob podávání:** Doporučená dávka je 50 mg denně perorálně po dobu 4 po sobě následujících týdnů, následuje 2týdenní pauza (režim 4/2). Na základě individuální bezpečnosti a snášenlivosti možnost úpravy dávky v průběhu léčby po 12,5 mg. Denní dávka by neměla překročit 75 mg ani by neměla klesnout pod 25 mg. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na sunitinibi-malát nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Současné podávání se silnými induktory CYP3A4 může snížit koncentrace sunitinibu v plazmě, současné podávání se silným inhibítor CYP3A4 může zvýšit koncentrace sunitinibu v plazmě a kombinaci s nimi je třeba se vyhnout. Změna barvy kůže je častým nežádoucím účinkem přibližně u 30 % pacientů. Pacienti by měli být upozorněni na to, že během léčby přípravkem SUTENT může dojít k reverzibilní depigmentaci kůže/vlasů. Hypertenze byla zaznamenána cca u 16 % pacientů se solidními tumory. U pacientů by měl být prováděn screening hypertenze a v případě potřeby její léčba. Dále by se mělo provádět vyšetření úplného krevního obrazu na začátku každého léčebného cyklu. Snížení ejekční frakce levé komory o ≥20 % a pod dolní hranici normálních hodnot se objevilo cca u 2 % pacientů s GIST a u 4 % pacientů s mRCC. Tyto poklesy LVEF se ukázaly jako neprogresivní a často se při pokračující léčbě zlepšily. Pečlivě sledování klinických známek a příznaků městnavého srdečního selhání (CHF) je nutné provádět zejména u pacientů s kardiálními rizikovými faktory a/nebo s onemocněním koronárních arterií v anamnéze. Pokud jsou přítomny příznaky pankreatitidy nebo jaterního selhání, pacient musí užívání přípravku SUTENT přerušit a musí mu být poskytnuta náležitá podpurná léčba. **Interakce:** S látkami ze skupiny silných inhibitorů CYP3A4 a ze skupiny silných induktorů CYP3A4 – viz zvláštní upozornění. U pacientů užívajících současně antikoagulační léčbu by se měl pravidelně sledovat celkový krevní obraz, koagulační faktory a tělesný stav. **Těhotenství a kojení:** U těhotných žen nebyly provedeny žádné studie. Není známo, zda je sunitinibi nebo jeho primární aktivní metabolit vylučován do lidského mateřského mléka. **Účinky na schopnost řídit a obsluhovat stroje:** Pacienti by měli být upozorněni, že během léčby se mohou vyskytnout závratě. **Nežádoucí účinky:** Případy krvácení, některé s fatálním průběhem, zahrnovaly gastrointestinální, dýchací a močový trakt, krvácení do tumoru a mozkové krvácení. Případy kardiovaskulárních účinků, některé s fatálním průběhem, zahrnovaly snížení ejekční frakce levé komory a srdeční selhání. Jiné fatální účinky zahrnovaly multisystémové orgánové selhání, diseminovanou intravaskulární koagulaci, peritoneální krvácení, rabdomyolýzu, cerebrovaskulární příhody, dehydrataci, adrenální insuficienci, renální selhání, respirační selhání, pleurální efúze, pneumotorax, šok a náhlé úmrtí. Nejzávažnějšími závažnými nežádoucími účinky vztahujícími se k léčbě pacientů se solidními nádory byly plicní embolie, trombocytopenie, krvácení do tumoru, febrilní neutropenie a hypertenze. Mezi nejčastější nežádoucí účinky všech stupňů závažnosti související s léčbou patří: únava; gastrointestinální poruchy, jako jsou průjem, nauzea, stomatitida, dyspepsie, abt. bolest, flatulence, zvracení, zácpa, glossodynie, sucho v ústech, bolest v ústech; změna barvy kůže; anémie, neutropenie, hypotyreóza, bolest hlavy, dysgezie a anorexie; zežloutnutí kůže, palmo-plantární erytrodysestázie; změny barvy vlasů, vyrážka; bolest končetin; pokles hmotnosti; zánět sliznice; otok; suchá pokožka, alopecie; epistaxe. **Předávkování:** Nebyl hlášen žádný případ akutního předávkování. **Uchovávání:** Přípravek nevyžaduje žádné zvláštní podmínky uchovávání. **Balení:** 30 tobolek v HDPE lahvičce. **Jméno a adresa držitele rozhodnutí o registraci:** Pfizer Ltd, Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ, Velká Británie. **Registrační číslo:** EMEA/1/06/347/001-008. **Datum poslední revize textu:** 05/2009. Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Před předepsáním se, prosím, seznámte s úplnou informací o přípravku. Přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění.

LITERATURA: 1) Ljungberg B et al. European Association of Urology Guidelines, 2007 edition. 2) Motzer RJ, Rini BI, Bukowski RM et al. Sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma. JAMA. 2006 Jun 7; 295(21): 2516-24. 3) Motzer RJ, Michaelson MD, Redman BG et al. Activity of SU11248, a multitargeted inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor and platelet-derived growth factor receptor, in patients with metastatic renal cell carcinoma. J Clin Oncol. 2006 Jan 1; 24(1): 16-24. 4) Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. N Engl J Med. 2007 Jan 11; 356(2): 115-24. 5) Figlin RA, Hutson TE et al. Overall survival with sunitinib versus interferon-alfa as first-line treatment of metastatic renal cell cancer (mRCC). ASCO 2008, Oral 5024. 6) www.sukl.cz/seznam-leciv-a-pdu-hrazenych-ze-zdrav-pojseni

Souhrnné údaje o přípravku jsou k dispozici na adrese:
Pfizer, spol. s r.o., Stroupežnického 17, 150 00 Praha 5
tel.: 283 004 111; fax: 251 610 270, www.pfizer.cz

SUT-2009.02.07



POŘADATELÉ

**Sekce diagnostické a prediktivní onkologie České onkologické společnosti ČLS JEP,
Laboratoř experimentální medicíny a Laboratoř molekulární patologie LF UP a FN Olomouc,
Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc,
Komplexní onkologické centrum Olomouc,
Nadace pro výzkum rakoviny – „Rakovina věc veřejná“,
Sdružení Šance,
společnost SOLEN**

ODBORNÍ KOORDINÁTOŘI

**doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D.**

ORGANIZÁTOR

SOLEN, s.r.o.

Lazecká 297/51, 779 00 Olomouc

kontaktní osoba:

Ing. Karla Břečková

tel.: 582 397 457

mob.: 777 714 677

e-mail: breckova@solen.cz

programové zajištění:

Mgr. Jitka Strouhalová

tel.: 582 330 438

mob.: 777 714 680

e-mail: strouhalova@solen.cz

**Olomouc 25.–27. 11. 2009
REGIONÁLNÍ CENTRUM OLOMOUC**

Účast je v rámci celoživotního postgraduálního vzdělávání dle Stavovského předpisu č. 16 ČLK ohodnocena kredity pro lékaře, sestry, zdravotní laboranty a vysokoškolsky vzdělaný nelékařský personál

**Supplementum B časopisu Onkologie
Evidence MK ČR pod číslem 17305**

Citační zkratka: Onkologie; 3 (Suppl. B). ISSN 1803-5922

Grafické zpracování a sazba: Jan Sedláček, tel.: +420 724 984 451

Časopis je indexován v Bibliographia Medica Českoslovac
a v Seznamu recenzovaných neimpaktovaných periodik vydávaných v ČR.

STŘEDA 25. LISTOPADU

14:00–14:10

Zahájení konference

14:10–15:30 Úvod / Předsedající: Mihál V.

1. Sedláček R.: **Modely transgenních zvířat ve výzkumu nádorových onemocnění**
2. Plank L., Šufliarsky J., Szépe P., Lasabová Z., Minárik G., Burjanivová T., Brabec P.: **Piaty rok realizácie Národného programu centralizovanej bioptickej diagnostiky a mutačných analýz gastrointestinálnych stromálnych tumorov v SR**
3. Hajdúch M.: **Mutace genů EGFR1 a KRAS u nádorových onemocnění**

Diskuze

15:30–15:50

Přestávka

15:50–17:05 PROGNOSTICKÉ A PREDIKTIVNÍ FAKTORY I. / Předsedající: Hajdúch M.

1. Bouchalová K., Čížková M., Cwiertka K., Kolář Z., Trojanec R., Koudeláková V., Mlčochová S., Mihál V., Hajdúch M.: **C-MYC gen jako prognostický znak a možný prediktor léčby u karcinomu prsu, současné poznatky a naše zkušenosti s jeho vyšetřením**
2. Kalita O., Vavřka M., Hrabálek L., Kratochvíl P., Rajmon P., Šantavá A., Hlobílková A., Křepelová A., Hermann J., Houdek M.: **Diagnostické a léčebné postupy u pacientů s hemangioblastomy**
3. Škarda J., Srovnal J., Radová L., Amariglio N., Rechavi G.: **Sledování prognostického a prediktivního významu některých epigenetických mechanismů u různých typů plicních nádorů**
4. Koudeláková V., Trojanec R., Čížková M., Bouchalová K., Ondryášová H., Fürstová J., Radová L., Mlčochová S., Dušek L., Melichar B., Hajdúch M.: **Cytogenetické změny u pacientek s ca prsu a polyzomii chromozomu 17: Význam pro diagnosticko-léčebnou rozvahu**

Diskuze

17:15–17:55 KICK-OFF MEETING PROJEKTU: POSÍLENÍ VÝZKUMNÉ INFRASTRUKTURY PRO INDIVIDUALIZACI CHRONICKY NEMOCNÝCH DĚTÍ. (PODPOŘENO GRANTEM Z ISLANDU, LICHTENŠTEJNSKA A NORSKA V RÁMCI FINANČNÍHO MECHANIZMU EHP A NORSKÉHO FINANČNÍHO MECHANIZMU)

1. Hajdúch M.: **Základní informace o projektu CZ0099**
2. Džubák P., Srovnal J.: **Prezentace pořízené výzkumné infrastruktury**
3. Potěšil J.: **Význam exprese proteinů lékové rezistence u dítěte s bronchiálním astmatem**
4. Špenerová M.: **Studium rezistence na glukokortikoidy u dětí s akutní lymfatickou leukémií**



ČTVRTEK 26. LISTOPADU

9:00–10:10 PATOFYZIOLOGIE NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ / Předsedající: Drábek J.

1. Uldrijan S., Vaclová T., Hammerová J., Oralová V., Cetkovská K.: **Modulation of malignant melanoma survival by small molecule inhibitors of cellular stress response pathways**
2. Überall I., Škarda J., Sedláková E., Janíková M., Radová L., Kolek V., Klein J., Grygárková I., Hajdúch M., Kolář Z.: **Příspěvek ke studiu role proteinu p53 v autofagii**
3. Haškovec C., Polák J., Hájková H., Marková J., Schwarz J.: **Stanovení molekulárního relapsu u pacientů s akutní myeloidní leukémií monitorovaných hladinou exprese genu Wt-1**
4. Verner J., Kabátová J., Zdráhal Z., Tomancová A., Brychtová Y., Volejníková J., Pospíšilová Š., Mayer J.: **Analýza genového profilu reakce štěpu proti hostiteli (GVHD) s využitím čipové technologie**

Diskuze

10:10–10:30

Přestávka

10:30–11:55 PROGNOSTICKÉ A PREDIKTIVNÍ FAKTORY II. / Předsedající: Trojanec R.

1. Kološtová K., Pintérová D., Bobek V., Pavlášek J., Janatková I., Mikulová V., Valchář J., Brychta M., Kubecová M., Korenková V., Pecen L., Romžová M., Rusňáková V., Tichopád A., Ušiaková Z., Rychterová V., Tesařová P., Kubista M.: **Sledování exprese genů v cirkulujících nádorových buňkách (CTC) u pacientek s rakovinou prsu jako součást procesu individualizace léčby a časná detekce metastatického procesu**
2. Srovnal J., Benedíková A., Vysloužil K., Skalický P., Klementa I., Duda M., Strážnická J., Šrámek V., Cwiertka K., Růžková V., Radová L., Drábek J., Jančík S., Hajdúch M.: **Analýza přežití u pacientů s kolorektálním karcinomem vzhledem k přítomnosti minimální reziduální choroby, mikrosatelitní nestability a mutace genu k-ras**
3. Klos D., Srovnal J., Benedíková A., Havlík R., Loveček M., Růžková V., Radová L., Hajdúch M.: **Minimální reziduální choroba u pacientů s karcinomem pankreatu – pilotní studie**
4. Rusňáková V., Kološtová K., Ušiaková Z., Kubista M.: **Digitální PCR v diagnostice nádoru prsu**
5. Ilenčíková D., Kološtová K., Rusňáková V., Slamka T., Štrbová D., Ďurovčíková D.: **Testovanie výskytu hematogenných mikrometastáz pomocou multimarkerovej qPCR v porovnaní s výskytom cirkulujúcich nádorových buniek (CTC) u pacientov s kolorektálnym karcinómom**

Diskuze

11:55–13:00

Oběd





Supported by a grant from
Iceland, Liechtenstein and Norway
through the EEA Financial Mechanism
and the Norwegian Financial Mechanism

Zveme Vás na Kick-off meeting, 25. 11. 2009, 17:10, RCO, sál Pegasus: Posílení výzkumné infrastruktury pro individualizaci léčby chronicky nemocných dětí.

Cílem projektu je posílit výzkumnou infrastrukturu se zaměřením na výzkum farmakogenomiky u dětí a to zakoupením špičkového zařízení umožňujícího analýzu molekulárně biologických parametrů, které jsou provázány s rozvojem astmatu a dalších chronických zánětlivých onemocnění, včetně onemocnění nádorových. Jedná se jednak o vysokorychlostní průtokový cytometr vybavený sortovacím modulem, který umožňuje analýzu vybraných populací buněk podílejících se na zánětlivé a autoimunitní odpovědi a za druhé o zařízení umožňující genomickou a expresní analýzu na základě mikročipové technologie.



Výsledkem takto provedeného testování bude identifikace klíčových mechanismů rozvoje chronického dětského onemocnění a návrh stratifikace pacientů do skupin dle jejich expresního a funkčního profilu a následné přiřazení optimální terapie. Získané informace umožní optimalizaci dávkování léčiv a léčbu šitou na míru konkrétního dětského pacienta a to i po skončení projektu. Očekáváme, že se sníží výskyt nežádoucích účinků zmíněných léčiv a zvýší se kvalita života dospívajícího jedince. Řešitelem projektu je Laboratoř experimentální medicíny při Dětské klinice, LF UP Olomouc (www.lem.ocol.cz/cs/projekty).



Partnerem projektu je nadace Rakovina věc veřejná.

www.vecverejna.cz

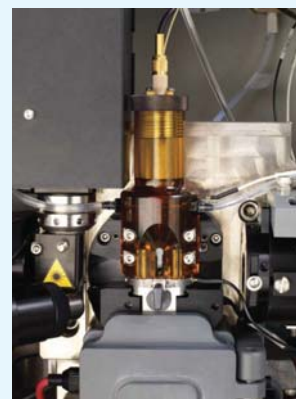
Zahájení projektu: srpen 2008

Zahájení provozu výzkumné infrastruktury říjen 2009

Předpokládané ukončení projektu: prosinec 2010



Rakovina věc veřejná



13:00–14:15 NOVÁ PROTINÁDOROVÁ LÉČIVA A LÉČEBNÉ POSTUPY / Předsedající: Hajdúch M.

1. Džubák P., Hajdúch M., Nauš P., Pohl R., Votruba I., Ameral R., Birkuš G., Wang T., Ray A., Mackman R., Cihlar T., Hocek M.: **6-(Het)aryl-7-Deaza-purine Ribonukleosidy jako nové účinné cytostatické sloučeniny**
2. Kollareddy Reddy M., Zheleva D., Džubák P., Hajdúch M.: **Tumor cell resistance mechanism to aurora kinase inhibitors**
3. Skálová K., Mollová K., Mužíková J., Novotná D., Vidláková P., Smejkalová J., Michálek J.: **Nové přístupy v terapii nádorových onemocnění – vakcinace dendritickými buňkami**
4. Borský M., Ionescu M., Klabusay M.: **Sledování změn hladiny vápníku u B-lymfocytů po stimulaci imunoglobuliny**

Diskuze

14:15–14:45 Přestávka

14:45–16:10 PROGNOSTICKÉ A PREDIKTIVNÍ FAKTORY III. / Předsedající: Džubák P.

1. Jančík S., Drábek J., Berkovcová J., Radzioch D., Srovnal J., Holinková V., Rabčanová M., Dziechciarková M., Janošťáková A., Hajdúch M.: **Detekce mutací KRAS molekulárně genetickými technikami**
2. Belej K., Kaplan O., Köhler O., Kočárek O., Drlík P.: **Možnosti modelování kinetiky prostatického specifického antigenu**
3. Belej K., Kaplan O., Köhler O., Kočárek J., Chmelík F.: **Praktické aspekty diagnostiky karcinomu prostaty pomocí prostate cancer gene 3 (PCA3)**
4. Čížková M., Bouchalová K., Friedecký D., Polýnková A., Janošťáková A., Trojanec R., Dziechciarková M., Krejčí V., Radová L., Hajdúch M., Melichar B., Cwierka K., Kolář Z.: **Vyšetření genů a proteinů HER1 a HER2 a plazmatických hladin HER1/HER2 duálního tyrozinkinázového inhibitoru lapatinibu u nemocných s karcinomem prsu**

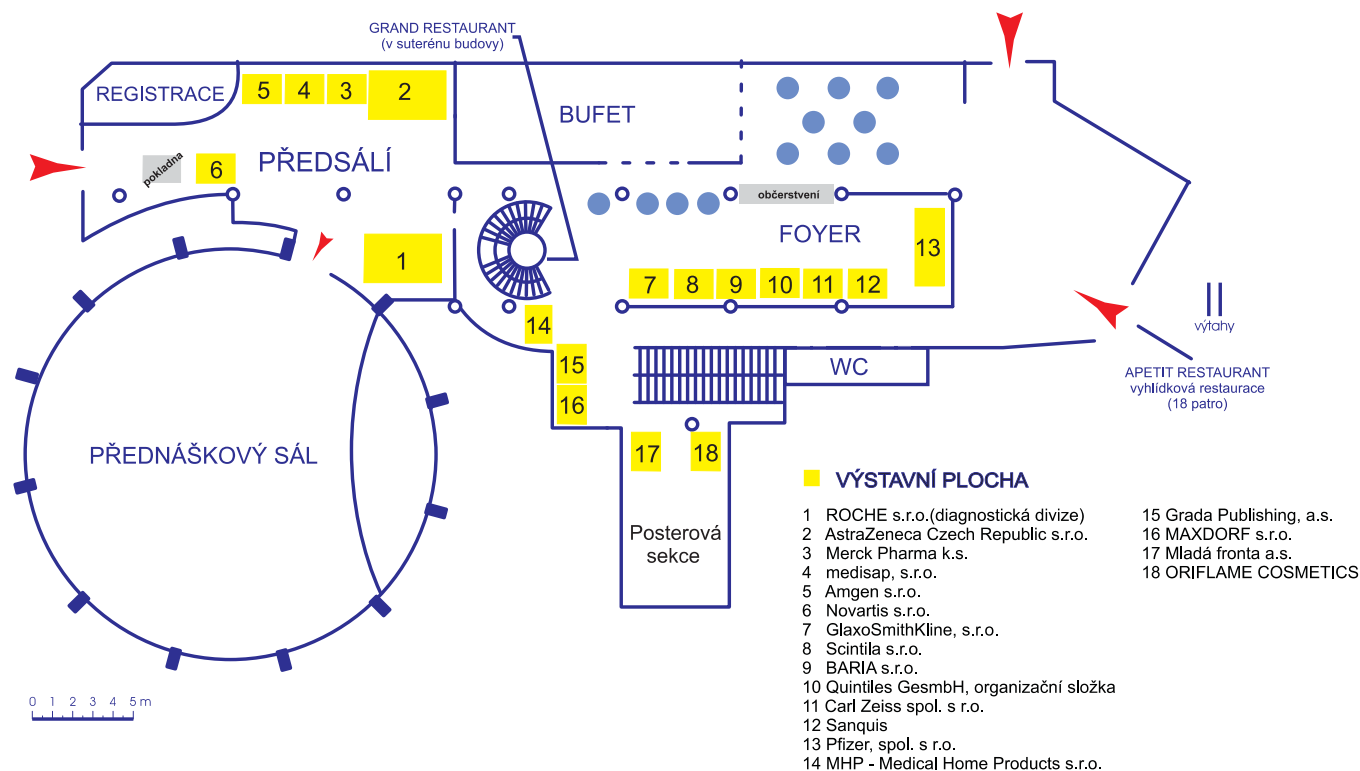
Diskuze

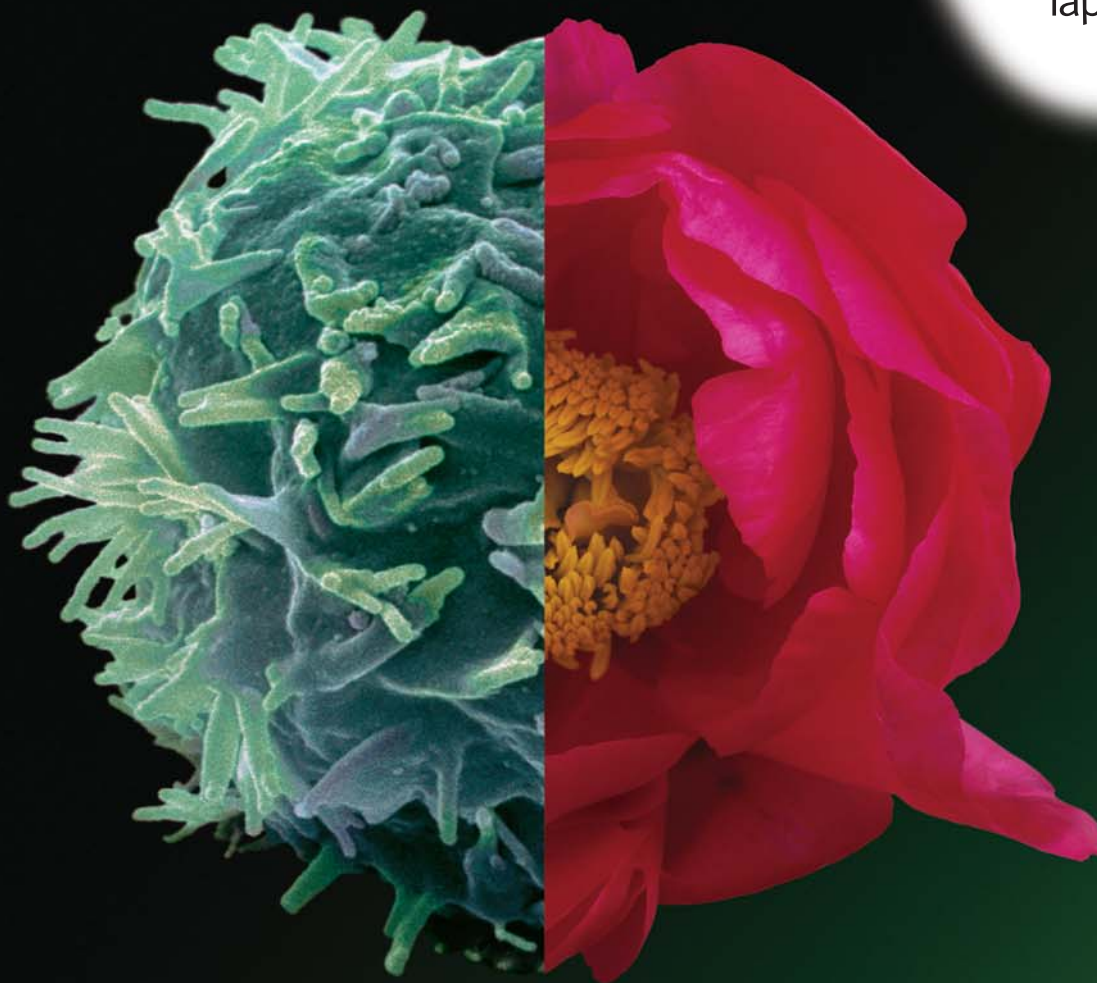
16:10–16:30 Ukončení konference a odevzdání ceny za nejlepší přednášku a poster

19:00 Společenský večer

**ORIENTAČNÍ PLÁNEK:**

Rozmístění vystavovatelů na vzdělávací akci
V. dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie
II. sympozium o cílené biologické léčbě
25.–27. 11. 2009 / REGIONÁLNÍ CENTRUM OLOMOUC





Inhibice receptorů uvnitř buňky přináší naději na život

Tyverb[®] v kombinaci s kapecitabinem v léčbě ErbB2 (HER2)-pozitivního pokročilého nebo metastatického karcinomu prsu.



ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU

NÁZEV A LÉKOVÁ FORMA: TYVERB 250 mg, potahované tablety. **SLOŽENÍ:** Lapatinibum ditosylatum monohydricum v množství odpovídajícím 250 mg lapatinibu. **INDIKACE:** Tyverb je v kombinaci s kapecitabinem indikován k léčbě pacientů s pokročilým nebo metastazujícím karcinomem prsu, jejichž nádory ve zvýšené míře exprimují ErbB2 (HER2) a u kterých došlo k progresi onemocnění po předchozí léčbě, která musí zahrnovat antracykliny a taxany a dále léčbu trastuzumabem pro metastazující onemocnění. **DÁVKOVÁNÍ:** Lapatinib se užívá v kombinaci s kapecitabinem. Doporučená dávka lapatinibu je 1250 mg (tj. pět tablet) užívaných jedenkrát denně kontinuálně. Denní dávka se nemá dělit. Lapatinib se užívá buď nejméně jednu hodinu před nebo nejméně jednu hodinu po jídle. Ke snížení variability u každého jednotlivého pacienta by mělo být užívání lapatinibu vzhledem k podání jídla standardizováno, např. vždy před jídlem. Doporučená dávka kapecitabinu je 2000 mg/m²/den užívaných ve 2 dávkách po 12 hodinách ve dnech 1 – 14 v průběhu 21denního cyklu. Kapecitabin se užívá s jídlem nebo během 30 minut po jídle. *Odložení nebo snížení dávky u srdečních příhod, intersticiální plicní nemoci/pneumonie a jiné toxicity viz SPC.* Doporučení týkající se odložení nebo snížení dávky kapecitabinu jsou uvedena v informaci o použití kapecitabinu. **SPECIÁLNÍ SKUPINY PACIENTŮ:** U pacientů s mírným až středně závažným poškozením ledvin není nutná žádná úprava dávkování. U pacientů se závažnou poruchou funkce ledvin se doporučuje zvýšená opatnost, u těchto pacientů nejsou žádné zkušenosti s podáváním lapatinibu. U pacientů se středně závažnou až závažnou poruchou funkce jater by měl být lapatinib podáván se zvýšenou opatností. Podávání dětem se nedoporučuje. U pacientů starších 65 let jsou k dispozici pouze omezené údaje o podávání lapatinibu. **KONTRAINDIKACE:** hypersenzitivita na léčivou nebo kteroukoli pomocnou látku. Kontraindikace a údaje o bezpečnosti při užívání lapatinibu v kombinaci s kapecitabinem - viz informace o použití kapecitabinu. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ:** Před zahájením léčby je třeba se ujistit, že LVEF pacienta je před léčbou v rozmezí stanovených normálních hodnot. V průběhu léčby lapatinibem je třeba průběžně hodnotit LVEF. Pacienti je třeba sledovat s ohledem na možný rozvoj příznaků plicní toxicity. Opatnost je nezbytná při podávání lapatinibu pacientům se středně závažnou až závažnou poruchou funkce jater a závažnou poruchou funkce ledvin. Jaterní funkce (transaminázy, bilirubin a alkalická fosfatáza) mají být zhodnoceny před zahájením léčby a dále jednou měsíčně nebo podle potřeby na základě klinických příznaků. Při léčbě lapatinibem byl hlášen výskyt, včetně příjmu těžkého. Důležitá je preventivní léčba příjmu pomocí antidiarhoik. **INTERAKCE:** Je třeba se vyhnout současnému podávání lapatinibu se známými induktory anebo

se silnými inhibitory CYP3A4. Grapefruitová šťáva se nemá v průběhu léčby konzumovat. Přípravek se nemá podávat s látkami zvyšujícími pH žaludku. Při užívání lapatinibu v kombinaci s paklitaxelem (175 mg/m² každé tři týdny) se může objevit těžká neutropenie s průměrem. Současné podávání lapatinibu s kapecitabinem nebo trastuzumabem neovlivňovalo významně farmakokinetiku těchto látek (nebo metabolitů kapecitabinu) ani lapatinibu. **TĚHOTENSTVÍ A KOJENÍ:** Adekvátní údaje nejsou k dispozici. Studie na zvířatech prokázaly reprodukční toxicitu. Potenciální riziko pro člověka není známo. Lapatinib se nemá v těhotenství podávat, pokud to není nezbytně nutné. Ženy v reprodukčním věku musí být upozomeny na nutnost používání účinné antikoncepce v průběhu léčby. U žen, které jsou léčeny lapatinibem, musí být kojení ukončeno. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY:** Velmi časté a současně nejčastější: průjem, nauzea a zvracení, palmární-plantární erytrodysestázie (PPE) a vyrážka včetně akneiformní dermatitidy. Incidence PPE ve skupině užívající lapatinib s kapecitabinem byla podobná incidenci zaznamenané ve skupině užívající samotný kapecitabin. Další velmi časté nežádoucí účinky: dyspepsie, zácpa, bolesti břicha, anorexie, suchá kůže, stomatitida, záněty sliznic, bolesti končetin a zad, nespavost, únava. **Časté:** snížení ejekční frakce levé srdeční komory (přibližně u 1 % pacientů), bolesti hlavy, hyperbilirubinémie, hepatotoxicita. **Méně časté:** Intersticiální plicní nemoc (pneumonie). **FARMAKOLOGICKÉ VLASTNOSTI:** Inhibitor proteinkinázy, skupina: ATC kód: L01XE07, inhibitor intracelulární tyrosinkinázové domény receptorů EGFR (ErbB1) a ErbB2 (HER2). **UCHOVÁVÁNÍ:** při teplotě do 30 °C. **DOBA POUŽITELNOSTI:** 2 roky. **BALENÍ:** Jedna krabička obsahuje 70 tablet v blistru po 10 tabletách. Vícečetné balení obsahuje 140 potahovaných tablet a skládá se ze 2 balení o obsahu 70 tablet ve vnějším obalu. **DRŽITEL ROZHODNUTÍ O REGISTRACI:** Glaxo Group Ltd., Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN, Velká Británie. **REG. ČÍSLO:** EU/1/07/440/001-002. **REGISTRACE:** 10. 6. 2008. **REVIZE TEXTU:** 26. 2. 2009. **DOSTUPNOST LÉKU:** Lék je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Před použitím léku si prosím přečtěte úplný Souhrn údajů o přípravku nebo se obraťte na společnost GSK s.r.o. SPC je platné ke dni vydání propagačního materiálu: 1. 9. 2009.

GlaxoSmithKline s.r.o., Na Pankráci 17/1685, 140 21 Praha 4
tel.: 222 001 111, fax: 222 001 444
e-mail: gsk.czmail@gsk.com, www.gsk.cz, www.GSKOncology.com

PÁTEK 27. LISTOPADU



EVROPSKÁ UNIE

MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVYOP Vzdělávání
pro konkurenceschopnostUNIVERZITA
PALACKÉHO
V OLOMOUCI

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Podpora vzdělávání vědeckých pracovníků z oblasti molekulární onkologie
reg. č.: CZ.1.07/2.3.00/09.0089

SATELITNÍ SYMPOZIUM NA DNECH DIAGNOSTICKÉ, PREDIKTIVNÍ A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE

Projekt „Podpora vzdělávání vědeckých pracovníků z oblasti molekulární onkologie“, zkráceně „Molonkol“ si klade za cíl vzdělat lékaře a přírodovědce v oblastech onkologického výzkumu, kde je potřeba mít souběžné znalosti: 1) o současné klinické praxi, 2) o současných možnostech molekulární onkologie, 3) o současných biostatistických a bioinformatických nástrojích a zároveň je potřeba ovládat grantové dovednosti řízení projektů a publikování výsledků v impaktovaných, anglicky psaných časopisech.

Webové stránky projektu jsou dostupné na adrese: <http://www.molonkol.org/>.

Aktivita projektu „Satelitní sympozium na Dnech diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie“ v rámci Molonkolu přináší vyžádané přednášky národně i mezinárodně uznávaných odborníků na vybraná aktuální témata z oblasti onkologického výzkumu a vývoje.

Účastníci sympozijních přednášek obdrží studijní materiály a certifikát o účasti.

Na program v roce 2009 budou přednášky:

9:00–9:40 GASTROINTESTINÁLNÍ STROMÁLNÍ NÁDORY / Předsedající: Melichar B.

1. Melichar B.: **Systémová léčba gastrointestinálních stromálních nádorů**
2. Neoral Č.: **GIST – z pohledu chirurgické intervence**

9.40–10.40 NOVÁ PROTINÁDOROVÁ LÉČIVA A LÉČEBNÉ STRATEGIE V ONKOLOGII

1. Klener P.: **Angiogeneze jako součást nádorového „ekosystému“ a možnosti jejího ovlivnění**

10.40–11.00 Přestávka

11.00–12.20 MOLEKULÁRNÍ ONKOLOGIE V CÍLENÉ BIOLOGICKÉ LÉČBĚ – HEMATOONKOLOGIE / Předsedající: Papajík T.

1. Kubová Z., Papajík T., Procházka V., Indrák K.: **Nežádoucí účinky léčby monoklonálními protilátkami v hematoonkologii, jejich prevence a léčba**
2. Rohoň P., Faber E., Indrák K.: **Inhibitory tyrozínových kináz - cílená léčba myeloidních neoplázií, ale i solídních nádorů**
3. Klener P. jr., Molinský J., Marková M., Leahomschi S., Šimonová T., Anděra L., Nečas E., Živný J.: **Zvýšená exprese kaspázy 10 se paradoxně podílí na rezistenci buněk T-lymfoblastické leukemie Jurkat na TRAIL (TNF – related apoptosis inducing ligand)**
4. Hajdúch M.: **Molekulární prediktory účinnosti protinádorové léčby – současný stav a výhled na rok 2010**

12:20–13:20 Oběd

13:20–14:20 KOLOREKTÁLNÍ KARCINOM / Předsedající: Havlík R.

1. Študentová H.: **Biologická léčba v rámci kolorektálního karcinomu**
2. Klementová Y., Čwierka K.: **Radioterapie ve vztahu k biologické léčbě u kolorektálního karcinomu**
3. Havlík R.: **Současné možnosti chirurgické léčby jaterních metastáz kolorektálního karcinomu**

14:20–15:05 KARCINOM PRSU / Předsedající: Fínek J.

1. Fínek J.: **Testování a nejmodernější léčba karcinomu prsu**
2. Fínek J.: **Projekt „Moje pacientka“**
3. Vránová E., Vykoukalová E., Dvořáková A.: **Klinické sledování pacientek s dědičným syndromem nádoru prsu**

15:05 Závěr

POSTERY:

1. Lachnitová L.: **Analýza buněčného cyklu jako důležitý nástroj při hledání nových potenciálních léčiv s cytostatickými účinky**
2. Zimovjanová M.: **Je možné predikovat léčebnou odpověď kolorektálního karcinomu na 5-fluorouracil?**
3. Bouchalová K.: **Vyšetření TOP2A genu u pacientů s „triple negativním“ karcinomem prsu s cílem predikce odpovědi na léčbu antracykliny**
4. Vaclová T.: **Modulation of p38 MAPK pathway activity can influence viability of melanoma cells**
5. Uvírová M.: **Využití metody FISH u diagnosticky obtížných melanomových lézí – kazuistika**
6. Lehnerová M.: **Výsledky stanovení chromozomálních aberací na otiskových preparátech čerstvé tkáně nádorů mozku**
7. Cetkovská K.: **Newly identified interaction of MDM2 with GTF2I might be involved in the regulation of cellular stress response pathways**
8. Slobodová Z.: **Prognostický a prediktivní význam exprese CD40 u karcinomu prsu**
9. Dzian A.: **Asociácia genetických polymorfizmov génov biotransformačných a DNA reparačných enzýmů (GSTM1, GSTT1, GSTP1, hOGG1, XRCC1) vo vzťahu k riziku vzniku karcinómu pľúc**
10. Čmielová J.: **Porovnání účinků vanadocen dichloridu a cisplatiny u buněk MOLT-4 – změny v expresi p53 a indukci apoptózy**
11. Sivoňová M.: **Vztah medzi polymorfizmami génov zúčastňujúcimi sa metabolismu androgénov a rizikom vzniku karcinómu prostaty**
12. Vidláková P.: **Separace monocytárních buněk pomocí přístroje Elutra**
13. Tvrdík D., Berková A., Melčáková Š., Vogeltanzová J., Povýšil C.: **Pilotní studie srovnání dvou molekulárně-biologických metod v diagnostice karcinomu prsu**

VÁŽENÉ KOLEGYNĚ, KOLEGOVÉ, MILÍ PŘÁTELÉ!

Dovolte, abych Vás jménem organizátorů konference, jménem Sekce diagnostické a prediktivní onkologie České onkologické společnosti ČLS JEP i jménem svým co nejsrdečněji přivítal na pátém ročníku Dnů diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie v Olomouci.

Naši tradiční konferenci i v letošním roku doplňuje druhý ročník Sympózia o cílené biologické léčbě nádorů. Tato kombinace zřetelně rozšiřuje spektrum příznivců prediktivní, diagnostické a experimentální onkologie o klinické pracovníky a napomáhá průniku prognostických a prediktivních faktorů do rutinní klinické praxe. Poslední dva roky byly mimořádně náročné na prediktivní diagnostiku. V roce 2008/2009 se zavedlo vyšetřování mutací genu KRAS u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem indikovaných k podání EGFR1 inhibitorů cetuximab a panitumumab. Současně byla v letošním roce schválena indikace cílené biologické léčby nízkomolekulárním inhibitorem EGFR1 gefitinib u nemocných s nemalobuněčným karcinomem plic a aktivační mutací genu EGFR1. Tato nová diagnostika bude v rutinním použití zřejmě od roku 2010 i u nás.

Pokusili jsme se pro Vás připravit atraktivní program s dostatkem času pro diskusi, který na řadě podobných akcí postrádáme. Všem Vám proto děkuji za vstřícnost, pomoc a trpělivost, kterou jste vůči organizátorům projevíli. Věřím, že každý z vás v letošním programu najde něco zajímavého a podnětného.

Na konferenci budou opět vyhlášeny Ceny za nejlepší prezentovanou přednášku a poster, které jsou tradičně spojeny s finanční odměnou. Tuto cenu vyhlašuje naše Nadace pro výzkum rakoviny "Rakovina věc veřejná", o jejichž rozsáhlých aktivitách v našem regionu i mimo něj se můžete dočíst na www.vecverejna.cz.

Očekáváme Vaše zkušenosti a náměty, které přispějí k dalšímu zlepšení naší společné práce a těším se na setkání s Vámi na Dnech diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie v Olomouci.

Se srdečným pozdravem,

doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.

koordinátor konference

předseda Sekce diagnostické a prediktivní onkologie

České onkologické společnosti ČLS JEP

ÚVOD

Předsedající: Mihál V. / středa / 25. 11. 2009 / 14.10–15.30

Modely transgenních zvířat ve výzkumu nádorových onemocnění

doc. Radislav Sedláček, Ph.D.

Ústav molekulární genetiky AV ČR, Praha

Studium komplexních biologických procesů, včetně procesů kancerogenních, se často neobejde bez vědeckých analýz *in vivo* za použití myších modelů, které poskytují mnohé důležité výhody. Donedávna byla karcinogeneze *in vivo* studována pomocí indukce chemickými či fyzikálními faktory nebo se používaly modely založené na transplantaci. V současnosti je možné využít technologií nových, založených na vytváření specifických transgenních myších linií, které vyvíjejí tumory spontánně nebo dovolují vytváření modelů, jejichž vznik je indukibilní a kondicionální. Je možné kontrolovat čas i místo vzniku tumorů téměř v každém myším orgánu. Tvorba takovýchto modelů dovoluje studovat nejen funkci vybraných genů nebo jejich skupin v patologických procesech, ale dovoluje využít těchto modelů i pro výzkum cílených léčebných postupů.

Pro vytváření tkáňově specifických modelů karcinogeneze je možné efektivně a prakticky využít geneticky modifikovaných myších modelů za pomoci pronukleární injekce modifikované DNA. Transgenní myši vytvářené tímto způsobem mohou nést i kontrolní kazety, dovolující zapínání a vypínání exprese genů, které mohou interferovat s mnohými fyziologickými funkcemi, např. onkogeny. Mnohé mutace mohou mít ale i letální efekty při embryonálním vývoji a pak je vhodné využít sofistikované technologie pro vnášení DNA-konstruků se specifickými kondicionálními mutacemi do myších embryonálních kmenových buněk. Tato kondicionální strategie využívá v prvním kroku homologní rekombinace, při které se začlenění požadovaná mutace do DNA pluripotentních embryonálních kmenových buněk. Kondicionovanou inaktivaci vybraného genu (knockout) nebo inserce kódující sekvence (knock-in) lze dosáhnout za použití indukované nebo tkáňově specifické Cre- nebo Flp-rekombinace.

Piaty rok realizácie Národného programu centralizovanej

bioptickej diagnostiky a mutačných analýz gastrointestinálnych stromálnych tumorov v SR

prof. MUDr. Lukáš Plank, CSc.¹,

MUDr. Jozef Šufliarsky²,

MUDr. Peter Szépe, CSc.¹,

RNDr. Zora Lasabová, Ph.D.³,

RNDr. Gabriel Minárik, Ph.D.⁴,

Mgr. Tatiana Burjanivová, Ph.D.³,

Ing. Peter Brabec⁵

¹ Ústav patologickej anatómie JLF UK a MFN v Martine

² Interná oddelenie a NOÚ v Bratislave

³ Ústav molekulovej biológie JLF UK v Martine

⁴ Geneton s.r.o, Bratislava

⁵ Inštitút biomedicínskych analýz MU v Brne

Gastrointestinálne stromálne tumory (GIST) sú v porovnaní s epitelovými nádormi GITu pomerne zriedkavé. Preto v SR vznikol od januara 2005 v SR projekt centralizovanej bioptickej diagnostiky GIST-ov, ktorý zahŕňa okrem vlastnej bioptickej diagnostiky aj mutačné analýzy c-KIT-u a PDGFR. Nádorové tkanivo GISTu fixované vo formole a zaliate do parafínu, je vyšetřované v regionálne príslušných pracoviskách patológie v SR. Prípady biopsticky diagnostikované ako GIST alebo ako nádor s potrebou diferenciálnej diagnostiky GIST-u sú vo forme parafínových bločkov zasielané na naše pracovisko na verifikáciu diagnózy. Tá zahŕňa aplikáciu panelu histologických a imunohistochemických vyšetření (detekcia vimentínu, CD117, CD34, svalovo-špecifických antigénov, S-100 proteínu, cytokeratínov a iných antigénov podľa potreby), vrátane stanovenia mitotickej aktivity a proliferatívneho Ki-67 indexu. Súčasťou vyšetřenia je stanovenie stupňa rizika malígneho správania GISTu podľa 2 prístupov (Fletcher a spol., 2002 a Miettinen a Lasota, 2006). Z parafínových rezov je izolovaná DNA, následne vyšetřená PCR metódou s použitím špecifických primerov pre exóny 8, 9, 11, 13 a 17 c-KIT-u, ako aj pre exóny 12, 14 a 18 PDGFR alfa. Získané produkty sú po purifikácii podrobené sekvenačnej analýze. Jednotlivé prípady sú tak v klinickej, ako aj bioptickej časti dokumentované v samostatnom reGISTri týchto nádorov

v SR a v ČR. Keďže v predterapeutickú fázu sa mutácie v GISToch vyskytujú ako tzv. exkluzívne mutácie, ich vyšetřovanie prebieha podľa nami stanovených algoritmov, ktoré zohľadňujú morfológický typ GIST-u (vretenobunkový, epiteloidný a zmiešaný), ako aj lokalizáciu GISTu (žalúdočný verus tenkočrevný verus hrubočrevný, resp. iný). Výsledky centralizovaného vyšetřenia s uvedením stupňa rizika malígneho správania a mutačných analýz sú bezprostredne komunikované príslušnému onkológovi, ktorý indikuje cieľnú terapiu a rozhoduje o jej dávke (v závislosti od uvedených parametrov). V práci sa predstavujú používané postupy a diagnostické algoritmy, ako aj výsledky analýz na súbore doteraz vyšetřených 220 pacientov s GISTom. Národný program prispel k štandardizácii diagnostiky GISTov v SR a poskytuje aj prognostické a prediktívne údaje, ktoré sú dôležité pre terapeutické rozhodovanie a osud pacienta.

Práca na projekte je podporená grantom fy. Novartis a „Centrom excelentnosti pre perinatologický výskum“, ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov ES-ERDF (ITMS code 26220120016).

Mutace genů EGFR1 a KRAS u nádorových onemocnění

doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.

Laboratoř experimentální medicíny,
Dětská klinika LF UP a FN Olomouc

Klinická onkologie čelí v posledních několika letech stoupajícímu počtu výsledků plynoucích z molekulárního výzkumu biochemie maligních onemocnění, jejichž implementace vede ke specifitější léčbě nádorů. Vůbec nejčastěji jsou nová protinádorová léčiva směřována do rodiny HER (ERBB). Jedním z nejvíce sledovaných protoonkogenů je gen HER2, jehož amplifikace vede k nadprodukci receptoru, což se dává do souvislosti se vznikem různých typů nádorů u člověka (například karcinomy prsu, ovaria, gastrointestinálního traktu). Patogenetická souvislost mezi nádorovou proliferací a amplifikací HER2 dala podnět k přípravě blokující humanizované protilátky proti extracelulární doméně genu HER2, toto léčivo bylo později vyvinuto a registrováno pro léčbu karcinomu prsu pod názvem trastuzumab.

Obdobně je i gen HER1 (EGFR1) vhodný k cílenému léčebnému ovlivnění. Ke zvýšené aktivaci proteinu EGFR1 v nádorech dochází jeho overexpresí, amplifikací, delecí extracelulární domény nebo aktivujícími mutacemi v tyrozinkinázové doméně receptoru. Proti neřízené aktivaci proteinu EGFR1 je zaměřena cílená terapie nízkomolekulárními i vysokomolekulárními inhibitory EGFR1, které po navázání na protein inhibují fosforylaci tyrozinkinázové části receptoru (nízkomolekulární inhibitory

– gefitinib a erlotinib) nebo brání interakci s ligandou na extracelulární části receptoru (vysokomolekulární inhibitory, např. cetuximab a panitumab) a následně tak blokují aktivaci následných signálních drah. Naopak aktivační mutace onkogenu KRAS, který je lokalizovaný pod EGFR1 receptorem, je signálem pro rezistenci na terapii EGFR1 inhibitory. Vyšetření aktivačních mutací genu KRAS i EGFR1 se stalo indikačními kritérii pro nasazení inhibitorů EGFR1 receptoru.

Terapie cílenými protinádorovými léčivými je mimořádně nákladná a převážně účinná ve skupině pacientů s jednoznačnou patologickou aktivací příslušného genu, což vede ke zvýšeným požadavkům na přesné vyšetření řady prognosticko-prediktivních parametrů, jejíž význam bude v přednášce podrobně diskutován.

Poděkování: Práce na projektu byla podporována granty MSM6198959216 a LC07017.

PROGNOSTICKÉ A PREDIKTIVNÍ FAKTORY I.

Předsedající: Hajdúch M. / středa / 25. 11. 2009 / 15.50–17.05

C-MYC gen jako prognostický znak a možný prediktor léčby u karcinomu prsu, současné poznatky a naše zkušenosti s jeho vyšetřením

MUDr. Kateřina Bouchalová, Ph.D.¹,
MUDr. Magdalena Čížková^{1,2},
MUDr. Karel Cwiertka, Ph.D.²,
prof. MUDr. Zdeněk Kolář, CSc.³,
RNDr. Radek Trojanec, Ph.D.¹,
Mgr. Vladimíra Koudeláková¹,
Soňa Mičochová¹,
prof. MUDr. Vladimír Mihál¹,
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.¹

¹ Laboratoř experimentální medicíny, Dětská klinika LF UP a FN Olomouc

² Onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc

³ Laboratoř molekulární patologie, Ústav patologie, LF UP a FN Olomouc

Úvod: Gen C-MYC kóduje nukleární DNA vazebný protein, regulující proliferaci a apoptózu. Amplifikace onkogenu C-MYC je jedna z nejčastějších změn u karcinomu prsu a je nalézána v různých studiích u 1–94 % pacientů. Amplifikace je spojena se špatnou prognózou: nemocní dříve relabují a mají horší celkovou dobu přežití. Zmnožení genu C-MYC je také asociováno s estrogenovou a progesteronovou negativitou. C-MYC deregulace se vyskytují převážně u mladých pacientů. Amplifikace C-MYC onkogenu může být rovněž pozitivním prediktorem odpovědi pacientů s karcinomem prsu na trastuzumab, především je-li hranice amplifikace stanovena níže, než je obvykle používáno (poměr genu k chromozomu 1,3,

vs. 2,0). C-MYC delecí byla poprvé publikována v roce 2009, klinický význam této cytogenetické změny nebyl dosud popsán.

Metody: C-MYC gen byl vyšetřen pomocí fluorescenční in situ hybridizace (FISH) na formalinem fixovaných v parafínu zalitých vzorcích nádorové tkáně v neselektovaných vzorcích karcinomu prsu a v souboru „triple negativních“ karcinomů prsu.

Výsledky: Je dokončována analýza výsledků cytogenetických změn (amplifikace, delecí C-MYC genu, polyzomie 8. chromozomu). V souboru neselektovaných pacientů s karcinomem prsu byla nalezena vzácná delecí C-MYC, formou case reportu bude prezentován klinický průběh onemocnění tohoto pacienta. V případě „triple negativních“ vzorků jsme amplifikaci C-MYC zjistili u 10,5 %, (2/19) nemocných.

Závěr: Amplifikace C-MYC je u karcinomu prsu častá cytogenetická změna a je negativním prognostickým znakem, avšak aktuální práce ukazují na to, že může zároveň představovat pozitivní prediktor odpovědi na trastuzumab. Klinický význam nově objevené delecí C-MYC nebyl dosud popsán. Představujeme case report pacientky s delecí tohoto onkogenu. Klinický význam delecí onkogenu C-MYC je potřeba analyzovat pomocí rozsáhlejší klinické studie k pochopení klinického významu tohoto vzácného cytogenetického nálezu.

Podpořeno granty Ministerstva zdravotnictví IGA NS10286-3, Ministerstva školství (MSM6198959216, LC07017) a EEA/Norway Financial Mechanisms (CZ0099).

Diagnostické a léčebné postupy u pacientů s hemangioblastomy

MUDr. Ondřej Kalita, Ph.D.¹,
MUDr. Miroslav Vaverka, CSc.¹,
MUDr. Lumír Hrabálek, Ph.D.¹,
MUDr. Pavel Kratochvíl²,
MUDr. Pavel Rajon²,
doc. MUDr. Alena Šantavá, CSc.³,
MUDr. Anna Křepelová⁴,
MUDr. Alice Hlobílková, Ph.D.⁵,
prof. MUDr. Jiří Hermann, Ph.D.⁵,
prof. MUDr. Michael Houdek, CSc.¹

¹ Neurochirurgická klinika LF UP a FN Olomouc

² Urologická klinika LF UP a FN Olomouc

³ Oddělení klinické genetiky LF UP a FN Olomouc

⁴ Ústav biologie a lékařské genetiky II. LF UK a FN Praha-Motol

⁵ Laboratoř molekulární patologie, Oddělení patologie LF UP a FN Olomouc

Úvod: Hemangioblastom (HB), patří mezi pomalu rostoucí, benigní nádory nervového systému (WHO gr. 1). Tvoří 0,9 až 2,1 % všech nádorů CNS a 1,8–3 % intraspinalních tumorů; z toho cca 65 % jsou cystické a 35 % solidní. Typicky se vyskytuje v zadní jámě lebni, kde tvoří 7–12 % všech nádorů. HBs se dle literárních údajů vyskytují v 75–80 % jako sporadické a v 25–20 % jako hereditární v rámci von Hippel-Lindauovy choroby (mVHL). Oba „typy“ HBs se neliší v chirurgické morbiditě a mortalitě. Rozdíl je ve věku manifestace, postižení jednotlivých částí CNS a výskytu vícečetných lézí. Indikace a postupy chirurgického řešení u klinicky manifestních,

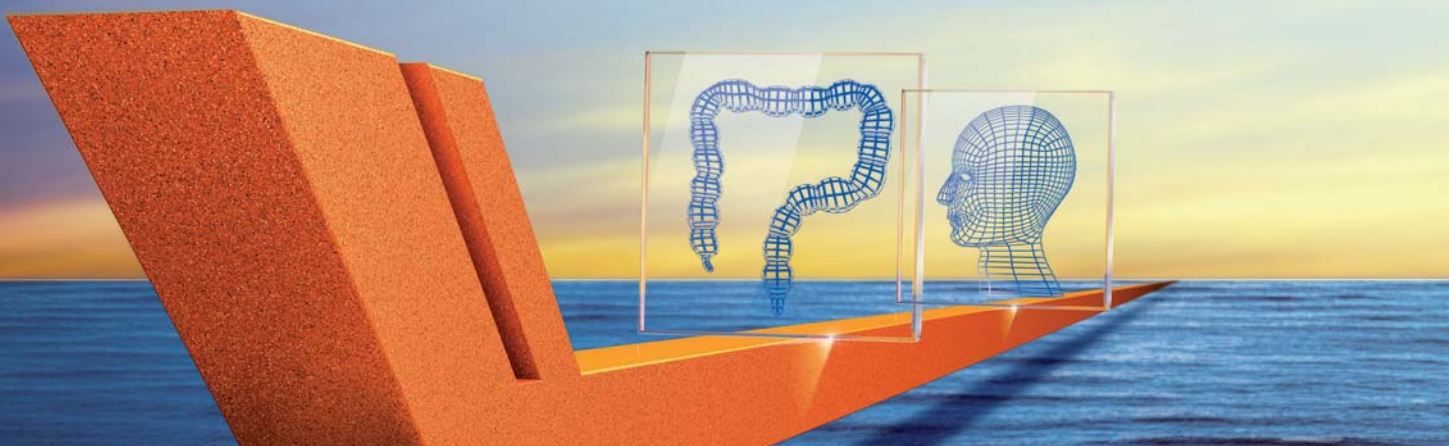
ERBITUX – účinná individualizovaná léčba

- 1. linie léčby metastazujícího kolorektálního karcinomu

Významné prodloužení přežití bez progresu onemocnění a zvýšení odpovědi na léčbu u pacientů s nemutovanou formou genu KRAS* 1,2

- 1. linie léčby recidivujícího a/nebo metastazujícího karcinomu hlavy a krku

Erbix přidaný k chemoterapii na bázi platiny významně zvyšuje celkové přežití 3



Merck Serono Oncology | *Combination is key™*

ERBITUX® 5 mg/ml infuzní roztok – Zkrácená informace o přípravku

Léčivá látka: cetuximabum **Složení:** 5 mg cetuximabu v 1 ml infuzního roztoku. **Indikace:** K léčbě pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem (mCRC) exprimujícím receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR) a vykazujícím gen KRAS divokého typu. Erbitux přidaný k chemoterapii na bázi platiny významně zvyšuje celkové přežití a/nebo jako samostatnou látku k léčbě pacientů, u kterých selhala léčba na základě oxaliplatinu a irinotekanu, a pacientů, kteří nesnáší irinotekan. Erbitux je indikován v kombinaci s radiační terapií k léčbě pacientů s lokálně pokročilým spinocelulárním karcinomem hlavy a krku a/nebo v kombinaci s chemoterapií na bázi platiny k léčbě opakovaného a/nebo metastazujícího onemocnění. **Dávkování a způsob podání:** Erbitux je podáván 1x týdně. Úvodní dávka cetuximabu je 400 mg/m² tělesného povrchu, následující týdenní dávky jsou každá 250 mg/m². Pacienti musí být premedikováni antihistaminiky a kortikosteroidy. U kolorektálního karcinomu je doporučeno provádět léčbu cetuximabem do progresu základního onemocnění. U pacientů s lokálně pokročilým spinocelulárním karcinomem hlavy a krku se cetuximab používá souběžně s radiační terapií. Doporučuje se zahájit terapii cetuximabem jeden týden před radiační terapií a pokračovat v terapii cetuximabem do konce období radiační terapie. Erbitux se podává intravenózně pomocí infuzní pumpy, infuzí po spádu nebo injekční pumpou. **Kontraindikace:** Erbitux je kontraindikován u pacientů se známou závažnou (stupeň 3 nebo 4) přecitlivělostí na cetuximab nebo radiační terapii. **Nežádoucí účinky:** **Hypersenzitivní reakce:** Mírné až středně závažné reakce (stupeň 1 nebo 2) zahrnují příznaky jako je horečka, třesavka, nevolnost, vyrážka nebo dušnost. K těžkým formám reakcí z přecitlivělosti (stupeň 3 nebo 4) dochází obvykle v průběhu nebo do 1 hodiny po ukončení úvodní infuze. Mezi příznaky patří rychlý nástup obstrukce dýchacích cest (bronchospasmus), kopřivka a/nebo hypotenze. Častý je výskyt hypomagnezémie, který je reverzibilní po vysazení přípravku. V kombinaci s lokální radiační terapií se objevily nežádoucí účinky, které jsou pro radiační terapii typické: mukosida, radiační dermatitida a dysfagie nebo leukopenie, převážně ve formě lymfocytopenie. **Kožní reakce:** Zahrnují zejména akneiformní vyrážku a/nebo poruchy nehtů (paronychie). **Zvláštní upozornění:** U pacientů léčených cetuximabem byly zaznamenány závažné (stupeň 3 nebo 4) reakce z přecitlivělosti. Příznaky se objevily v průběhu nebo do 1 hodiny po ukončení úvodní infuze, ale mohou se objevit po několika hodinách. Výskyt závažných reakcí z přecitlivělosti vyžaduje úplné a trvalé přerušení léčby cetuximabem. **Interakce:** V kombinaci s infuzemi 5-fluorouracilu se zvyšuje četnost výskytu srdeční ischemie, včetně infarktu myokardu a městnavého srdečního selhání, stejně jako četnost výskytu syndromu ruka-noha. Nejsou k dispozici údaje o tom, že bezpečnostní profil cetuximabu je ovlivněn irinotekanem nebo naopak. **Léková forma a balení:** Infuzní roztok. Balení obsahuje jednu 20 ml lahvičku s obsahem 100 mg cetuximabu. **Uchování:** Uchovávejte v chladničce (2 – 8 °C). Chraňte před mrazem. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Merck KGaA, 64293 Darmstadt, Německo. **Registrační číslo:** EU/1/04/281/003. **Datum poslední revize textu:** 11/2008. Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků zdravotního pojištění po selhání cytostatické léčby irinotekanem u mCRC a v kombinaci s radiační terapií k léčbě pacientů s lokálně pokročilým spinocelulárním karcinomem hlavy a krku. O úhradě v léčbě 1. linie se zatím jedná.

* v kombinaci se standardní chemoterapií

KRAS protein kódovaný proto-onkogenem KRAS je součástí signální dráhy receptoru pro epidermální růstový faktor

1. Van Cutsem et al. KRAS status and efficacy in the first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer treated with FOLFIRI with or without cetuximab: The CRYSTAL experience. ASCO Annual Meeting 2008: Abstract 2.
2. Bokemeyer et al. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol 2008; epub ahead of print <http://jco.ascopubs.org/cgi/doi/10.1200/JCO.2008.20.8397>
3. Vermorken et al. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. N Eng J Med 2008; 359:1116-27.

Úplnou informaci o přípravku obdržíte na adrese:

Divize Merck Serono, Merck Pharma k.s.,
Na Hřebenech II. 1718/10 140 00 Praha 4
Tel.: +420 272 084 211, Fax: +420 272 084 307
erbitux@merck.cz, www.erbitux.cz, www.erbitux-international.com

sporadických i hereditárních HB nepřekračují zavedené mikrochirurgické standardy. Problémem je skupina nemocných, postižených mVHL, kde je nutné myslet na recidivy a vznik dalších ložisek v rámci CNS (timing sledování, indikace k operaci...), ale i na vývoj extraneurálních tumorů (retina, periferní nervy, ledviny, pankreas, nadledviny, saccus + ductus endolymfaticus, nadvarle a adnexa). Základem je identifikace pacientů, jejich sledování a mezioborové spolupráce. Právě na tyto nemocné je zaměřena naše strategie.

Metoda: Pro výběr pacientů vhodných k dalšímu sledování byl vybrán tento postup. Každému pacientovi s HB je proveden základní screening: vyšetření očního pozadí, ultrazvukové vyšetření dutiny břišní a MRI zbývajících částí CNS. V případě pozitivního nálezu v dutině břišní následuje CT břicha s kontrastem a urologické, chirurgické a endokrinologické vyšetření. Ze skupiny s negativním základním screeningem jsou vybráni nemocní do 50 let a nemocní s HBs uloženými intraspinálně a v mozgovém kmeni, taktéž s recidivujícími a mnohočetnými lézemi CNS. Dále i pacienti s pozitivní rodinnou anamnézou, ke kterým jsou přidáni příbuzní z první linie, pro HB operováni na naší klinice v předchozích letech. Nakonec je všem doplněno genetické vyšetření na somatickou mutaci mVHL (3p25–26). Touto selekcí za 2 roky vznikla skupina 10 pacientů.

Výsledky: V prezentaci je ukázána dostupná a rychlá identifikace problematické skupiny nemocných, ohrožených vývojem dalších projevů mVHL. V rychlém přehledu budou shrnuty výsledky sledování, indikace a postupy operací vzhledem k jednotlivým manifestacím nemoci. Původní diagnostika založená na výskytu více HBs v rámci CNS, nebo izolované lézi s viscerální manifestací, popř. pozitivní rodinnou anamnézou, by měla být v současnosti doplněna i genetickým vyšetřením.

Závěr: Jak již bylo řečeno z NCH hlediska chirurgická mortalita a morbidita se jak u sporadických, tak u hereditárních HBs neliší. Celková M/M je závislá na lokalizaci TU, přítomnosti cystické složky a klinickém nálezu. I když se CNS léze v rámci mVHL manifestují v poměrně brzkém věku (cca 34 let), výrazněji neovlivňují morbiditu. Přesto, nebo právě proto je nutné pravidelné sledování jak existujících, tak i nově vznikajících intraneurálních HBs (průměrná doba vzniku nových HBs 2,1 roku) s opakovaným zvažováním chirurgické intervence. Na „life expectancy“ (cca 40–50 let) se podílí především extraneurální tumory (ca ledvin), proto je zde nezbytná spolupráce s lékaři jiných oborů – v plné šíři se zde uplatňuje multidisciplinární přístup.

Sledování prognostického a prediktivního významu některých epigenetických mechanismů u různých typů plicních nádorů

MUDr. et MVDr. Jozef Škarda, Ph.D.³,

MUDr. Josef Srovnal⁴,

Mgr. Lenka Radová, Ph.D.⁴,

Dr. Ninette Amariglio, Ph.D.^{1,2},

prof. M.D. Gideon Rechavi, Ph.D.^{1,2},

¹ Cancer Research Center, Chaim Sheba Medical Center, Tel Hashomer 52621, Israel

² Sackler School of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv 69978, Izrael

³ Department of Pathology and Laboratory of Molecular Pathology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital in Olomouc, Czech Republic

⁴ Department of Pediatrics and Laboratory of Experimental Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital in Olomouc, Czech Republic

Je obecně známo, že deregulace epigenetických mechanismů se významnou mírou podílí na nádorové transformaci a progresi. RNA editing adenosinu na inozin je specifická modifikace helikálních struktur prekurzorových mRNA. Tento proces je katalyzován takzvanými ADAR (adenosine deaminase acting on RNA) enzymy.

Cílem naší práce byla detekce frekvence editovacích míst v kódovacích sekvencích transkriptů p53, BRCA1, CYFIP2, FLNA a BCLAP a ověření jejího prognostického významu. Uvedené editovací sekvence byly detegované v normální plicní tkáni a ve zmražených vzorcích adenokarcinomů, spinocelulárních karcinomů, malobuněčných karcinomů, intimálního sarkomu plicnice a plicních karcinoidů pomocí RT-PCR a biometrické analýzy. Dané výsledky byly následně korelovány s délkou bezpříznakového období, délkou přežití a výsledky testu viability primárních nádorových linií. Bylo zjištěno, že frekvence editování RNA je dvojnásobně vyšší v nenádorové plicní tkáni oproti plicním nádorům – (9.13 % oproti 4.43 %, $p=0,01$). Dále byly zjištěné signifikantní rozdíly v editování FLNA ($p=0,0001$) a BCLAP ($p=0,0125$) transkriptů mezi adenokarcinomy a velkobuněčnými karcinomy plic. Byla zjištěna signifikantní korelace mezi frekvencí editování genu BCLAP a in vitro citlivostí na vepesid ($p=0,09$), doxorubicin ($p=0,09$) a mitomiciklin ($p=0,05$). Zvýšená frekvence

editování RNA pro gen BCLAP byla spojená s horším celkovým přežitím pacientů s nemalobuněčným karcinomem plic ($p=0,04$).

Závěr: Změny ve frekvenci editování v kódovacích sekvencích výše uvedených genů mají prognostický a prediktivní význam pro pacienty s nemalobuněčným karcinomem plic.

Tato práce byla podpořena granty MŠMT 61875921, IGA MZ ČR 10259-3, 9959-3 a vnitřním grantem LF UP 91110281.

Cytogenetické změny u pacientek s ca prsu a polyzomií chromozomu 17: Význam pro diagnosticko-léčebnou rozvahu

Mgr. Vladimíra Koudeláková¹,

RNDr. Radek Trojanec, Ph.D.¹,

MUDr. Magdalena Čížková^{1,2},

MUDr. Kateřina Bouchalová, Ph.D.¹,

Hana Ondryášová¹,

Mgr. Jana Fürstová¹,

Mgr. Lenka Radová, Ph.D.¹,

Soňa Mlčochová¹,

doc. RNDr. Ladislav Dušek, Ph.D.³,

prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D.²,

doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.¹

¹ Laboratoř experimentální medicíny, Dětská klinika, LF UP a FN Olomouc

² Onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc

³ Institut biostatistiky a analýz, MU Brno

Amplifikace a/nebo nadměrná exprese genu Her-2/neu bývá nalézána přibližně u 20 % pacientek s karcinomem prsu a je spojena s vyšší agresivitou nádoru a špatnou prognózou. Pro léčbu Her-2/neu pozitivních karcinomů prsu byla vyvinuta humanizovaná monoklonální protilátka trastuzumab (Herceptin, Genentech; anti-p185Her2) specifická na Her-2/neu extracelulární doménu. Podávání trastuzumabu s sebou přináší zvýšení rizika kardiotoxicity a při adjuvantní léčbě s očekáváním dlouhodobého léčebného výsledku nelze toto riziko podcenit. Identifikace pacientů, kteří mohou z terapie zahrnující trastuzumab významně profitovat, je proto nezbytná. Status genu Her-2/neu je standardně vyšetřován metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) a imunohistochemicky. K léčbě trastuzumabem lze pacientky indikovat v případech, že je poměr počtu kopií genu Her-2/neu a počtu kopií chromozomu 17 (CH17) vyšší, nebo roven 2,2 a/nebo na základě vysoce pozitivních výsledků imunohistochemie 3+.

Do zvláštní skupiny karcinomů prsu lze řadit ty případy, u kterých je vyšší počet kopií

genu Her-2/neu důsledkem zvýšeného počtu kopií chromozomu 17 (polyzomie CH17), jedná se o tzv. nepravou amplifikaci. Polyzomie chromozomu 17 bývá nalezena u 10–20 % případů karcinomu prsu a je spojena s horší prognózou. Díky polyzomii chromozomu 17 není na základě FISH vyšetření k léčbě trastuzumabem indikováno asi 5–7 % patientek, jelikož nesplní kritérium poměru počtu signálů Her-2/neu : CH17 $\geq 2,2$. Účinnost trastuzumabové terapie nebyla dosud u patientek s polyzomií CH17 dostatečně ověřena, avšak v České republice je na základě konsensu tato terapie indikovaná i u patientek s polyzomickými nádory, pokud jsou imunohistochemicky vysoce pozitivní (3+).

Kromě amplifikace genu Her-2/neu jsou u patientek s karcinomem prsu často nalézány mutace dalších protoonkogenů a chromozomů. K nejčastěji alterovaným patří protoonkogeny TOP2A (topoizomeráza 2 α), C-MYC, CCND1 (cyclin D1). V naší práci jsme se zabývali stanovením počtu kopií genů C-MYC a CCND1 a chromo-

zomů 8 a 11 metodou FISH. Početní alterace těchto genů se jeví jako velmi zajímavé, a to jak z hlediska prognostického, tak i prediktivního. Amplifikace C-MYC genu byla u karcinomu tračnicku popsána jako příznivý prediktor pro léčbu 5-fluorouracilem. Pro karcinom prsu dosud nebyla podobná studie provedena. Amplifikace genu CCND1 je u pacientů s ranými stadii karcinomu prsu a pozitivními hormonálními receptory považována za negativní prediktivní faktor pro léčbu tamoxifenem. Je tedy zřejmé, že tyto prediktivní markery mohou mít velký význam při rozhodování o indikaci léčebného režimu. Pro pilotní analýzu bylo vybráno celkem 280 patientek, u 112 (40 %) z nich byla již dříve metodou FISH stanovena polyzomie chromozomu 17 (počet kopií CH17 $\geq 2,5$). Amplifikace C-MYC byla nalezena u 48,2 % (54/112) patientek s polyzomií chromozomu 17 vs. 10,7 % (18/168) patientek bez polyzomie. Amplifikace genu CCND1 byla nalezena u 47,3 % (53/112) patientek s polyzomií chromozomu 17 vs. 23,2 % (39/168) patientek bez polyzomie. Zvýšený počet ko-

pií chromozomu 8 ($\geq 2,5$) byl nalezen u 34,8 % (39/112) patientek s polyzomií chromozomu 17 vs. 2,4 % (4/168) patientek bez polyzomie. Zvýšený počet kopií chromozomu 11 ($\geq 2,5$) byl nalezen u 23,2 % (26/112) patientek s polyzomií chromozomu 17 vs. 4,2 % (7/168) patientek bez polyzomie. U patientek s polyzomií chromozomu 17 byly nalezeny četnější alterace genů C-MYC, CCND1 a chromozomů 8 a 11, na nichž jsou tyto geny lokalizovány. V současné době je analyzován soubor přibližně 33 patientek, u nichž získáváme klinicko-patologická data, která budou korelována s výsledky cytogenetických vyšetření. Nalezené korelace by mohly potvrdit prediktivní význam amplifikace C-MYC, TOP2A a/nebo CCND1 genu a přispět tak k výběru optimální léčby pro pacienty s invazivním karcinomem prsu.

Tato práce je podporována granty

MSM6198959216, LC07017 a GACR 303/09/H048.

Zvláštní poděkování patří všem spolupracujícím klinickým i laboratorním pracovníkům a pacientům.

PATOFYZIOLOGIE NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

Předsedající: Drábek J. / čtvrtek / 26. 11. 2009 / 9.00–10.10

Modulation of malignant melanoma survival by small molecule inhibitors of cellular stress response pathways

Mgr. Stjepan Uldrijan, CSC.,

Bc. Tereza Vaclová, Mgr. Jindřiška Hammerová,

Bc. Veronika Oralová, Mgr. Kateřina Cetkovská

Masaryk University Brno,

Faculty of Medicine, Department of Biology

Malignant melanoma, despite being a relatively rare type of skin cancer, is responsible for approximately 80 % of all deaths caused by dermatological malignancies. Although the large majority of people diagnosed with early melanoma are cured after surgical excision of the primary tumour, advanced metastatic disease is usually refractory to all available forms of chemotherapy and has a very poor prognosis. The 5-year survival rate is currently estimated at only 6 %, with a median survival time of 6 months.

The most intensively tested targeted therapeutic strategy for malignant melanoma is the inhibition of the ERK mitogen-activated protein

kinase (MAPK) pathway. This signal transduction pathway, which normally regulates cell proliferation and survival in response to extracellular stimuli, is commonly activated in human melanomas by activating somatic mutations of N-Ras and B-RAF proto-oncogenes that are found in approx. 80 % of malignant melanomas. Sorafenib, an oral inhibitor of B-RAF kinase has demonstrated activity against melanoma in preclinical tests and it is currently the most promising drug in clinical trials for the targeted treatment of malignant melanoma.

In contrast to the ERK pathway, the role of other MAPK pathways (JNK and p38) in melanoma cell biology remains unclear. In our experiments, we have tested the response of several melanoma cell lines to small molecule inhibitors of the p38 α/β MAPK pathways. Surprisingly, our results show that the inhibition of p38 leads to the induction of autophagy-like phenotype in melanoma cells. Autophagy is a coordinated dynamic process of cytoplasmic material degradation in lysosomes that is regulated by a set of autophagy (Atg) genes and can promote

both cell survival and cell death. The activation of autophagy seems to promote melanoma cell survival in the absence of p38 signalling, as a simultaneous inhibition of autophagy by chemical inhibitors significantly decreases the survival of p38 inhibitor-treated melanoma cells. In addition to that, the p38 inhibitor-treated cells become extremely sensitive to the endoplasmic reticulum stress induced by thapsigargin, an inhibitor of endoplasmic reticulum calcium pump. This result indicates that p38 MAPK signalling is required for proper unfolded protein response in malignant melanoma cells.

Taken together, our results suggest that p38 MAPK signalling plays an important role in the biology of melanoma cells and together with the unfolded protein response and autophagy pathways might be suitable targets for the development of novel therapeutic strategies for malignant melanoma.

This work was supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (grant LC06077) and the Ministry of Health of the Czech Republic (grant NS10236-3/2009).

Příspěvek ke studiu role proteinu p53 v autofagii

Ing. Ivo Überall, Ph.D.¹,
MUDr. et MUDr. Jozef Škarda, Ph.D.¹,
Mgr. Eva Sedláková¹,
Mgr. Mária Janíková¹,
Mgr. Lenka Radová⁴,
prof. MUDr. Vítězslav Kolek, DrSc.²,
prof. MUDr. Jiří Klein, CSc.³,
MUDr. Ivona Grygárková²,
doc. MUDr. Marián Hajdúch, CSc.⁴,
prof. MUDr. Zdeněk Kolář, CSc.¹

¹ Ústav patologie a Laboratoř molekulární patologie, LF UP Olomouc

² Klinika plicních nemocí a tuberkulózy, FN Olomouci

³ I. chirurgická klinika, FN Olomouc

⁴ Laboratoř experimentální medicíny a Dětská klinika, FN Olomouc

Úvod: V poslední době se stala role autofagie u nádorů často diskutovaným problémem. Autofagie může přispívat jak k nádorové supresi, tak může mít onkogenní potenciál. Na manifestaci různých způsobů zapojení autofagie v tumorigenezi se podílí řada mechanismů (Maiuri et al., 2009). Jedním z nedávno popsáných vztahů mezi autofagií a nádory je význam intracelulární lokalizace proteinu p53 a autofagie. V této souvislosti byla prokázána duální role proteinu p53. Jaderně lokalizovaný protein p53 aktivuje autofagii, zatímco jeho cytoplazmatická lokalizace autofagické procesy inhibuje (Morselli et al. 2009). Vzhledem k zapojení proteinu p53 a autofagie v tumorigenezi může studium těchto vztahů přispět k následné protinádorové terapii.

Metodika: V rámci příspěvku byla hodnocena intracelulární lokalizace mutantního proteinu p53 a dvou proteinů podílejících se na autofagii (Beclin1 jako aktivátor autofagie a potenciální nádorový supresor a BNIP3 rovněž jako aktivátor autofagie v oblastech hypoxického stresu). Jako materiál byly použity tkáňové mikroereje karcinomu plic, na kterých byla provedena imunohistochemická detekce uvedených proteinů s následným statistickým hodnocením. Výsledky exprese proteinů byly korelovány s přežíváním pacientů.

Výsledky: U sledovaných histologických subtypů byla sledována jaderná pozitivita p53 (u adenokarcinomu místy difuzní), cytoplazmatická pozitivita beclinu1 (u adenokarcinomu místy membránová). Protein BNIP3 se v intracelulární lokalizaci lišil v závislosti na histologickém subtypu (např. bronchioalveolární adenokarcinom jaderná pozitivita, spinocelulární adenokarcinom cytoplazmatická pozitivita). V předkládané práci

se nepotvrdil vliv intracelulární lokalizace zkoumaných autofagických proteinů na přežívání pacientů. Byla však prokázána korelace jaderné positivity beclinu1 s kombinovanou pozitivitou mutantního p53, a to jak u všech stadií karcinomu plic ($p < 0,03$), tak u stadií III a IV ($p < 0,045$).

Závěr: Příspěvek je jedním z prvních pokusů o využití autofagických proteinů jako prognostických a prediktivních markerů. Další studium se zaměří na rozdíly v subcelulární expresi autofagických proteinů a p53 u jednotlivých histotypů nádorů a tyto výsledky budou korelovány s přežíváním pacientů.

Literatura: Maiuri MC et al. (2009): Control of autophagy by oncogenes and tumor supresor genes. *Cell Death and Differ* (2009) 16, 87–93. Morselli E. et al. (2009) Anti- and pro-tumor function of autophagy. *Biochim Biophys Acta* (2009): doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.01.006.

Tato práce vznikla

pod záštitou grantu MSM619 895 9216.

Stanovení molekulárního relapsu u pacientů s akutní myeloidní leukémií monitorovaných hladinou exprese genu Wt-1

RNDr. Cedrik Haškovec, CSc.,

Mgr. Jaroslav Polák, Mgr. Hana Hájková,
Ing. Jana Marková, MUDr. Jiří Schwarz, CSc.
ÚHKT Praha

Monitorování minimální reziduální nemoci (MRN) u leukemických pacientů pomáhá předpovědět hematologický relaps a tím umožňuje včasné znovuzahájení léčby. U pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML) máme však specifické molekulární markery pro monitorování MRN u méně než poloviny pacientů. Hledají se proto jiné, nespecifické, molekulární markery. Jedním z velmi nadějných kandidátů u AML je míra exprese genu Wt-1. V naší práci jsme metodou kvantitativní RT-PCR sledovali expresi genu Wt-1 v periferní krvi pacientů AML při diagnóze a v průběhu jejich léčby. Exprese genu Wt-1 jsme pak normalizovali k expresi genu ABL. Výsledky ukázaly, že pacienti v dlouhodobé remisi nepřekračovali hladinu exprese genu Wt-1, kterou jsme stanovili na základě exprese tohoto genu u remisních pacientů a kterou jsme nazvali „upper remission limit“. Na druhé straně, všichni pacienti, kteří relabovali, ji překročili před relapsem v předstihu několika týdnů až měsíců (medián 38 dní). Domníváme se, že námi stanovený „upper remission limit“ je vlastně hladinou molekulárního relapsu a má prognostický význam pro léčbu pacientů s AML.

Práce byla podpořena

grantem IGA MZ ČR: NS10623-3.

Analýza genového profilu reakce štěpu proti hostiteli (GVHD) s využitím čipové technologie

Ing. Jan Verner, Ph.D.¹,
RNDr. Jitka Kabáthová¹,
RNDr. Zbyněk Zdráhal, Dr.²,
Mgr. Alexandra Tomancová¹,
MUDr. Yvona Brychtová¹,
MUDr. Jana Volejníková³,
RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D.¹,
prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc.¹

¹ Centrum molekulární biologie a genové terapie, Sekce nádorové genomiky, Interní hematologická klinika, FN a LF MU Brno

² Oddělení funkční genomiky a proteomiky, Ústav experimentální biologie, PŘF MU Brno

³ Klinika dětské hematologie a onkologie, FN Motol, Praha

Úvod: Reakce štěpu proti hostiteli (GVHD – Graft-versus-Host disease) je rychle progredující systémové onemocnění, které je závažnou komplikací u pacientů po alogenní transplantaci hematopoietických kmenových buněk. Akutní forma (aGVHD) patří k nejčastějším příčinám úmrtí pacienta po transplantaci. GVHD je iniciována imunitní reakcí rádcových T lymfocytů proti buňkám příjemce a nejčastěji postihuje tkáň jater, kůže a gastrointestinálního traktu. Mírná forma GVHD je spjata s žádoucím efektem štěpu proti leukemii (GVL). Charakterizace biomarkerů pro včasnou predikci GVHD i jejího rozsahu by vedla k nastavení imunosuprese a další léčby pacienta tak, aby nežádoucí účinky GVHD byly minimalizovány. V současné době jsou tyto biomarkery intenzivně zkoumány pomocí genomických i proteomických přístupů (Baron et al., 2007; Weissinger et al., 2007; Paczesny et al., 2009).

Cíl: V této studii jsme provedli genomickou analýzu pomocí oligonukleotidových čipů (Human OneArray, Phalanx) a porovnali expresní profily u pacientů 20. den po transplantaci, u nichž se vyskytla GVHD (+) s těmi, u nichž se GVHD (-) nevyskytla, a dále u pacientů v den vzniku GVHD, kteří byli rezistentní na léčbu kortikoidy, s těmi, kteří nebyli.

Metodika: Z mononukleárních buněk separovaných ze vzorků periferní krve leukemických pacientů (Ficoll gradient) byla vyzolována RNA, která byla dále lineárně amplifikována a fluorescenčně naznačena. Takto značená cRNA byla poté nahybridizována na sklíčko a skenována laserem.

Výsledky: SAM analýzy (Significance Analysis of Microarrays) ze vzorků pacientů získaných 20. den po transplantaci (celkem 17, z toho 11 GVHD+, 6 GVHD-) odhalila skupinu těchto signifikantních diferencially exprimovaných genů: PHLDA2 (pleckstrin homology-like domain) fungující zřejmě jako tumorový supresor, MYC (myelocytomatosis viral oncogene) hrající důležitou roli v regulaci buněčného cyklu a apoptózy, GJA1 (gap junction protein) regulující transport látek mezi buňkami a GFPT1

(glutamine-fructose-6-phosphate transaminase) regulující enzymatické procesy. U vzorků pacientů získaných v den vzniku GVHD (celkem 12, z toho 5 rezistentních na kortikoidy, 7 senzitivních) stejná analýza odhalila rozdílnou expresi downregulovaných genů MMP26 (matrix metalloproteinase), DEFB104 (defensin beta) a FBXL2 (F-box and leucine-rich repeat protein) regulující enzymatické procesy a TMC05A (transmembrane and coiled-coil domains 5A) kódující membránový protein.

Závěr: Profily genových expresí ze vzorků pacientů v definovaných homogenních skupinách mohou pomoci objasnit biologické mechanismy vzniku GVHD a identifikovat tak její biomarkery a potenciální terapeutické cíle.

Tato práce je podpořena grantem IGA NS9683-4/2008 poskytnutým Ministerstvem zdravotnictví ČR a výzkumným záměrem MSM0021622430 poskytnutým Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR.

PROGNOSTICKÉ A PREDIKTIVNÍ FAKTORY II.

Předsedající: Trojanec R. / čtvrtek / 26. 11. 2009 / 10.30–11.55

Sledování exprese genů v cirkulujících nádorových buňkách (CTC) u pacientek s rakovinou prsu jako součást procesu individualizace léčby a časné detekce metastatického procesu

Mgr. Katarína Kološtová, Ph.D.^{1,7},

Ing. Daniela Pintérová¹,

MUDr. Vladimír Bobek, Ph.D.¹,

MUDr. Jiří Pavlásek¹,

RNDr. Ivana Janatová, CSc.²,

Mgr. Veronika Mikulová²,

MUDr. Jiří Valchář³,

MUDr. Milan Brychta³,

MUDr. Martina Kubecová, Ph.D.³,

Mgr. Vlasta Korenková, Ph.D.,

doc. RNDr. Ladislav Pecen, CSc.⁴,

RNDr. Marianna Romžová, Ph.D.⁴,

Ing. Vendula Rusňáková⁴,

Mgr. Aleš Tichopád, Ph.D.⁴,

MUDr. Zuzana Ušiaková^{4,5},

doc. MUDr. Vlasta Richterová, CSc.⁶,

doc. MUDr. Petra Tesařová, Ph.D.⁵,

prof. Mikael Kubista, Ph.D.^{4,7}

¹ Oddělení nádorové biologie,

3. LF UK v Praze

² Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK v Praze

³ Radioterapeutická a onkologická klinika FNKV a 3. LF UK v Praze

⁴ Laboratoř genové exprese, Biotechnologický Ústav AV ČR

⁵ Onkologická klinika VFN a 1. LF UK v Praze

⁶ Ústav Patologie FNKV a 3. LF UK v Praze

⁷ TATAA Molecular Diagnostics, Inovativní Biomedicínské Centrum AV ČR v Praze

Úvod: Předmětem řešeného projektu je zavedení standardních operačních postupů pro izolaci a charakterizaci cirkulujících nádorových buněk (circulating tumor cells – CTC) z periferní krve u pacientek s rakovinou prsu. Odběr periferní krve pro CTC izolaci by mohl v budoucnu představovat tzv. „real-time“ biopsii, která by se mohla stát prostředkem pro monitorování dynamiky onemocnění díky tomu, že periferní krev pacientek je relativně jednoduše dostupná a umožňuje tak neomezené opakování vyšetření v případě potřeby.

Metodika: Pacientky s nádorem prsu (n=79) charakterizované dle patologických standardů (TNM, grade, imunohistochemie...) byly rozděleny do skupin podle věku (projekt EVA 35), podle přítomnosti, resp. nepřítomnosti primárního nádoru (porovnání účinnosti neoadjuvantní terapie a načasování odstranění primárního nádoru), podle přítomnosti metastáz a recidiv, podle ukončení jednotlivých cyklů adjuvantní chemoterapie a radioterapie. CTC byly izolovány z 5 ml periferní krve imunomagnetickou separací (AdnaTest Breast Cancer Select®, Langenhagen). Následně byla v CTC buněčném lyzátu na úrovni mRNA detekována exprese onkomarkerů MUC-1, HER2neu a EpCAM (Andatest Breast Cancer Detect®, Langenhagen). Genově specifická pre-amplifikace cDNA z jednotlivých vzorků umožnila zavedení testování genové exprese (qPCR-kvantitativní polymerázová řetězová reakce) dalších 48 markerů (z toho 35 nádorově specifických) na „microfluidic“ chipu Biomark® (Fluidigm, USA). U části pacientek jsme měli k dispozici i fixovanou primární nádorovou tkáň (FFPE). RNA izolována z FFPE-nádorové tkáně (Recover All®, Ambion) byla využita k porovnání

exprese potenciálních pro-metastatických nádorových markerů na mRNA-úrovni s genovou expresí těchto markerů v CTC. Výsledky qPCR analýz byly vyhodnocovány softwarem GeneX vs. 5.0 (MultiD, SE).

Výsledky: Získané výsledky potvrzují, že expresní profily CTC-buněk u pacientek s adjuvantní nádorovou léčbou jsou příbuzné nádorovým buňkám primárního nádoru. Naopak u pacientek s metastatickou formou onemocnění se CTC-expresní profily od primárního nádoru výrazně liší, co potvrzuje teorii, že nádorová buňka prochází několika změnami pro dosažení metastatického potenciálu. Výsledky CTC-testů byly korelovány s klinickými daty jednotlivých pacientek. Podařilo se nám identifikovat geny, které charakterizují skupiny pacientek ve smyslu rozdělení na pacientky se zvýšenou pravděpodobností výskytu CTC. CTC ve všeobecnosti představují biomarker definující pacientku s horší prognózou. Geny rozděluje pacientky na jednotlivé skupiny jsou předmětem dalšího zkoumání jako potenciální cíle protinádorové léčby.

Práce byla podpořena grantem MZ ČR IGA – NS 9970-4/2008.

Analýza přežití u pacientů s kolorektálním karcinomem vzhledem k přítomnosti minimální reziduální choroby, mikrosatelitní nestability a mutace genu k-ras

MUDr. Josef Srovnal¹,

Mgr. Andrea Bendíková¹,

doc. MUDr. Kamil Vysloužil, CSc.²,

MUDr. Pavel Skalický²,

MUDr. Ivo Klementa, Ph.D.²,

prof. MUDr. Miloslav Duda, DrSc.²,

MUDr. Jana Strážnická³,

MUDr. Vlastislav Šrámek³,

MUDr. Karel Cwiertka, Ph.D.³,

Věra Růžková¹,

Mgr. Lenka Radová, Ph.D.¹,

doc. Mgr. Jiří Drábek, Ph.D.¹,

Mgr. Sylwia Jančík¹,

doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.¹

¹ **Laboratoř experimentální medicíny,**

Dětská klinika LF UP a FN Olomouc

² **I. chirurgická klinika LF UP a FN Olomouc**

³ **Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc**

Cílem předkládané práce je objasnit prognostickou hodnotu přítomnosti minimální reziduální choroby (MRD) u pacientů s kolorektálním karcinomem. Dále zhodnotit míru nezávislosti MRD na ostatních prognostických markerech včetně statusu genu k-ras a mikrosatelitní nestability.

MRD byla stanovena metodou QRT-PCR, kdy bylo na míru exprese karcinoembryonálního antigenu (CEA) a cytokeratinu 20 (CK20) vyšetřeno 147 pacientů s kolorektálním karcinomem I.–III. klinického stadia. Statut genu k-ras byl stanoven kitem Therascreen, mikrosatelitní nestabilita (MSI) byla hodnocena metodou mikrofluidní elektroforézy (Agilent) za použití 5 referenčních mikrosatelitů (Bethesda panel).

Ve sledované skupině 147 pacientů s kolorektálním karcinomem klinického stadia I–III došlo u 24 (16,3 %) k rozvoji recidivy nádorového onemocnění. Medián sledování byl 22,9 měsíců. Přítomnost MRD byla detekována v peroperačních vzorcích krve a kostní dřeně 51,7 % pacientů za použití QRT-PCR pro CEA a CK20. V kontrolních vzorcích 1 měsíc po operaci byla detekována přítomnost MRD u 47 % pacientů. Pacienti s pozitivitou MRD v peroperačním vzorku krve za použití CEA a v kontrolním vzorku za pomoci CK20 měli statisticky významně kratší DFS ($p=0,05$, resp. $p=0,0005$) a vyšší riziko vzniku recidivy onemocnění (HR=2,726, resp. HR=3,729). Obdobně bylo zjištěno, že pacienti s přítomností MRD v kontrolním vzorku kostní dřeně za použití CEA a za použití kombinace CEA a CK20 měli statisticky významně kratší DFS ($p=0,01$, resp. $p=0,00035$) a vyšší riziko vzniku recidivy onemocnění (HR=3,328, resp. HR=3,746), než pacienti bez přítomnosti MRD v kontrolním vzorku kostní dřeně.

Při hodnocení přítomnosti MRD jako nezávislého prognostického faktoru byla porovnána MRD pozitivita v krvi a kostní dřeni v den operace a jeden měsíc po výkonu s klasickými prognostickými faktory (TNM stadium, hloubka invazivity, postižení lymfatických uzlin, velikost

tumoru, sérové hladiny onkomarkerů CEA a CA 19–9). Nebyly prokázány žádné statisticky významné rozdíly. Přítomnost MRD také nesouvisí s pohlavím, lokalizací nádoru a gradingem. Dle našich výsledků je přítomnost MRD nezávislým prognostickým faktorem.

Prognostický význam přítomnosti MSI a mutace genu k-ras a jejich souvislost s přítomností MRD budou diskutovány v samotném sdělení.

Detekce MRD u solidních nádorů metodou RT-PCR v reálném čase je relativně novou metodou představující potencionálně účinný nástroj v klinické onkologii, který svým přínosem v oblasti ultrastagingu znamená zpřesnění diagnostiky. Stejně jako detekce přítomnosti MSI a mutace genu k-ras představuje zásadní zpřesnění léčby onkologicky nemocného pacienta. V předkládaném sdělení budou prezentovány moderní přístupy směřující k individualizaci léčby pacientů s kolorektálním karcinomem.

Práce na tomto projektu je podporována granty MSM6198959216, LC 07017, a NR/9076–4.

Minimální reziduální choroba u pacientů s karcinomem pankreatu – pilotní studie

MUDr. Dušan Klos¹,

MUDr. Josef Srovnal¹,

Mgr. Andrea Benedíková²,

doc. MUDr. Roman Havlík, Ph.D.²,

MUDr. Martin Loveček, Ph.D.¹,

Věra Růžková¹,

Mgr. Lenka Radová, Ph.D.¹,

doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.

¹ **Laboratoř experimentální medicíny,**

Dětská klinika LF UP a FN Olomouc

² **I. chirurgická klinika LF UP a FN Olomouc**

Minimální reziduální chorobou (MRD) u nemocných pacientů s karcinomem pankreatu rozumíme přítomnost izolovaných nádorových buněk v těle pacienta, u něhož byl odstraněn primární tumor a který je v současnosti bez klinických známek onemocnění. Tyto izolované nádorové buňky lze na základě současných znalostí považovat za prekursorů mikrometastáz. Posouzení MRD u pacientů s tímto vysoce maligním onemocněním by mohlo eliminovat provedení zatěžujícího chirurgického výkonu u nemocných se systémovou molekulární diseminací nemoci a zpřesnit prognózu onemocnění.

Do studie bylo k dnešnímu dni zařazeno 72 pacientů operovaných s kurativním záměrem pro karcinom slinivky. Metodou real-time RT-PCR byly na míru exprese hTERT (telomeráza),

EGFR1 (receptor pro epidermální růstový faktor) a CEA (karcinoembryonální antigen) vyšetřeny vzorky periferní a portální krve, kostní dřeně, peritoneální laváže a tumoru. Naměřené hodnoty exprese testovaných markerů byly korelovány s klinicko-patologickými charakteristikami a s parametry přežití.

Byla zjištěna statisticky významná souvislost mezi mírou exprese EGFR v portální krvi a klinickým stadiem, kde pacienti s pokročilým onemocněním mají vyšší expresi EGFR v portálním řečišti, než pacienti s nízkým klinickým stadiem. Obdobně koreluje exprese EGFR v portální krvi se stupněm diferenciacie primárního tumoru, kde pacienti s tumory G3 mají statisticky významně vyšší expresi EGFR. Dále jsme prokázali vysokou expresi EGFR v peritoneální laváži pacientů s metastatickým onemocněním, na rozdíl od pacientů bez přítomnosti metastáz. Bohužel se nám nepodařilo prokázat signifikantní závislosti mezi ostatními testovanými markery (hTERT, CEA) a ostatními kompartmenty (systémová krev, kostní dřeň).

Při hodnocení parametrů přežití jsme narazili na několik zajímavých výsledků. Především to bylo hodnocení přežití vzhledem k pozitivitě exprese testovaných markerů v peritoneální laváži. Pozitivita EGFR ($p=0,035$) a CEA ($p<0,18$) v předoperační peritoneální laváži značí kratší celkové přežívání pacientů s karcinomem pankreatu. Dále jsme prokázali, sice statisticky nesignifikantně, kratší přežívání u pacientů s pozitivitou hTERT v systémové i portální krvi ($p<0,2$).

Výsledky naší pilotní studie potvrzují dostatečnou senzitivitu a specifitu real-time RT-PCR metodiky pro detekci cirkulujících nádorových buněk u pacientů s karcinomem pankreatu. Pouze necelých 40 % operovaných a testovaných pacientů bylo klinického stadia I–III a byl u nich proveden radikální výkon s kurativním záměrem. Tento fakt bohužel značně omezuje použití této metodiky pro prognostické účely. Přesto jsme však v této skupině dokázali identifikovat pacienty s kratším přežíváním, a to na základě exprese vybraných markerů, hTERT, CEA a EGFR v krvi a peritoneální laváži. Pro definitivní ověření prognostické hodnoty minimální reziduální choroby je však potřeba delšího sledování většího souboru pacientů. Zvláště pacientů klinického stadia I–III, kde bychom mohli při známkách mikrodiseminace zvažovat neprovedení radikálního a přespříliš zatěžujícího chirurgického výkonu.

Práce na tomto projektu je podporována granty MSM6198959216, IGA MZ CR NS 9937-4 a LC07017.

Digitální PCR v diagnostice nádoru prsu

Ing. Vendula Rusňáková¹,
Mgr. Katarína Kološťová, Ph.D.^{2,4},
MUDr. Zuzana Ušiaková^{1,3},
prof. Mikael Kubista, Ph.D.^{1,4}

¹ Laboratoř genové exprese,
Biotechnologický Ústav AV ČR

² Oddělení nádorové biologie,
3. LF UK v Praze

³ Onkologická klinika VFN
a 1. LF UK v Praze

⁴ TATAA Molecular Diagnostics, Inovativní
Biomedicínské Centrum AV ČR v Praze

Úvod: Rakovina prsu je nejčastějším zhoubným nádorovým onemocněním u žen. Jedním ze sledovaných markerů rakoviny prsu je množství receptoru HER2 (human epidermal growth factor receptor) na nádorových buňkách. U cca 20–30 % pacientek dochází k amplifikaci genu HER2 a následnému zvýšení exprese HER2 proteinu. Toto znásobení je vysoce korelováno s progresivitou onemocnění, proto je důležité stanovit zvýšený počet kopií genu HER2 a zvolit následně případnou aplikaci biologické léčby, která je schopná funkci nadměrně exprimovaného HER2 receptoru blokovat. Cílem naší práce bylo zavedení testování HER2-amplifikace pomocí inovativní digitální PCR.

Metodika: Digitální PCR je metodicky zcela novou technikou a analyzátor BIOMARK® (Fluidigm, USA) pro její použití se nachází v Evropě pouze na dvou akademických pracovištích. Pro určení množství kopií genu HER2 byly geny HER2, GAPDH a gastrin amplifikovány z genomové DNA, která byla izolována z fixované nádorové tkáně (Recover All®, Ambion) a z cirkulujících nádorových buněk (Andatest®, Adnagen) u pacientek s rakovinou prsu. Následně byla DNA genově specificky pre-amplifikována (Sigma A, dosud není v prodeji). Výsledná směs byla naředěna tak, aby obsahovala cca 2000 kopií/μl. Amplifikovaná DNA byla nanášena na čip, kde se rozdělila do 724 reakčních jamek způsobem, že každá jamka obsahuje 1 nebo žádnou kopii genu ze sledovaných genů. Po proběhnutí 40 PCR-cykly byly jednotlivé produkty detekovány na základě různých teplotních křivek tání. Naměřená data byla porovnána s výsledky standardních vyšetření pro amplifikaci HER2.

Závěr: Digitální PCR umožní detekovat jednotlivé kopie genu, a tak stanovit poměr genu HER2 a GAPDH. Dále je možné stanovit touto metodou i možnou polyzomii chromozomu 17. Zavedení digitální PCR do klinické praxe by mělo pomoci zpřesnit a zrychlit stanovování genové amplifikace u nádorových onemocnění.

Testovanie výskytu hematogenných mikrometastáz pomocou multimarkerovej qPCR v porovnaní s výskytom cirkulujúcich nádorových buniek (CTC) u pacientov s kolorektálnym karcinómom

MUDr. Denisa Ilencíková, Ph.D.¹,
RNDr. Katarína Kološťová, Ph.D.²,
RNDr. Vendula Rusňáková, Ph.D.³,
Mgr. Tomáš Slamka¹,
MUDr. Dagmar Štrbová¹,
doc. MUDr. Darina Ďurovčíková, CSc.⁴

¹ Oddelenie lekárskej genetiky NOÚ,
Bratislava

² Oddelení nádorové biologie,
3. LFUK, Praha

³ Laboratoř genové exprese,
BTÚ AV ČR Praha

⁴ Katedra klinickej genetiky SZÚ, Bratislava

Predmetom riešeného projektu Grant MZ SR 2006/26-NOU-02 je zavedenie štandardných operačných protokolov pre stanovenie hematogénnych mikrometastáz u pacientov s kolorektálnym karcinómom (CRC). Pre stanovenie potenciálnych „pro-metastatických“ biomarkerov bola testovaná metóda multimarkerovej kvantitatívnej PCR (qPCR) pre 24 nádorovo-spezifických génov. Paralelne boli u pacientov s CRC izolované cirkulujúce nádorové bunky.

CTC bunky sa nachádzajú v periférnej krvi, antigénne alebo geneticky patria k jednotlivým typom nádorov. Na základe prítomnosti CTC v krvi a rozdielnej expresii onkomarkerov na úrovni mRNA v CTC je možné stanoviť algoritmy skorej detekcie diseminácie (metastáz).

Metodika: Do testovania bolo zaradených v priebehu rokov 2007–2009 78 pacientov s CRC, u ktorých bolo prevedených niekoľko odberov periférnej krvi pre izoláciu RNA z krvi, spravidla podľa modelu odber po stanovení pravdepodo-

dobnej diagnózy pred chirurgickým zákrokom, po chirurgickom zákroku a v priebehu liečby, vždy pred podaním nasledujúcej chemoterapeutickej dávky (s opakovaním cca 1x za mesiac). RNA bola izolovaná pomocou (Nucleospin RNA II, Machery-Nagel, Germany). Kvalita RNA bola testovaná na Agilent Bioanalyzer 2100. Následne bola RNA prevedená na cDNA a géno-špecificky pre-amplifikovaná (JumpStart Taq ReadyMix, SIGMA). qPCR bola meraná pomocou Biomark® analyzátoru (Fluidigm, USA) na mikrochipe pre 48 vzoriek a 48 génov (celkovo 2034 reakcií) v objeme 10nl. Výsledky qPCR boli vyhodnotené softwarom GENEX v.s. 5.0 (MultiD, SE). Po pilotných výsledkoch bola qPCR analýza prevedená pre nasledujúce gény: aktin, PUM, TATAA, CD-44, CYP2D6, ERBB4, BIRC5, CK-19, EpCAM, BIRC5 (survivin), SATB1, E-cadherine, HDAC2, HER2/neu, Ki-67, KIF, MUC-1, mTOR, MYBL1, p53, uPA, VEGF.

Na izoláciu CTC bol použitý diagnostický test AdnaTest Colon Cancer Select a Detect (AdnaGen, Hannover, Germany), ktorý je založený na kombinácii imunomagnetick separácie CTC pomocou špecifického panelu protilátok proti CTC na magnetických guľôčkach. Následne je z bunkového CTC-lyzátu izolovaná RNA (Dyna, Oligo dT) a prevedená multiplex-PCR pre 3 CRC – špecifické gény (EGFR, CEA a GA733.2) a 1 kontrolný gén (aktin). Súčasne bol vo vzorkách nádorovej DNA vyšetrený mutačný status génov K-RAS a P53, polymorfizmus PGX-5FU. Vo fixovanom nádorovom tkanive bola tiež imunohistochemicky stanovená expresia EGFR proteínu.

Výsledky: Pomocou klastrovej analýzy (CA) a analýzy principiálnych komponentov (PCA) sme testované vzorky rozdelili na skupiny, pre ktoré bola typická zvýšená expresia epiteliálnych markerov, predovšetkým CK-19 a MUC-1. Porovnávaním týchto skupín sme dospeli k záveru, že v skupine so zvýšenou expresiou CK-19 je signifikatne zvýšená aj expresia HDAC2 (histon-deacetyláza 2). Zmeny v hladinách HDAC2 u pacientov s nastaveným chemoterapeutickým režimom poukazujú na možnosť priameho spojenia HDAC2 exprese s reakciou pacienta na liečbu. Stratifikácia pacientov podľa HDAC2 exprese môže byť v budúcnosti nápomocná pri výbere vhodnej liečby (HDAC- inhibítory) a tiež pre zvýšenie špecificity identifikácie CTC v krvi.

NOVÁ PROTINÁDOROVÁ LÉČIVA A LÉČEBNÉ POSTUPY

Předsedající: Hajdúch M. / čtvrtek / 26. 11. 2009 / 13.00–14.15

6-(Het)aryl-7-Deazapurine Ribonukleosidy jako nové účinné cytostatické sloučeniny

MUDr. Petr Džubák, Ph.D.¹,

doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.¹,

Petr Nauš², Radek Pohl², Ivan Votruba²,

Ria Ameral³, Gabriel Birkuš³, Ting Wang³,

Adrian Ray³, Richard Mackman³,

Tomas Cihlar³ a Michal Hocek²

¹ Laboratoř experimentální medicíny,
Dětská klinika, LF UP a FN Olomouc

² Ústav organické chemie

a biochemie v.v.i., AVCR, Praha

³ Gilead Sciences & IOCB Research Center,
Praha

⁶ Gilead Sciences, Inc.,
Foster City, CA 94404, U. S. A.

Byla připravena série 33 nových 7-deazapurin ribonucleosidů nesoucích alkyl, aryl nebo ovou skupinu na pozici 6 a H, F nebo atom Cl na pozici 7. Při základním cytotoxickém testu na panelu nádorových linií byl pozorován významný cytostatický účinek většiny těchto derivátů. Nejúčinnějšími byly 7-H nebo 7-F deriváty 6-furyl- or 6-thienyl-7-deazapurinů, kdy hodnoty GI₅₀ dosahovaly nanomolárních koncentrací, což je srovnatelné s gemcitabinem nebo klofarabinem. Účinek těchto derivátů na nádorové linie byl dále studován panelem flow cytometrických metod, kdy se hodnotily změny v distribuci buněk v rámci buněčného cyklu, míra indukce apoptózy a vliv na DNA a RNA syntézu. V rámci těchto testů byla pozorována významná inhibice RNA syntézy, která může souviset s předpokládaným mechanismem účinku těchto ribonukleosidů. Také byla pozorována intracelulární fosforylace na mono a trifosfáty. Hlubší studium mechanismu účinku a metabolismu těchto látek probíhá, stejně tak jako studium in vivo aktivity.

*Projekt byl podpořen prostředky:
MSM6198959216, MSMT 1M0508, programem pro
cílený výzkum 1QS400550501
a díky Gilead Sciences, Inc.*

Tumor cell resistance mechanism to aurora kinase inhibitors

Mgr. Madhusudhan Reddy Kollareddy¹,

Daniella Zheleva²,

MUDr. Petr Džubák, Ph.D.¹

doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.¹

¹ Laboratory of Experimental Medicine, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Palacky University in Olomouc

² Cyclacel Pharmaceuticals, Inc. Dundee Technopole, Dundee, Scotland, UK

Clinical drug resistance to anticancer drugs is a serious problem in cancer chemotherapy. Many acquired tumor cell resistance mechanisms have been discovered and validated by several independent studies. The well known acquired tumor drug resistance mechanisms include multidrug resistance (e.g. overexpression of ABC transporter protein family), mutation or amplification of the drug target itself, overexpression of antiapoptotic proteins of BCL2 family, inactivation of p53 and many others.

Aurora kinase inhibitors are a new class of anticancer compounds which emerged recently as promising drug-candidates for cancer chemotherapy. Currently more than 10 Aurora kinase inhibitors are in the clinical trials. CYC116, an Aurora kinase inhibitor discovered and developed by Cyclacel Pharmaceuticals, Inc. is currently in phase I clinical trials. The objective of our work is to identify the potential mechanisms involved in CYC116-induced resistance. Several resistant clones towards CYC116 were selected to study the cellular and molecular basis of resistance. These were characterized in relation to their cell cycle profile, mitotic index, cross resistance to other Aurora kinase inhibitors and conventional anticancer drugs. The expression levels of ABC drug transporters (PgP & MRP) were determined using flow cytometry. Here we present the preliminary data on characterization of CYC116 resistant clones. Detailed proteomic (to study differential protein expression by 2DE and mass spectrometry), gene expression (Affymetrix gene chip based) and DNA sequencing (to study the mutations of the target) studies are underway. These studies may reveal molecular basis of acquired tumor resistance to

CYC116. Discovery of CYC116-induced resistance mechanism may be very useful in predicting the clinical response to the Aurora inhibitor and could help the design of various combination treatment regimens to overcome the resistance and aid the further clinical development.

Práce je podporována granty:

MSM6198959216 a LC07017.

Nové přístupy v terapii nádorových onemocnění – vakcinace dendritickými buňkami

Mgr. Kateřina Skálová¹,

Mgr. Klára Mollová¹,

Jana Mužíková¹,

Dana Novotná¹,

Petra Vidláková¹,

Mgr. Jana Smejkalová, Ph.D.¹,

prof. MUDr. Jaroslav Michálek, Ph.D.^{1,2}

¹ Univerzitní centrum buněčné imunoterapie, MU Brno

² I. dětská interní klinika, FN Brno

Při léčbě onkologických onemocnění lze vedle standardní terapie využít vakcinace, při níž jsou pacientovi podávány autologní dendritické buňky naložené nádorovým lyzátem. Dendritické buňky pak jako antigen prezentující buňky prezentují nádorové antigeny in vivo T-lymfocytům a stimulují tak protinádorovou imunitní odpověď přímo v těle pacienta. Tento přístup byl již ve světě testován mnoha klinickými studiemi fáze I/II u pacientů s různými typy nádorových onemocnění (např. melanom, metastazující renální karcinom, kolorektální karcinom, hepatocelulární karcinom a další). Vedle imunologické odpovědi byla u několika pacientů zaznamenána i objektivní klinická odpověď.

Vstupním materiálem pro přípravu autologních dendritických buněk je leukaferéza – leukocyty izolované z krve pacienta pomocí separátoru. Pomocí elutriace jsou z leukaferézy izolovány monocyty. Ty jsou po dobu 6 dnů kultivovány v kompletním médiu s přísadkami interleukinu-4 a GM-CSF (růstového faktoru stimulujícího tvorbu granulocytů a makrofágů). Vzniknou nezralé dendritické buňky, které jsou následně naloženy nádorovým antigenem.

Přidáním lipopolysacharidu a interferonu- γ je indukována jejich maturace. Po krátkodobé kultivaci jsou buňky v alikvotech zamrazeny.

Na našem pracovišti byla v letošním roce validována metodika přípravy autologních dendritických buněk v podmínkách správné výrobní praxe pro potřeby klinických studií. V současné době byla dokončena vakcinace u pacienta s metastazujícím rabdomyosarkomem a byla zahájena klinická studie fáze II u pacientů s glioblastomem.

Budou prezentovány dosavadní výsledky vycházející z validace výrobního postupu a vakcinace prvního pacienta.

*Podporováno granty
MŠMT NPVII 2B06058 a NPVII 2B08066.*

Sledování změn hladiny vápníku u B-lymfocytů po stimulaci imunoglobulinu

Mgr. Marek Borský, Mgr. Marieta Ionescu, doc. MUDr. Martin Klabusay, Ph.D.
Laboratoř flow cytometrie a celulární terapie, Interní hematologická klinika, FN Brno

Vápník je prvek nezbytný pro život se schopností přenosu informací uvnitř buněk i mezi nimi. Na rozdíl od svalových buněk, kde je role vápníku objasněná, u krevních buněk jsou mecha-

nizmy působení Ca^{2+} iontů ne zcela objasněny. Koncentrace intracelulárního vápníku je v cytoplazmě buněk velice nízká a jeho zvýšení způsobené například aktivací povrchových receptorů může spustit vnitřní apoptotickou dráhu. Tento jev je mimo jiné uvažován při popisu mechanismů působení monoklonálních protilátek na nádorové buňky, jichž se v současné době běžně používá k léčbě hematologických malignit, zejména non-Hodgkinských lymfomů a některých leukemií.

Sledovat rychlé změny hladiny vápníku v cytoplazmě buněk lze například pomocí Ca^{2+} dependentních fotoproteinů (aequorin) nebo fluorescenčními indikátory (Fluo3, Fluo4, FuraRed, Indo-1). Indo-1 ve formě AM esteru samo difunduje do buněk kde je esterázami štěpeno na formu, která po excitaci UV laserem emituje záření o vlnové délce okolo 485 nm. Pokud je přítomen vápník, dochází k posunu emitovaného světla na ~405 nm. Měřeními poměru obou vlnových délek na průtokovém cytometru dokážeme citlivě zaznamenat i malé změny koncentrace Ca^{2+} v cytosolu.

Využití této techniky demonstrujeme na našich experimentech s buňkami B-linie (SU-DHL4, Ramos, primokultury B-CLL), kde buňky obarvené Indo-1 vystavujeme působení různých protilátek a v čase sledujeme jejich odezvu změnou koncentrace Ca^{2+} . Pozitivní odezvu jsme zaznamenali po přidání polyklonální protilátky anti-

BCR namířené proti F(ab2) části receptoru u linie SU-DHL4 i u B lymfocytů z pacienta s diagnózou CLL. Podobně působila protilátka anti-BCR namířená proti konstantní části imunoglobulinu na linii Ramos. Kontrolní experiment, kdy jsme buňky vystavili působení zmíněných protilátek v přítomnosti EGTA, ukázal, že uvolněný vápník v cytosolu buněk pochází z intracelulárních zásob a ne z externího prostředí. Jako pozitivní kontrolu používáme antibiotikum ionomycin, které způsobí nekontrolovatelný vstup Ca^{2+} iontů do buňky z okolí a vyvolá maximální odezvu. U jednotlivých kinetických měření lze hodnotit rychlost, intenzitu a délku odezvy a uvést je do vztahu k typu a koncentraci imunoglobulinu.

Zvládnutí této poměrně náročné metodiky a dosažené výsledky nám umožňují studovat vliv imunoglobulinů, především klinicky využívaných protilátek jako jsou rituximab či alemtuzumab a jiných látek na buňky v suspenzi ve vztahu k intracelulární koncentraci Ca^{2+} a přispět tak k objasnění jejich terapeutických účinků.

*Práce byla podporována grantem
IGA NR9670-4.*

Literatura: Walshe CA, Beers SA, French RR, Chan CH, Johnson PW, Packham GK, Glennie MJ, Cragg MS. Induction of cytosolic calcium flux by CD20 is dependent upon B Cell antigen receptor signaling. J Biol Chem. 2008 Jun 20;283(25):16971–84. Epub 2008 Apr 21.

PROGNOSTICKÉ A PREDIKTIVNÍ FAKTORY III.

Předsedající: Džubák P. / čtvrtek / 26. 11. 2009 / 14.45–16.10

Detekce mutací KRAS molekulárně genetickými technikami

**Mgr. Sylwia Jančík¹,
Mgr. doc. Jiří Drábek, Ph.D.¹,
Mgr. Jitka Berkovcová, Ph.D.¹,
prof. MUDr. Danuta Radzioch²,
MUDr. Josef Srovnal¹,
Mgr. Veronika Holinková, DiS.¹,
Miroslava Rabčanová¹,
Mgr. Marta Dziechciarková, Ph.D.¹
Bc. Anna Janošťáková¹,
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.¹**

¹ Laboratoř experimentální medicíny,
Dětská klinika, LF UP a FN Olomouc

² McGill University, Montreal General Hospital, Health Center, Kanada

Testování mutačního statusu KRAS genu, prediktivního markeru *conditio sine qua non* pro, terapeutický účinek EGFR1 inhibitorů u karcinomu plic (jako jsou erlotinib a gefitinib) a kolorektálního karcinomu (jako jsou cetuximab a panitumumab) je možno provádět širokou škálou metod.

Příspěvek se zabývá našimi zkušenostmi s analytickými a metodickými parametry sekvenování, pyrosekvenování a high resolution melting ve srovnání s CE certifikovanou metodou TheraScreen DxS (Scorpions ARMS).

*Práce na tomto projektu je podporována
grantem MSM6198959216.*

Možnosti modelování kinetiky prostatického specifického antigenu

**MUDr. Kamil Belej, Ph.D., FEBU,
MUDr. Ondřej Kaplan,
MUDr. Oto Köhler, CSc.,
MUDr. Jiří Kočárek, Ph.D.,
MUDr. Pavel Drlík
Urologické oddělení,
Ústřední vojenská nemocnice Praha**

Cíl: Vytvoření počítačové aplikace databázového typu umožňující zpracování a vyhodnocení změn prostatického specifického antigenu (PSA).

Metodika: Na základě dostupných literárních údajů a praktických zkušeností s PSA a jeho

změnami v čase byla vytvořena aplikace, která pacientům, administrativním pracovníkům, střednímu zdravotnickému personálu a lékařům umožňuje na základě přidělených práv zadávání a analýzu opakovaných odběrů PSA.

Výsledky: Aplikace obsahuje tři oddělené části. První část umožňuje definovat přístupová práva uživatele s ohledem na možnost zadávání, prohlížení, analýzy a administrace všech údajů v aplikaci. Druhá část obsahuje uživatelské rozhraní pro zadávání jednotlivých údajů, tzn. hodnot celkového a volného PSA, data odběru, provedení biopsie, operace nebo průběhu jiné onkologické léčby. Ve třetí části lze provést analýzu zadaných údajů, jejich grafické zobrazení na časové ose a výpočet odvozených parametrů (PSA velocita, PSA doubling time) včetně regresní analýzy a výpočtu trendů.

Závěr: Praktické využití aplikace je určeno k zjednodušení orientace ve vývoji PSA a objektivizaci změn pomocí pokročilých analýz u pacientů s opakovaným odběrem antigenu. Projekt byl podpořen společností Astra Zeneca a Nadací Tomáše Bati.

Praktické aspekty diagnostiky karcinomu prostaty pomocí prostate cancer gene 3 (PCA3)

MUDr. Kamil Belej, Ph.D., FEBU,
MUDr. Ondřej Kaplan,
MUDr. Oto Köhler, CSc.,
MUDr. Jiří Kočárek, Ph.D.,
MUDr. František Chmelík
Urologické oddělení,
Ústřední vojenská nemocnice Praha

Cíl: Informace o neinvazivní diagnostice karcinomu prostaty pomocí detekce prostate cancer gene 3 (PCA3) z moči.

Metodika: Na základě zhodnocení dostupných literárních údajů a zkušeností s použitím PSA na urologickém pracovišti v Rotterdamu byla zhodnocena metodologie odběru a zpracování vzorků moče na PCA3. Zároveň byly shrnuty praktické indikace metody a její vliv na péči o nemocné s podezřením na karcinom prostaty nebo již diagnostikovaným onemocněním.

Výsledek: Diagnostika karcinomu prostaty pomocí PCA3 je k dispozici k běžnému použití. Vývoj směřoval od vyšetření biotických vzorků z prostaty přes vyšetření ejakulátu až po vzorek moče získaný po masáži prostaty. Výhodou, stejně jako u PSA, je termostabilita umožňující skladování vzorků při pokojové teplotě. Ve vzorcích se kvantitativně hodnotí množství mRNA, nekódujícího genu PCA3, jehož množství se

uvádí v poměru k mRNA prostatického specifického antigenu (PSA) jako PCA3 skóre. Výhodou praktického použití je kromě stability vzorku i nezávislost od patologických příměsí moče (hematurie, leukocyturie) a vyloučení zkřížené reaktivity metody s jinými karcinomy (ledviny, močového měchýře, varlete) při genetických analýzách. Dosavadní indikace vyšetření PCA3 se soustředily na stanovení rizika karcinomu po negativní primární biopsii a na hodnocení předpovědi pooperačních nálezů u nemocných po radikální prostatektomii.

Závěr: Vyšetření PCA3 v moči přináší nové a v mnoha ohledech jedinečné možnosti diagnostiky u nemocných s karcinomem prostaty. Je potřeba provést další studie, aby bylo možno stanovit racionální indikace.

Vyšetření genů a proteinů HER1 a HER2 a plazmatických hladin HER1/HER2 duálního tyrozinkinázového inhibitoru lapatinibu u nemocných s karcinomem prsu

MUDr. Magdalena Čížková^{1,3},
MUDr. Kateřina Bouchalová, Ph.D.¹,
RNDr. David Friedecký, Ph.D.²,
Bc. Adriana Polýnková²,
Bc. Anna Janošťáková¹,
RNDr. Radek Trojanec, Ph.D.¹,
Mgr. Marta Dziechciarková, Ph.D.¹,
Mgr. Veronika Krejčí⁴,
Mgr. Lenka Radová, Ph.D.¹,
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.¹,
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D.³,
MUDr. Karel Cwiertka, Ph.D.³,
prof. MUDr. Zdeněk Kolář, CSc.⁴

¹Laboratoř experimentální medicíny,
Dětská klinika, LF UP a FN Olomouc

²Laboratoř dědičných metabolických poruch,
Oddělení klinické biochemie,
LF UP a FN Olomouc

³Onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc

⁴Laboratoř molekulární patologie,
Ústav patologie, LF UP a FN Olomouc

Úvod: V současné klinické praxi léčby maligních onemocnění se pozornost stále více obrací k cílené léčbě využívající charakteristiky konkrétního tumoru. V případě karcinomu prsu je tak indikována hormonální léčba u nádorů exprimujících estrogenové a/nebo progesteronové receptory a blokáda receptoru pro epidermální růstový faktor 2 (HER2, c-erbB2), v případě jeho positivity. Trastuzumab je monoklonální protilátka, která

se váže na HER2 a znemožňuje jeho aktivaci. Po selhání trastuzumabu lze nyní podávat lapatinib, nízkomolekulární tyrosin kinázový inhibitor HER2 a spřízněného receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR, HER1). V rutinní diagnostice pro indikaci lapatinibu se však hodnotí pouze pozitivita HER2. U malých molekul podobných lapatinibu se prokazuje závislost léčebné odpovědi na koncentraci léku v plazmě, jak potvrdily studie hodnotící imatinib u pacientů s chronickou myeloidní leukemií (Frame et al., 2007, Larson et al., 2008). V naší práci jsme se zaměřili na léčebnou odpověď při podávání lapatinibu ve vztahu ke stavu HER1 a plazmatickým hladinám lapatinibu.

Materiál a metodika: Použili jsme retrospektivní vzorky 28 pacientek léčených lapatinibem na Onkologické klinice FNOL. V parafínu fixované vzorky tkání byly vyšetřeny metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) se stanovením poměru počtu signálů genu HER1 k počtu kopií chromozomu 7, na kterém leží. Pro amplifikaci genu HER1 byla stanovena hladina poměru HER1/ chromozom 7 $\geq 1,5$, polyzomie chromozomu 7 byla stanovena při průměrném počtu signálů chromozomu v jádrech $\geq 2,5$. Tkáně byly též hodnoceny metodou imunohistochemie (IHC) pro stanovení exprese proteinu HER1. Krevní vzorky, odebrané v rozmezí 16–30 hodin od poslední dávky lapatinibu, byly hodnoceny metodou kapilární elektroforézy s určením plazmatické hladiny lapatinibu v ng/ml. Získané výsledky jsou spolu s klinickými a histopatologickými daty z lékařské dokumentace analyzovány standardními statistickými přístupy.

Výsledky a závěr: U pacientek zahrnutých do souboru byl zhodnocen pomocí FISH stav genu HER1 a chromozomu 7 u 19 případů, metodou IHC byla vyhodnocena exprese receptoru, produktu genu HER1 u 24 nemocných. Byla zavedena a optimalizována metodika pro určování plazmatické koncentrace lapatinibu v krevních vzorcích a následně byla stanovena hladina lapatinibu u 23 pacientek.

V čase odeslání tohoto abstraktu probíhalo dokončení hodnocení laboratorních a klinických dat a závěrečná statistická analýza.

Projekt byl podpořen vnitřním grantem LF UP (Program podpory začínajících vědecko-výzkumných pracovníků a studentů DSP na Lékařské fakultě UP) s názvem Vyšetření genů a proteinů HER1 a HER2 a plazmatických hladin HER1/HER2 duálního inhibitoru tyrozinkinázy lapatinibu u nemocných s karcinomem prsu.

II. SYMPOZIUM O CÍLENÉ BIOLOGICKÉ LÉČBĚ

SATELITNÍ SYMPOZIUM NA DNECH DIAGNOSTICKÉ, PREDIKTIVNÍ A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE

pátek / 27. 11. 2009 / 9.00–12.20

Symposium je sponzorováno grantem „Podpora vzdělávání vědeckých pracovníků z oblasti molekulární onkologie“, reg. č.: CZ.1.07/2.3.00/09.0089. Bližší informace naleznete v příloženém programu.

KOLOREKTÁLNÍ KARCINOM

Předsedající: Havlík R. / pátek / 27. 11. 2009 / 13.20–14.20

Biologická léčba v rámci kolorektálního karcinomu

MUDr. Hana Študentová

Onkologická klinika LF UP a FN, Olomouc

Biologická léčba se stala významnou součástí komplexní onkologické léčby kolorektálního karcinomu, přičemž významně ovlivnila léčebné postupy. V současné době se u metastatického karcinomu tlustého střeva a rekta používají 3 preparáty – bevacizumab, cetuximab a panitumumab.

Bevacizumab je humánní monoklonální protilátka proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru, v kombinaci s chemoterapeutickými režimy s fluoropyrimidiny, irinotecanem či oxaliplatinou prodlužuje přežití bez progresu i celkové přežití pacientů. Narůstá rovněž jeho význam v downstagingu u pacientů s potenciálně resektabilními jaterními metastázami. Podávání bevacizumabu bylo navíc potvrzeno jako bezpečné a dobře snášené i pacienty staršími 65 let.

Cetuximab a panitumumab jsou protilátky interagující s extracelulární doménou receptoru pro epidermální růstový faktor. Podmínkou jejich použití je vyloučení mutace onkogenu k-ras akreditovanou laboratoří, tedy k léčbě těmito preparáty jsou určeni pouze pacienti s k-ras wild-type tumorem. Cetuximab je vhodný jak v kombinaci s chemoterapeutickými režimy obsahujícími fluoropyrimidiny, irinotecan či oxaliplatinu,

tak v monoterapii. Bylo prokázáno, že cetuximab prodlužuje celkové přežití nemocných v porovnání s nejlepší podpůrnou péčí. Panitumumab je indikován pouze v monoterapii u nemocných po selhání léčby chemoterapeutickými režimy s fluoropyrimidiny, oxaliplatinou a irinotecanem. Vzhledem k humánnímu původu této protilátky se alergické reakce po jejím podání vyskytují méně často než u cetuximabu.

Biologická léčba zaujímá své již nezastupitelné místo v léčbě metastatického kolorektálního karcinomu. K zajištění optimálního výsledku našeho úsilí je zapotřebí individuální přístup s ohledem na celkový stav nemocného a možný efekt léčby a především úzká mezioborová spolupráce.

Radioterapie ve vztahu k biologické léčbě u kolorektálního karcinomu

MUDr. Yvona Klementová,

MUDr. Karel Čwierka, Ph.D.

Onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc

Kolorektální karcinom patří k nejčastěji diagnostikovaným zhoubným nádorům v ČR. V r. 2005 bylo nově diagnostikováno přes 8000 nových případů. Karcinom rekta se na celkovém počtu podílí 30–40%. Bohužel často je nemoc zjištěna již v pokročilém stádiu.

Lokálně pokročilý karcinom rekta diagnostikovaný v rozsahu T3–4 nebo s postižením regionálních uzlin N1 (IIA–III) je podle současných standard

léčby indikován k předoperační radiochemoterapii, případně samotné předoperační radioterapii.

Ve snaze zlepšit výsledky neoadjuvantní léčby ve smyslu operability a lokální kontroly a zároveň i zvýšení bezpříznakového období a prodloužení celkové doby přežití, probíhá v současné době řada klinických studií, zabývajících se začleněním cílené biologické léčby do protokolu předoperační radiochemoterapie.

Cílená léčba s bevacizumabem, monoklonální protilátkou proti VEGF zlepšuje přežití pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem v kombinaci s chemoterapií. V modelech s radioterapií protilátka proti VEGF indukuje zpždění růstu nádoru a odumírání buněk karcinomu tlustého střeva svým působením na „normalizaci“ cév nádoru a tím na zlepšení oxyličování, zároveň tak i na průnik cytostatik.

Expres EGFR je spojena s více agresivním fenotypem a špatnou prognózou mnoha lidských nádorů včetně karcinomu konečníku. V preklinických i klinických studiích bylo prokázáno, že cetuximab – monoklonální protilátka proti EGFR, působí jako silný radiosenzibilizátor.

Realizované studie fáze I a II s biologickou léčbou a předoperační radiochemoterapií karcinomu rekta přinesly některé nadějně výsledky, nicméně vyžadují delší následné sledování a konečné závěry bude možné učinit až s ohledem na míru místního a vzdáleného selhání léčby a toxicity spojené s těmito novými léčebnými přístupy.

Současné možnosti chirurgické léčby jaterních metastáz kolorektálního karcinomu

doc. MUDr. Roman Havlík, Ph.D.

I. chirurgická klinika LF a FN v Olomouci

Játra jsou nejčastějším místem metastazování solidních tumorů, zvláště pak nádorů z trávicího traktu. Bohužel ve většině případů se jedná o bilaterální mnohočetné metastázy. Pokud jde o kolorektální karcinom, od roku 1989 se v naší republice počet nových onemocnění stále zvyšuje a počet úmrtí narostl téměř na dvojnásobek. U poloviny nemocných s kolorektálním karcinomem se v průběhu nemoci objeví jaterní metastázy.

Pokud jde o chirurgickou léčbu, je nutno zdůraznit, že pouze radikální jaterní resekce dává šanci nemocnému na vyléčení. Co tedy umožňuje radikální chirurgický výkon? Je to

především resekabilita primárního tumoru, absence extrahepatálního šíření nádoru, který by nebylo možné odstranit, metastázu lze řešit radikálně (R0 resekci), po resekci zůstane dostatečný objem funkčního jaterního parenchymu, není kontraindikace k výkonu pro komorbiditu nemocného.

U nemocných, kde nejsou splněny všechny tyto výše uvedené podmínky, jsou terapeutické možnosti následující: – neoadjuvantní chemoterapie, – předoperační embolizace portální žíly, – kombinace resekcího výkonu s ablačním (lze akceptovat 3 metastázy ve zbylém parenchymu jater do velikosti 3 cm), – etapové výkony, – kombinace těchto možností.

V případě, že nelze využít postupy, které mohou pacienta připravit k chirurgické resekci, zbývá pouze léčba paliativní. Z této je třeba vyzvednout radiofrekvenční ablací. Dalšími paliativními metodami jsou ablace realizova-

né aplikací etanolu, kyseliny octové, horkého fyziologického roztoku, kryoterapie, laserové destrukce, lokoregionální intravaskulární léčba. Tyto metody mohou pouze prodloužit délku života a jeho komfort. Rozhodně ale nevedou k vyléčení.

Shrnutí – doporučení pro praxi

- Incidence kolorektálního karcinomu a jaterních metastáz tohoto onemocnění vzrůstá.
- Chirurgické odstranění stále zůstává jedinou terapeutickou modalitou, která vede k vyléčení, ostatní metody jsou pouze paliativní.
- U pacientů, kteří nemohou být primárně k resekci indikováni, existuje řada metod, jak je připravit a resekci indikovat ve druhé době.
- Nejdůležitější je ale včasná diagnostika kolorektálních tumorů a po jejich resekci důsledné sledování a časný záchyt generalizace.

KARCINOM PRSU

Předsedající: Fínek J. / pátek / 27. 11. 2009 / 14.20–15.05

Testování a nejmodernější léčba karcinomu prsu

doc. MUDr. Jindřich Fínek, Ph.D.

Onkologické a radioterapeutické oddělení FN, Plzeň

Abstrakt nedodán.

Projekt „Moje pacientka“

doc. MUDr. Jindřich Fínek, Ph.D.

Onkologické a radioterapeutické oddělení FN, Plzeň

Abstrakt nedodán.

Klinické sledování u patientek s dědičným syndromem nádoru prsu

Eva Vránová,

Eva Vykoukalová,

Alena Dvořáková
MOÚ Brno

Mezi současné největší problémy populace zcela jistě patří nádorová onemocnění. Jsou jednou z nejčastějších příčin smrti, pracovní neschopnosti či invalidity (částečné nebo úplné). S určitou nadsázkou lze říct, že tak či onak se s nádorovým onemocněním v průběhu svého života setkáme všichni.

Nádorová onemocnění vznikají poškozením genů. U většiny nemocných vznikají chyby v těchto genech naprosto náhodně během života pouze v určité buňce (např. prsu, vaječníku, střevě apod.). Pokud je chyba zděděná z předchozí generace zárodečnou mutací, jedinec má velké riziko onemocnět nádorem. Nemoc vzniká v časném věku a mluvíme o dědičné predispozici k nádoru. Toto je vzácné a týká se pouze 5–10% populace.

Genetika se tak stala důležitou součástí onkologie.

Prevence je komplexní a je dílem spolupráce mnoha odborníků. U nás v MOÚ těmto klientům nabízíme vysoce specializované preventivní postupy při sledování, kdy je naším cílem v případě výskytu nádorového onemocnění odhalit toto včas a zahájit tak léčbu s co největším efektem. Tuto skupinu v MOÚ označujeme jako **ROZA** = RODinná ZÁTěž a všichni tito klienti jsou sledováni ve specializovaných mamárních ambulancích.

I sestra je tak v poznávání rizikových osob velmi důležitou osobou, protože ona má většinou přehled o získávané rodinné anamnéze. Zároveň edukuje klienty a jejich rodinné příslušníky. Stává se tak nedílnou součástí tohoto dění, protože intenzivně spolupracuje se všemi zainteresovanými odborníky.

Lidé přicházející do této ambulance jsou sice zdraví, ale mnohdy velmi nervózní a mají strach. Jsou si velmi dobře vědomi toho, co obnáší onkologické onemocnění – znají to od svých nejbližších, proto sestra musí brát ohled na tuto skutečnost.

POSTERY

Analýza buněčného cyklu jako důležitý nástroj při hledání nových potenciálních léčiv s cytostatickými účinky

RNDr. Lenka Lachnitová, Ph.D.,

Mgr. Madhusudhan Kollareddy Reddy,

Mgr. Alžběta Kameníčková,

Jana Potočková,

MUDr. Petr Džubák, Ph.D.,

doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.

Laboratoř Experimentální Medicíny, Dětská klinika, LF UP Olomouc

Analýza buněčného cyklu je základní metoda, která se používá ke studiu mechanismů účinku protinádorových derivátů. Další modifikace této analýzy, kdy se hodnotí syntéza DNA, RNA a procentuální zastoupení buněk v mitóze, poskytují další doplňující informace. Analýzu buněčného cyklu jsme v tomto případě využili při studiu mechanismů protirakovinného účinku triterpenoidních sloučenin. K populaci buněčné linie akutní lymfoblastické linie CEM jsme přidali testované triterpeny o koncentraci 1x IC50 a 5x IC50. Po 24 hodinové inkubaci jsme buňky zafixovali a dále zpracovávali pěti různými metodami používanými při studiu změn v buněčném cyklu. Kromě základní analýzy buněčného cyklu a apoptózy pomocí barvení propidium jodidu jsme provedli analýzu RNA nebo DNA syntézy pomocí BrU (5'-bromuridine) nebo BrdU (5'-bromo-2-deoxyuridin) a fosforylaci histonu H3Ser10. Takto zpracované vzorky jsme pak měřili na průtokovém cytometru. Dalším parametrem, který je důležitý pro pochopení mechanismu účinku a také pro další studium mechanismu indukce apoptózy, je časová kinetika aktivace kaspáz, která nám podává informaci o rychlosti indukce buněčné smrti, čas do aktivace kaspáz je důležitý také pro nastavení optimálních časových intervalů pro proteomické a genomické profilování.

Zjistili jsme, že některé testované triterpeny způsobují významné změny v buněčném cyklu, například jsou schopny zablokovat buňky v S fázi nebo v mitóze. Jiné deriváty ovlivňovaly DNA a RNA syntézu u testované populace buněk CEM. Tyto výsledky ukazují, že v rámci jedné skupiny (triterpenoidy) mohou příbuzné deriváty působit na buněčný cyklus odlišnými mechanismy. Při hodnocení času do aktivace kaspáz jsme pozorovali významné rozdíly mezi jednotlivými deriváty. Dále je v plánu provést proteomické a genomické

profilování těchto zajímavých derivátů, které by mohlo přispět k objasnění mechanismu účinku těchto zajímavých molekul.

Tato studie byla podpořena granty GACR 301/09/P433, GACR 305/09/1216, LC07017, MSM6198959216 a EHP/Norway CZ0099.

Je možné predikovat léčebnou odpověď kolorektálního karcinomu na 5-fluorouracil?

MUDr. Martina Zimovjanová, Ph.D.¹,

doc. MUDr. Marie Ludvíková, Ph.D.²,

MUDr. Jan Novotný, Ph.D.³,

Mgr. Viktor Sýkora⁴

¹ Onkologická klinika 1.LF UK a VFN Praha

² Ústav biologie LF UK v Plzni;

Ústav patologie 1.LF UK a VFN Praha

³ Onkologická klinika 1.LF UK a VFN Praha

⁴ Ústav patologické fyziologie 1. LF UK v Praze

Úvod: Kolorektální karcinom (CRC) je v České republice druhým nejčastěji se vyskytujícím nádorovým onemocněním. Nejdéle a nejvíce používaným cytostatikem v léčbě CRC je 5-fluorouracil (5-FU). Klinická efektivita i toxicita léčby 5-FU je u pacientů s CRC variabilní, proto je snahou tuto léčbu optimalizovat a individualizovat s cílem zvýšit léčebný efekt a minimalizovat vedlejší účinky. Jednou z cest se jeví stanovování exprese enzymů metabolismu 5-FU jako možných prediktivních a prognostických markerů. Vzhledem k tomu, že dosud publikované výsledky jsou rozporuplné a díky metodické nejednotnosti obtížně srovnatelné, zaměřili jsme se v naší studii na analýzu exprese enzymů thymidylátsyntáza (TS), thymidinofosforyláza (TP), dihydropyrimidindehydrogenáza (DPD) v kolorektálním karcinomu.

Cíl studie: Stanovit význam vybraných biomarkerů pro optimalizaci léčby 5-FU:

1. Porovnání exprese TS, TP a DPD na úrovni proteinu a mRNA s cílem nalézt nejvhodnější metodu hodnocení uvedených enzymů ve tkáni.
2. Studie prognostického a prediktivního významu TS, TP a DPD u pacientů s lokalizovaným CRC.

Materiál a metody: Studie byla provedena ve vzorcích CRC a nenádorové střevní sliznice u 66 pacientů. K laboratorní analýze TS, TP a DPD

byly použity dvě rozdílné metody, jednak stanovení exprese mRNA pomocí kvantitativní RT-PCR, jednak stanovení exprese na úrovni proteinů imunohistochemicky. Výsledné hodnoty exprese klíčových enzymů metabolismu 5-FU oběma metodami byly porovnány a korelovány u 44 pacientů s CRC. Dále byl vyhodnocen prognostický a prediktivní význam exprese TS, TP a DPD. Byly použity statistické metody pro porovnání kvantitativních a kvalitativních parametrů (párový Sign test a Chi-kvadrát test), korelace metod analýz pomocí Spearmanova koeficientu a vyhodnocení prognostického a prediktivního významu použitím Kaplan-Meierovy metody, Log-rank testu a Coxovy regresní analýzy.

Výsledky: Při studiu metodou RT-PCR zjištěna statisticky vyšší exprese DPD mRNA v nenádorové tkáni než v nádorové ($p=0,03$), zatímco žádný signifikantní rozdíl mezi oběma tkáněmi nebyl prokázán v expresi TS mRNA ($p=0,34$) a TP mRNA ($p=1,0$). Při použití imunohistochemické metody byla signifikantně vyšší exprese TS a TP v nádorové tkáni ($p<0,001$). Jako negativní prognostický faktor byla prokázána vysoká exprese TP mRNA, zatímco DPD mRNA a TS mRNA nemají prognostický význam ($p=0,05$). Na úrovni imunohistochemické analýzy byla prokázána pouze hraniční statistická významnost vysoké exprese TP a nízké exprese TS v nádorové tkáni jako negativních prognostických faktorů ($p=0,06$) a vysoké exprese TP jako negativního prediktivního faktoru pro léčbu 5-FU ($p=0,07$).

Závěr: Metody RT-PCR a IHC stanovují odlišné hodnoty exprese prediktorů TS a TP, nekořelují spolu a nelze je proto porovnávat. Pouze vysoká exprese TP v nádorové tkáni zjištěná oběma metodami (RT-PCR a IHC) má signifikantní negativní prognostický a prediktivní význam u pacientů léčených 5-fluorouracilem. TS, TP a DPD nelze vzhledem k limitacím metod analýzy i úrovně exprese doporučit jako prognostické a prediktivní biomarkery pro léčbu 5-FU v rutinní klinické praxi.

Vyšetření TOP2A genu u pacientů s „triple negativním“ karcinomem prsu s cílem predikce odpovědi na léčbu antracykliny

MUDr. Bouchalová Kateřina, Ph.D.¹,

MUDr. Čížková Magdalena^{1,2},

RNDr. Trojanec Radek, Ph.D.¹,

Mlčochová Soňa¹,

**Mgr. Dziechciarková Marta, Ph.D.¹,
prof. MUDr. Melichar Bohuslav, Ph.D.²,
MUDr. Cwiertka Karel, Ph.D.²,
prof. MUDr. Kolář Zdeněk, CSc.³,
doc. MUDr. Hajdúch Marián, Ph.D.¹**

¹ **Laboratoř experimentální medicíny, Dětská klinika, LF UP a FN Olomouc**

² **Onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc**

³ **Laboratoř molekulární patologie, Ústav patologie, LF UP a FN Olomouc**

Úvod: „Triple negativní“ (TN) karcinomy prsu se vyznačují nepřítomností exprese estrogenových (ER) a progesteronových (PR) a HER2 receptorů. Představují agresivní nádory se špatnou prognózou, častěji postihují mladší pacientky (<50 let), afro-americké ženy, často se jedná o intervalové nádory a jsou významně agresivnější než tumory náležící k jiným subtypům. Agresivitu TN nádorů potvrzuje fakt, že největší riziko recurence je mezi 1. a 3. rokem a většina úmrtí bývá v prvních 5 letech po léčbě. V současné klinické praxi se projevuje snaha o individualizaci léčby dle molekulárně biologických znaků nádoru a jeho nositele. V případě TN karcinomu prsu však nyní cílená léčba není dostupná vzhledem k nepřítomnosti exprese výše uvedených receptorů. Amplifikace genu TOP2A, kódujícího topoizomerázu II alfa (cílové místo antracyklinů), je považována za pozitivní prediktor odpovědi na antracykliny. Změny TOP2A (amplifikace, delece) bývají nalézány až v 92 % HER2 amplifikovaných nádorů prsu, s převahou amplifikací. Recentní publikace popisují TOP2A amplifikaci i u 2,7–8,8 % HER2 neamplifikovaných karcinomů prsu.

Materiál a metodika: Metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) byly v naší retrospektivní studii dosud analyzovány vzorky nádorové tkáně 68 pacientek s TN karcinomem prsu klinického stadia I a II, diagnostikovaných v letech 1998–2005. Byl stanoven poměr počtu signálů genu TOP2A k počtu kopií chromozomu 17. Rovněž byla získána histopatologická a klinická data, která jsou společně s cytogenetickými nálezy analyzována standardními statistickými metodami.

Výsledky: Amplifikace (A) genu TOP2A byla zjištěna u 10,3 % (7/68) pacientek (u 6 z nich se jednalo o ductální karcinom, 1 byl lobulární karcinom), zatímco méně častá delece byla detekována u 4,4 % (3/68) nemocných. Paralelně byly hodnoceny geny HER1 a C-MYC, výsledky nejsou předmětem sdělení. Změny TOP2A (delece, amplifikace) byly nalezeny pouze u vzorků s neamplifikovaným HER1 statutem. Relaps byl zaznamenán u 20 % (2/10) pacientek s TOP2A

změnami; relabovalo 30,9 % (21/68) všech nemocných. Antracykliny bylo léčeno 18 nemocných, z toho u 2 byla zjištěna TOP2A amplifikace. Obě tyto pacientky přežívají bez známek onemocnění. V čase odeslání abstraktu probíhá dokončení analýzy histopatologických a klinických dat a statistické zpracování.

Závěr: Amplifikace TOP2A, považovaná za pozitivní prediktor odpovědi na antracykliny, se většinou pojí s HER2 amplifikací. Nicméně naše studie našla ve shodě s recentními publikacemi změny TOP2A genu i u HER2 neamplifikovaných vzorků, což ukazuje na možnost cílené léčby antracykliny u TN karcinomů prsu. Vzácnější delece TOP2A, jejíž klinický význam dosud není zcela jasný, byla nalezena u 4,4 % nemocných.

Podpořeno granty Ministerstva zdravotnictví IGA NS10286-3, Ministerstva školství (MSM6198959216, LC07017) a EEA/Norway Financial Mechanisms (CZ0099).

Modulation of p38 MAPK pathway activity can influence viability of melanoma cells

**Bc. Tereza Vaclová,
Mgr. Stjepan Uldrijan, CSc.,
Mgr. Kateřina Cetkovská
Masaryk University Brno,
Faculty of Medicine, Department of Biology**

Malignant melanoma is a type of cancer originating from pigment-producing cells known as melanocytes. This malignant tumour, despite being relatively rare in comparison to other dermatological malignancies, is responsible for the majority of deaths caused by skin cancers. If diagnosed in its early stages, melanoma can be successfully cured with surgical excision of the primary tumour. However, later stages and advanced metastatic disease have a very poor prognosis with less than 15 percent chance of surviving five years after diagnosis. The intensive research on the biology of melanoma cells is expected to yield molecular targets suitable for the development of novel, more efficient therapies.

Activating somatic mutations of N-Ras and B-Raf proto-oncogenes have been found to play a crucial role in the constitutive activation of the extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway in malignant melanoma. The activity of this mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway has been shown to be critically important for melanoma development and survival, and a number of small molecule inhibitors of this pathway have already entered clinical trials. On

the other hand, the role of other MAPK pathways in melanoma cell biology remains unclear.

In our experiments, several melanoma cell lines have been treated with SB202190, a small molecule inhibitor of the p38α/β MAPK pathways. Surprisingly, the pharmacological inhibition of p38 in malignant melanoma cells triggered autophagy, which is a process involved in the degradation of cellular organelles and long-lived proteins in lysosomes. Importantly, a simultaneous inhibition of autophagy using chemical inhibitors 3-methyladenine or Bafilomycin A1 significantly decreased the survival of SB202190-treated melanoma cells, indicating that autophagy could be required for the survival of melanoma cells under conditions of p38 MAPK pathway inhibition.

Taken together, our results suggest that p38 signalling and autophagy can play an important role in the biology of melanoma cells and that both pathways might be suitable targets for the development of novel therapeutic strategies for malignant melanoma.

This work was supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (grant LC06077) and the Ministry of Health of the Czech Republic (grant NS10236-3/2009).

Využití metody FISH u diagnosticky obtížných melanomových lézí – kazuistika

**RNDr. Magdalena Uvírová¹,
MUDr. Jana Dvořáčková, Ph.D.^{1,2},
MUDr. Jan Nieslaník¹,
MUDr. Martin Čegan¹,
Mgr. Irena Urbanovská¹,
MUDr. Dušan Žiak¹**

¹ **CGB laboratoř a.s.**

² **Ústav patologie, FN Ostrava**

Maligní melanom je vysoce zhoubný, především kožní nádor, s celosvětově stoupající incidencí přes 4 % ročně. Některé formy nevočulárních lézí jsou z pohledu morfologa diagnostickým problémem, zvláště v případech pigmentových lézí benigní povahy např. Spitzové naevus. Správné stanovení biologické povahy tohoto neuroektodermového nádoru je jednou ze základních podmínek správné léčby. I když mnoho případů může být spolehlivě klasifikováno podle současných histopatologických kritérií, existuje určitá skupina případů, kdy nedochází ke shodě ani mezi experty.

Na základě publikovaných prací a současně s přispěním vlastních poznatků při diagnos-

tice obtížných kožních névocelulárních lézí jsme zavedli metodiku fluorescenční in situ hybridizace (FISH) za použití kombinované sondy Vysis LSI RREB1/LSI MYB/LSI CCND1/CEP 6 (Abbott, USA) v CGB laboratoři a. s. do rutinního provozu. V krátkém časovém období 10/2008–1/2009 bylo již metodou FISH vyšetřeno celkem 10 pacientů. Genetické abnormality byly nalezeny u 7 z nich. Ve 4 případech se jednalo o maligní melanoblastom, ve 2 případech byl nález uzavřen diagnózou Spitzoidního melanomu a v 1 případě, kdy byly nalezeny amplifikace genů MYB, RREB1 a CCND1, byl nález uzavřen jako dysplastický névus se špatnou biologickou povahou a bylo doporučeno pacienta dispenzarizovat. Bez genetických abnormalit pak byly uzavřeny 3 případy.

Kazuistika č.1:

36letá žena

Klinická diagnóza: nezhoubný novotvar kůže horní končetiny.

Histologická diagnóza: drobná kožní excize v tangenciálním řezu s přítomností hnízd melanomových buněk, tyto buňky přítomny také v superficiálním koriu. Pro obtížné posouzení biologické povahy léze zasláno ke konzultativnímu vyšetření.

Závěr: Nevus Spitz.

Nález potvrzen metodou FISH s použitím sondy Vysis LSI RREB1/LSI MYB/LSI CCND1/CEP 6 – normální nález.

Kazuistika č.2:

33letá žena

Klinická diagnóza: Pyogenní granulom.

Histologická diagnóza: Spitzoidní melanoblastom bez satelitózy, angioinvasie a zřetelné perineurální propagace.

Na žádost klinika zasláno ke druhému čtení.

Závěr: Spitzoidní melanoblastom.

Nález potvrzen metodou FISH s použitím sondy Vysis LSI RREB1/LSI MYB/LSI CCND1/CEP 6 – patologický nález.

Kazuistika č.3:

49letý muž

Klinická diagnóza: melanocytové névy NS.

Histologická diagnóza: Pro těžkou atypii melanocytů v dysplastickém smíšeném naevu jsme využili možnost vyšetření FISH a odeslali ke konzultaci na univerzitní pracoviště.

Metodou FISH s použitím sondy Vysis LSI RREB1/LSI MYB/LSI CCND1/CEP 6 – patologický nález.

Závěr: Jedná se o névocelulární lézi charakteru dysplastického junkčního naevu, avšak s přítomností molekulárně biologických změn, které se obvykle nacházejí u maligního melanomu. Z toho důvodu doporučujeme pacienta sledovat.

Kombinovaná sonda Vysis LSI PREB1/LSI MYB/LSI CCND1/CEP 6 (Abbott, USA) se jeví jako užitečný nástroj pro upřesnění diagnózy obtížně diagnostikovatelných kožních lézí a je nyní po úspěšném ukončení evaluační fáze v nabídce firmy Abbott dostupná k rutinnímu vyšetřování.

Výsledek stanovení chromozomálních aberací na otiskových preparátech čerstvé tkáně nádorů mozku

Ing. Marie Lehnerová¹,

MUDr. Jiří Fiedler¹,

MUDr. Monika Posltová²,

Mgr. Ondřej Scheinost¹,

Jitka Hynková¹,

Petra Landová¹,

Eva Šimová¹

¹ Laboratoř molekulární biologie a genetiky a Nemocnice České Budějovice, a.s.

² Biolab Praha, s.r.o.

Oligodendrogliální tumory představují 15–20% všech gliomů mozku a lze je rozdělit do dvou prognosticky odlišných stupňů oligodendrogliom WHO gr. II a anaplastický oligodendrogliom WHO gr. III, který představuje malignější variantu.

V poslední době hraje důležitou roli v histologické diagnostice a stanovení prognózy onemocnění molekulárně cytogenetické vyšetření.

Výskyt delece 1p nebo kombinované delece 1p/19q je markrem v upřednostnění diagnózy oligodendrogliomu a zároveň je pozitivním ukazatelem chemosenzitivity a řadí pacienty s tímto tumorem do lepší prognostické skupiny. Všechny anaplastické oligodendrogliomy s kombinovanou delecí 1p/19q nebo alespoň izolovanou delecí 1p dobře reagují na chemoterapii tzv. PCV kombinaci.

Genetické změny také ovlivňují délku přežití. Pacienti s anaplastickým oligodendrogliomem a s kombinovanou delecí 1p/19q mají průměrnou délku přežití 10 let oproti pacientům, kde byla nalezena delece na chromozomu 10 a amplifikace na chromozomu 7.

Od začátku r. 2006 bylo na našem pracovišti pomocí FISH metody vyšetřeno 100 vzorků nádoru mozku. Tato vyšetření byla provedena na

otiskových preparátech z čerstvé tkáně. Vzorky byly vyšetřeny sondami od firmy Abbott-Vysis 1p/1q, 19p/19, PTEN/10, p16/9, EGFR/7 a p53/17.

Výsledky vyšetření jsou porovnány z histologickým nálezem.

Newly identified interaction of mdm2 with gtf2i might be involved in the regulation of cellular stress response pathways

Mgr. Kateřina Cetkovská¹,

Karen H. Vousden²,

Mgr. Stjepan Uldrijan, CSc.¹

¹ Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University, 62500 Brno, Czech Republic

² Beatson Institute for Cancer Research, Glasgow G61 1BD, UK

The p53 protein is a critical tumor suppressor whose function is required for cellular response to various types of stress, and a loss or mutation of p53 gene is strongly associated with an increased susceptibility to cancer. It has been shown that p53 function is lost in the majority of human cancers, mainly through mutations in the p53 gene. However, in a large proportion of human cancers retaining wild-type p53 gene, the p53 function is abrogated by an increased expression of cellular oncoprotein Mdm2, which is a key regulator of p53 stability. Mdm2 serves as an E3 ubiquitin ligase for itself and p53 and promotes p53 degradation via 26S proteasome.

Mdm2 contains, in addition to the N-terminal p53-binding domain and the C-terminal RING ubiquitin ligase domain, a central regulatory region, which was shown to be important for efficient ubiquitylation and degradation of p53, but its exact role remains unclear. This central region of Mdm2 also contains binding sites for many known Mdm2 modulators, such as YY1, p300, p14Arf, PML etc.

In order to identify novel binding partners for the central regulatory region of Mdm2 that might be involved in the regulation of Mdm2 or p53 function, we have performed tandem affinity tag purification of cellular complexes containing the central portion of Mdm2 followed by a mass spectroscopy analysis.

We have identified the general transcription factor GTF2I as a novel Mdm2-interacting protein. We have confirmed the Mdm2-GTF2I interaction on the level of exogenous as well as endogenous proteins in immunoprecipitations. Using a protein relocalization assay, we were able to prove that this interaction can take

place inside living cells. Results obtained in p53 ubiquitylation assays suggest that GTF2I might serve as a positive regulator of p53 ubiquitylation. On the other hand, GTF2I has been found to be involved in transcriptional activation of cellular response to the endoplasmic reticulum stress. We have proved that Mdm2 is able to inhibit the transcriptional activity of GTF2I. This suggests that Mdm2 might be able to regulate the response to endoplasmic reticulum stress in cancer cells overexpressing Mdm2.

This work was supported by the Czech Science Foundation, grant No 301/09/1324.

Prognostický a prediktivní význam exprese CD40 u karcinomu prsu

MUDr. Zuzana Slobodová¹,

prof. MUDr. Jiří Ehrmann, Ph.D.^{1,2},

Mgr. Veronika Krejčí¹

¹ Laboratoř molekulární patologie a Ústav patologie LF UP a FN Olomouc

² Ústav histologie a embryologie LF UP a FN Olomouc

Úvod: Karcinom prsu patří celosvětově k nejčastějším typům nádorů, proto se hledají nové znaky, které by mohly určit jeho prognózu. Klinické chování různých subtypů nádorů prsu má vztah k expresi hormonálních receptorů a *cerbB2/Her-2/neu*. Luminální subtypy jsou spojeny s lepšími prognostickými znaky, zatímco ztráta hormonálních receptorů u *basal-like* a *her2/neu* subtypů je spojená s horším klinickým chováním. Změna exprese CD40 byla popsána u hematologických malignit i epitelálních nádorů a CD40 se jeví jako slibný terapeutický cíl a prognostický znak.

Materiál a metody: Byla provedena imunohistochemická detekce CD40 u 181 vzorků karcinomů prsu. Jako primární protilátka byla použita králičí polyklonální protilátka CD40 (C-20) (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) v ředění 1:50. Výsledky hodnocení exprese CD40 byly korelovány s klinicko-patologickými daty pacientů. Následně byly vzorky rozděleny podle exprese hormonálních receptorů (*estrogenový/ER/* a *progesteronový receptor/PR/*) a *cerbB2/Her-2/neu* receptoru do následujících skupin: 1. Luminální A (*ER+PR+ cerbB2/Her-2/neu -*), 2. Luminální B (*ER+PR+ cerbB2/Her-2/neu +*), 3. Triple-negative (*ER-PR- cerbB2/Her-2/neu -*), 4. *Her-2/neu* (*ER-PR- cerbB2/Her-2/neu +*). Výsledky hodnocení exprese CD40 byly korelovány s klinicko-patologickými daty i v těchto skupinách.

Výsledky: Nenádorové dukty vykazovaly slabou cytoplasmatickou expresi CD40 ve 30% vzorků, u karcinomu prsu byla exprese nalezena u 53%. Při hodnocení CD40 jako nezávislého znaku byla zjištěna signifikantní pozitivní korelace s expresí *Bcl-2* ($p=0,002$), časným stadiem nemoci ($p=0,016$) a neoadjuvantní chemoterapií ($p=0,043$).

Byly zjištěny také statisticky signifikantní rozdíly v expresi CD40 mezi skupinami s různým hormonálním a *cerbB2/Her-2/neu* profilem ($p=0,00003$). Ve skupině *luminální A* byla nalezena pozitivní korelace mezi expresí CD40 a stadiem nemoci ($p=0,006$) a relapsem ($p=0,024$). Korelace nebyla nalezena mezi typem nádoru, diferenciací nádoru, věkem v čase nástupu nemoci, pozitivní rodinnou anamnézou pro nádory a nádory prsu, hormonální substituční terapii, menopauzálním stavem v době nástupu nemoci a adjuvantní chemoterapeutickou léčbou.

Závěr: Zjistili jsme signifikantní rozdíl v expresi CD40 mezi skupinami s lepší a horší prognózou. Změna exprese CD40 korelovala s faktory vztahujícími se k lepší prognóze. CD40 by tak mohl být používán u karcinomu prsu jako prognostický znak.

Práce byla podpořena granty MSM6198959216, 6.FP80110091, GACR303/09/H048.

Asociácia genetických polymorfizmov génov biotransformačných a DNA reparačných enzýmov (GSTM1, GSTT1, GSTP1, hOGG1, XRCC1) vo vzťahu k riziku vzniku karcinómu pľúc

Mgr. Anton Dzian A.¹

RNDr. Tatiana Matáková²,

doc. MUDr. Julián Hamřík, Ph.D.¹,

doc. RNDr. Erika Halašová, Ph.D.³,

MUDr. Elena Kavcová, Ph.D.⁴,

doc. MUDr. Dušan Mištuna, Ph.D.¹

¹ Chirurgická klinika JLF UK a MFN Martin

² Ústav lekárskej biochémie JLF UK Martin

³ Ústav lekárskej biológie JLF UK Martin

⁴ Klinika tuberkulózy a pľúcnych chorôb JLF UK a MFN Martin

Úvod: Karcinóm pľúc je najčastejším typom zhubného nádoru v ľudskej populácii a patrí k nádorovým ochoreniam s najvyššou letalitou. Diagnostikovanie tohto ochorenia je obvykle až v pokročilých štádiách, často vhodných iba na paliatívnu liečbu. 5-ročné prežívanie všetkých klinických štádií je iba 15–18 %, čo

determinuje jeho medicínsku aj spoločenskú závažnosť. Asi 90 % karcinómov pľúc je spôsobených fajčením, 10–15 % profesionálnou expozíciou karcinogénom, 1–2 % sú dôsledkom znečistenia ovzdušia. Zaujímavý je údaj, že z celkového počtu fajčiarov len 10–25 % naozaj ochoreje na karcinóm pľúc a 10–15 % všetkých pľúcnych karcinómov sa vyskytuje u nefajčiarov. Jedným z vysvetlení tejto individuálnej susceptibility môže byť fakt, že organizmus disponuje rozsiahlym biotransformačným enzymatickým systémom s cieľom detoxifikácie xenobiôtik a ďalšími enzymatickými systémami zúčastňujúcimi sa na reparačných procesoch poškodenej DNA. V procese II. fázy detoxifikácie xenobiôtik zohrávajú centrálnu úlohu glutatión-S-transferázy (GSTs), ktoré katalyzujú konjugáciu elektrofilných molekúl s glutatiónom, čo umožňuje ich ďalší metabolizmus a následnú premenu na deriváty ľahko vylúčiteľné močom. Najintenzívnejšie študované sú polymorfizmy génov GSTT1, GSTM1, GSTP1, pričom existuje veľká interindividuálna variabilita v expresii týchto enzýmov, spôsobujúca zmeny ich aktivity prípadne jej úplnú stratu. V GSTM1 a GSTT1 génoch boli identifikované delečné mutácie, ktoré majú za následok kompletnú stratu aktivity enzýmov. Ak sú vyradené obidve alely označujeme tento genotyp ako GSTM1 null a GSTT1 null. V prípade polymorfizmu GSTP1 ide o zmenu aminokyselín (Ile→Val) v polohe 105. Výsledkom sú tri variantné genotypy, kde heterozygotná a homozygotná varianta Val105 má za následok zníženú aktivitu enzýmu. Genómová DNA je neustále atakovaná endogénnymi reaktívnymi metabolitmi a environmentálnymi agensmi. Ak bunka nie je schopná opravy poškodení DNA podstupuje buď apoptózu alebo malígnu transformáciu. Na ochranu genómu má bunka vyvinutý efektívny reparačný systém, na ktorom sa podieľa asi 150 génov. Opravu DNA procesom bázevej excíznej reparácie (BER – base excision repair) riadi gén XRCC1. Genetický polymorfizmus génu XRCC1 spôsobuje zmenu aminokyselín (Arg→Gln) v polohe 399, čo má za následok zníženú účinnosť BER. Asi najvyššie zastúpeným oxidatívnym aduktom DNA báz je 8-oxoguanín, pričom jeho prítomnosť je mutagénna, nakoľko sa páruje s adenínom, rovnako ako s cytozínom. Hlavným mechanizmom odstraňovania 8-oxoguanínu je bázeová excízna oprava, ktorá sa uskutočňuje pomocou enzýmu hOGG1 (8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosin DNA-glykozyláza-1). Polymorfizmus génu hOGG1 má za následok substitúciu Ser→Cys na kodóne

326, čo je spojené so zníženou enzýmovou aktivitou. Cieľom práce bolo sledovanie výskytu polymorfizmov génov GSTs a reparačných génov hOGG1 a XRCC1, ich kombinácií, ako možných prediktívnych faktorov v rozvoji karcinómu pľúc.

Metodika: Do štúdie typu case-control bolo zaradených 256 pacientov s histologicky verifikovaným karcinómom pľúc. Do kontrolnej skupiny bolo zaradených 290 zdravých dobrovoľníkov a pacientov hospitalizovaných s nenádorovým ochorením. Genomická DNA bola izolovaná fenol-chloroformovou extrakciou z venózne krvi. Genetické polymorfizmy GSTM1, GSTT1, GSTP1, XRCC1 a hOGG1 boli determinované použitím polymerázovej reťazovej reakcie (PCR). Produkty PCR boli analyzované gélovou elektroforézou. Štatistické vyhodnotenie výsledkov a zhoda genotypových distribúcií s Hardy-Weinbergovou rovnováhou bola testovaná pomocou chí-kvadrát testu. ODDs ratio (OR) a 95 % konfidenčný interval (95 % CI) bol použitý k výpočtu rizika rozvoja karcinómu pľúc vo vzťahu k jednotlivým polymorfizmom ako aj ich kombináciám.

Výsledky: Pri sledovaní GSTM1, GSTP1, hOGG1 a XRCC1 genotypov samostatne neboli zaznamenané štatisticky signifikantné rozdiely. Jedine genotyp GSTT1 null predstavoval 1,58 násobné riziko rozvoja karcinómu pľúc (95 % CI=1,03–2,4; p=0.04). Pri kombináciách genotypov sme nezaznamenali štatisticky významné výsledky.

Záver: Recentné štúdie a taktiež naša case-control štúdia potvrdzujú nejednoznačnosť a nejednotnosť výsledkov výskumu genetických polymorfizmov, ktoré pravdepodobne vyplývajú z rasy, etnika, histologického typu nádoru, veku, fajčenia, expozície xenobiotikám. Aby sa potvrdil vplyv genetických polymorfizmov prispievajúcich k náchylnosti k vzniku a rozvoju karcinómu pľúc bude potrebná komplexná genotypizácia ďalších génov zúčastňujúcich sa detoxifikačných a reparačných procesov so samostatnou analýzou individuálnych charakteristík ovplyvňujúcich genetické polymorfizmy.

Porovnaní účinků vanadocenu dichloridu a cisplatiny u buněk MOLT-4 – změny v expresi p53 a indukci apoptózy

Mgr. Jana Čmielová¹,

Mgr. Martina Seifrtová¹,

Petra Krejčířiková¹,

PharmDr. Darina Muthná, Ph.D.¹,

Ing. Pavel Šiman, CSc.¹,

Mgr. Radim Havelek¹,

doc. Ing. Jaromír Vinklárěk²,

doc. MUDr. Martina Řezáčová, Ph.D.¹

¹ Ústav lékařské biochemie, LF Hradec Králové, UK Praha

² Katedra obecné a anorganické chemie, Univerzita Pardubice

Cíl: Cílem našeho projektu bylo zjistit rozdíly mezi běžně používaným cytostatikem cisplatinou a novou sloučeninou s protinádorovými účinky vanadocen dichloridem u lidské leukemické linie MOLT-4.

Metody: Pro stanovení toxicity a určení hodnoty IC50 uvedených cytostatik jsme použili WST-1 test, viabilitu buněk jsme určovali barvením trypanovou modří. Změny v proteinové expresi jsme analyzovali pomocí elektroforézy a western blottingu. Detekci apoptózy a analýzu buněčného cyklu jsme prováděli průtokovou cytometrií.

Výsledky: Hodnotu IC50 u buněčné linie MOLT-4 jsme po 24hodinové inkubaci stanovili 8,5 µmol/l pro cisplatinu a 125 µmol/l pro vanadocen dichlorid. Po 48 hodin dlouhé inkubaci vedly uvedené koncentrace obou cytostatik k eradikaci buněk.

Hodnotili jsme změny v expresi proteinu p53 a jeho fosforylaci na serinech 15 a 392. Po 24 hodinách působení cisplatiny o koncentracích 10 µmol/l a 5 µmol/l byla exprese proteinu p53 zvýšena a u koncentrace 5 µmol/l byla pozorována fosforylace na serinu 15 i 392. Po působení cisplatiny jsme v uvedeném časovém intervalu nepozorovali žádné změny v expresi proteinu p21. Na rozdíl od cisplatiny, vanadocen dichlorid neovlivňoval hladinu proteinu p53 ani jeho fosforylaci, ale po 24 hodinách byla u koncentrace 125 µmol/l pozorována zvýšená exprese proteinu p21.

Oba druhy cytostatik indukovaly apoptózu, cisplatinu v koncentraci 0,1 mmol/l a vanadocen dichlorid v koncentraci 0,5 mmol/l, a to za 24 hodin po hodinové inkubaci s uvedenými koncentracemi cytostatik. Cisplatinu vyvolává akumulaci buněk v G0/G1 a S fázi, zatímco po působení vanadocenu dichloridu byly buňky akumulovány v G2/M fázi buněčného cyklu.

Závěr: Cisplatinu zvyšuje expresi proteinu p53 a jeho fosforylaci na serinech 15 a 392, zatímco vanadocen dichlorid způsobuje zvýšení exprese proteinu p21 bez předchozí aktivace proteinu p53. Oba druhy cytostatik vyvolávají zástavu buněčného cyklu a indukují apoptózu.

*Tato práce vznikla za podpory
výzkumného záměru MSM 0021620820.*

Vztáh medzi polymorfizmami génov zúčastňujúcimi sa metabolizmu androgénov a rizikom vzniku karcinómu prostaty

Mgr. Monika Sivoňová, Ph.D.¹,

RNDr. Tatiana Matáková¹,

prof. MUDr. Ján Kliment, CSc.²

MUDr. Róbert Dušenka^{1,2},

prof. MUDr. Dušan Dobrota, CSc.¹

¹ Ústav lekárskej biochémie, Jesseniova lekárska fakulta UK Martin

² Urologická klinika, Jesseniova lekárska fakulta UK a MFN Martin

Androgény zohrávajú dôležitú úlohu pri raste, funkcii, proliferácii buniek prostaty a predpokladá sa, že expresia génov regulujúcich hladiny týchto hormónov môže ovplyvňovať riziko vzniku karcinómu prostaty. Jedným z týchto génov je CYP17 kódujúci enzým cytochróm P-450c17α. V promótorovej oblasti CYP17 génu dochádza k substitúcii T (A1 alela) za C (A2 alela) a predpokladá sa, že táto substitúcia zvyšuje transkripciu génu a tým aj hladiny androgénov. Ďalším génom, ktorého expresia je regulovaná androgénmi cez ich väzbu na androgénové receptory (AR) je gén pre prostatický špecifický antigén (PSA). V promótorovej oblasti PSA génu sa nachádza niekoľko funkčných a nefunkčných jednonukleotidových polymorfizmov (SNP). Najviac študovaný z nich je SNP v ARE1 oblasti PSA génu, v pozícii 158 od transkripčného štartovacieho miesta (G-158A), kde dochádza k zámene adenínu za guanín. Predpokladá sa, že AR sa viaže s rozdielnou afinitou k dvom PSA alelám (A a G), čím ovplyvňuje expresiu a hladiny mRNA PSA génu, hladiny sérového PSA a tým sa mení riziko vzniku karcinómu prostaty. Cieľom našej štúdie bolo sledovanie distribúcie CYP17 a PSA genotypov u kontrolnej skupiny a u pacientov s karcinómom prostaty s využitím polymerázovej reťazovej reakcie s následnou restriktčnou analýzou (PCR-RFLP). Pre porovnanie frekvencií výskytu genotypov a alel u pacientov s karcinómom prostaty a zdravých jedincov sme použili chí-kvadrát test. CYP17: Hodnoty OR pre jedincov s A1/A2 genotypom boli 1.06 (95 % CI = 0.68–1.64) a pre jedincov s A2/A2 genotypom 0.66 (95 % CI = 0.37–1.19) v porovnaní s jedincami s A1/A1 genotypom. Pomocou multivariačnej analýzy sme zistili vzťah medzi hladinami sérového PSA a CYP17 genotypmi (A1/A1 vs. A1/A2; A2/A2). U pacientov s karcinómom prostaty s hladinami sérového PSA (4–10 ng/ml) a A1/A2; A2/A2 genotypmi sme potvrdili zvýšené riziko vzniku

karcinómu prostaty (OR=2.84, 95 % CI=1.06–7.62; OR=3.15, 95 % CI=0.75–13.28). PSA: Analyzováním rozdielov vo frekvenciách výskytu PSA genotypov medzi pacientmi s karcinómom prostaty a kontrolnou skupinou sme zistili vplyv AA genotypu na vznik karcinómu prostaty (OR=1.4, 95 % CI 0.75–2.63; $p=0.37$). Podobne aj hladiny sérového PSA boli signifikantne vyššie u pacientov s genotypom AA v porovnaní so skupinou pacientov s genotypom GG ($p<0.05$).

Výsledky našej štúdie naznačujú koreláciu CYP17 A2 alely a PSA AA genotypu s rizikom vzniku karcinómu prostaty najmä u jedincov s hladinami sérového PSA nad 4 ng/ml a stanovenia týchto jednonukleotidových polymorfizmov by mohli byť jednými z genetických markerov karcinómu prostaty. Tiež je možné predpokladať, že riziko vzniku karcinómu prostaty ovplyvňuje interakcia CYP17 a PSA s inými génmi a je nevyhnutné ďalej definovať molekulárne mechanizmy asociované s rozvojom a progresiou nádoru.

Práca vznikla na základe podpory grantov MZ SR 2007/45-UK-10, MZ SR 2007/57-UK-17, MVTS Bil/ČR/SR/UK/06 a AV 4/0013/05.

Separace monocytárních buněk pomocí přístroje Elutra

Petra Vidláková

CMG-UCBI, Univerzitní kampus, Brno

Úvod: Separací přístroj Elutra je v České republice unikátní a na našem pracovišti byl uveden do provozu na jaře roku 2008. Jeho hlavním využitím spočívá v separaci monocytoidních buněk z leukaferetického produktu. Separát je následně použit pro kultivaci dendritických buněk in vitro, které jsou hlavní složkou protinádorové vakcíny pro onkologické pacienty.

Princip metody: Separací systém Elutra umožňuje rozdělení buněčných populací do různých frakcí, a to na základě velikosti a hustoty buněk. Přístroj tak umožňuje obohacení jednotlivých buněčných populací, jejich případnou depleci, zkoncentrování nebo promývání. Vše se odehrává v plně uzavřeném a automatizovaném systému.

Elutriace se řídí Stokesovým zákonem o proudění kapalin.

Výsledky: Do současnosti byly provedeny 4 kompletní elutriace. Ve vybraném případě bylo z 4,148x10⁹ leukocytů ve vstupním produktu obsahujícím 21,1 % monocytoidních buněk získáno 2,914x10⁹ vyseparovaných buněk s čistotou 89,4 %. Došlo tedy k obohacení z původních 21,1 % před separací na 89,4 % monocytoidních buněk po separaci. Další experimenty prokázaly obdobné výsledky.

Závěr: Separované buňky ve vysoké čistotě jsou díky uzavřenému systému přístroje Elutra bez rizika možné kontaminace využitelné pro následné laboratorní a klinické aplikace.

Tato práce byla podpořena grantem NPV11 2B06058.

Pilotní studie srovnání dvou molekulárně-biologických metod v diagnostice karcinomu prsu

Ing. Daniel Tvrdlík, Ph.D.

MUDr. Adéla Berková

Bc. Štěpánka Melčáková

Jana Vogeltanzová

Prof. MUDr. Ctibor Povýšil, DrSc.

Ústav patologie, 1 LF UK a VFN, Studničkova 2, Praha 2

Karcinom prsu je jednou s nejčastějších malignit postihujících ženy na celém světě, nevyjímaje Českou republiku. Jedná se o velice heterogenní skupinu nádorů, jejichž incidence každým rokem stoupá. Současná onkologická léčba vychází s konceptu cílené biologické léčby „targeted therapy“, která vyžaduje přesnou identifikaci cílené struktury molekulárně-biologickými metodami. Molekulární klasifikace umožňuje rozlišit nádory stejného histologického obrazu a je založena na stupni exprese estrogenových receptorů (ER), progesteronových receptorů (PR) a onkoproteinu receptoru HER2 (Erb-2). Her2 je produkt genu Her2/neu nacházejícího se na dlouhém raménku chromozomu 17 v oblasti q11.2–q12, jedná se o transmembránový receptor s tyrozin kinázovou aktivitou o hmotnosti 185 kDa, patřící do rodiny HER, homologů EGFR (Epidermal growth factor receptor) a má význam pro buněčný růst a transdukcí signálu. Za normálních podmínek je zastoupení těchto receptorů v buňce prsní žlázy okolo 20 000 kopií, při overexpresi Her2

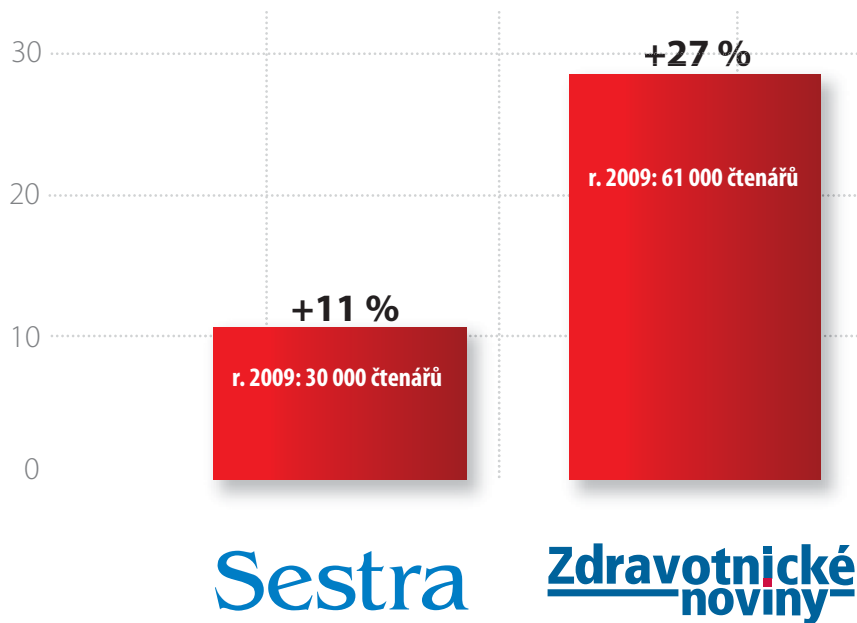
může jejich počet vzrůst na několik miliónů, což je ve většině případů přímý důsledek aplikace genu Her2/neu. U pacientek s overexpresí tohoto proteinu je zvýšená proliferační aktivita a horší prognóza s kratším přežitím. Pozitivita Her2 je ovšem také prediktorem odpovědi na léčbu pomocí humanizované monoklonální protilátky proti tomuto receptoru Herceptinem (trastuzumab). Před zahájením této léčby je nutné provést molekulárně biologické vyšetření overexprese/amplifikace Her2 v nádorových buňkách. To lze provést na úrovni nadprodukce proteinu imunohistochemicky a na úrovni amplifikace příslušného genu. Na našem pracovišti používáme dvě metody umožňující průkaz amplifikace genu Her2/neu. Jedná se o již klasickou a rutinně používanou metodu fluorescenční hybridizace in situ FISH (PathVysion HER-2 DNA Probe Kit Abbott) a nově zaváděnou metodu kvantifikace pomocí RT-PCR (LIGHT Mix Her2; TIB MOLBIOL). Některé studie tuto metodu zatím nedoporučují k rutinnímu testování pro nemožnost odlišení NK s nádorových a nenádorových buněk. Cílem této pilotní studie bylo ověření specifčnosti této metody ve srovnání s již rutinně používanou metodou FISH. Do sledované studie bylo zatím zařazeno 30 pacientek s karcinomem prsu. Současně byla u všech pacientek sledováno zastoupení membránových receptorů imunohistochemicky pomocí komerčně dostupného kitu DAKO Herceptest. U 20 pacientek byla provedena RT-PCR analýza. V této skupině bylo zařazeno 10 pacientek vykazujících negativní membránovou expresi proteinu, pozitivita 0 nebo 1+ a 10 pacientek se silnou membránovou pozitivitou 3+. U další skupiny 10 pacientek byly provedeny kontrolně obě metody RT-PCR/FISH, a bylo zařazeno 5 pacientek s membránovou pozitivitou 0 nebo 1+ a 5 pacientek s pozitivitou 3+. U všech 30 pacientek byla dosažena shoda mezi molekulárně-biologicky analyzovanou amplifikací genu Her2/neu pomocí RT-PCR a imunohistochemicky detekovanou membránovou expresí proteinu. U deseti pacientek, kde bylo provedeno RT-PCR/FISH, byla prokázána korelace mezi oběma metodami. Závěrem lze říci, že tato metoda z našeho pozorování se jeví jako dostatečně specifická s dobrou reprodukovatelností.

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR č. NS10575-3/2009

Rosteme díky našim spokojeným čtenářům!



MLADÁ FRONTA



Zdroj: Mediaprojekt – GfK Praha – Median

Procentuální meziroční nárůst čtenářů

Srovnání období 4. čtvrtletí 2008 a 1. čtvrtletí 2009 s obdobím 4. čtvrtletí 2007 a 1. čtvrtletí 2008

POŘADATELÉ

SDPO České onkologické společnosti ČLS
JEP | Laboratoř experimentální medicíny
a Laboratoř molekulární patologie LF
UP a FN Olomouc | Onkologická klinika
LF UP a FN Olomouc | Komplexní onko-
logické centrum Olomouc | Nadace pro
výzkum rakoviny | Sdružení Šance

SOLEN
MEDICAL EDUCATION

V. dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie

II. symposium o cílené biologické léčbě

25.– 27. listopadu 2009

Regionální centrum Olomouc

HLAVNÍ PARTNEŘI



PARTNEŘI

Amgen s.r.o.

BARIA s.r.o.

Bristol-Myers Squibb spol. s r.o.

Carl Zeiss spol. s r.o.

East Port Praha, s.r.o.

GlaxoSmithKline, s.r.o.

LGC STANDARDS sp. z o.o., organizační složka

medisap, s.r.o.

Merck Pharma k.s.

MHP - Medical Home Products s.r.o.

Novartis s.r.o.

Quintiles GesmbH, organizační složka

Scintila, s.r.o.

Swedish Orphan International s.r.o.

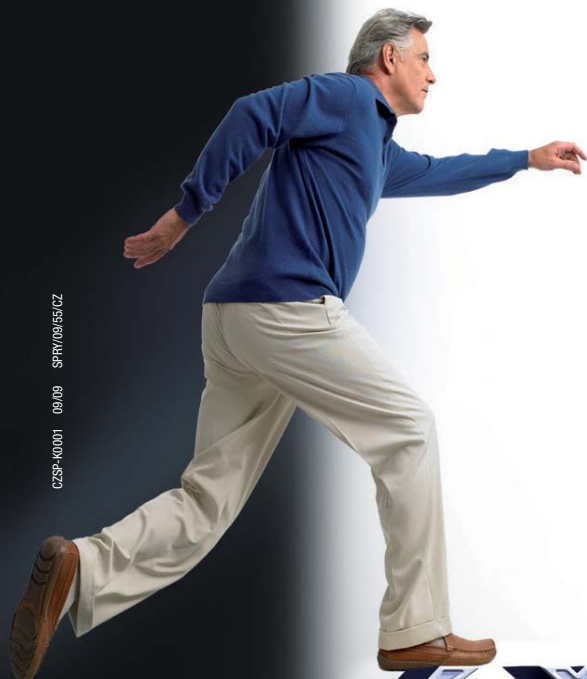
MEDIÁLNÍ PARTNEŘI

Onkologie



Když jsou pacienti
v chronické fázi CML
REZISTENTNÍ či
INTOLERANTNÍ
k imatinibu...

UDĚLEJTE DALŠÍ KROK S PŘÍPRAVKEM SPRYCEL™ 100 mg JEDNOU DENNĚ



ÚČINNÝ TRVALÝ SNADNÝ

SPRYCEL™ je indikován k léčbě dospělých s chronickou, akcelеровanou nebo myeloidní či lymfoidní blastickou fází chronické myeloidní leukémie (CML) s rezistencí nebo intolerancí k předchozí léčbě včetně léčby imatinibem.⁽¹⁾

SPRYCEL™ je také indikován k léčbě dospělých s Philadelphia chromozom pozitivní (Ph+) akutní lymfoblastickou leukémií (ALL) s rezistencí nebo intolerancí k předchozí léčbě.⁽¹⁾

(1) SPRYCEL™ Souhrn údajů o přípravku, červenec 2009.

SPRYCEL™
dasatinib

ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU

NÁZEV: SPRYCEL 20 mg potahované tablety, SPRYCEL 50 mg potahované tablety, SPRYCEL 70 mg potahované tablety.
SLOŽENÍ: Jedna potahovaná tableta obsahuje dasatinibum 20 mg, 50 mg a 70 mg. **FARMAKOTERAPEUTICKÁ SKUPINA:** Inhibitor proteinkinázy. **ATC KÓD:** L01XE06. **INDIKACE:** SPRYCEL je indikován k léčbě dospělých s chronickou, akcelеровanou nebo blastickou fází chronické myeloidní leukémie (CML) s rezistencí či intolerancí na předchozí léčbu včetně imatinibu mesylátu. SPRYCEL je také indikován k léčbě dospělých s Philadelphia chromozom pozitivní (Ph+) akutní lymfoblastickou leukémií (ALL) a s lymfoidní blastickou fází CML s rezistencí či intolerancí k předchozí léčbě. **DÁVKOVÁNÍ A ZPŮSOB UŽÍVÁNÍ:** Léčbu by měl zahájit lékař se zkušenostmi v diagnostice a léčbě pacientů s leukémií. Doporučená zahajovací dávka pro léčbu chronické fáze CML je 100 mg dasatinibu jednou denně. Doporučená zahajovací dávka pro léčbu akcelеровané, myeloidní nebo lymfoidní blastické fáze (pokročilé stadium) CML nebo Ph+ ALL je 140 mg jednou denně*, podávána perorálně. Tablety se nesmí drtit nebo krájet, musí se polykat celé. SPRYCEL může být podáván s jídlem nebo bez jídla a má se užívat pravidelně buď ráno nebo večer. Pro podrobnější informace viz Souhrn údajů o přípravku. **KONTRAINDIKACE:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku tohoto přípravku. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ*:** Dasatinib je substrát a inhibitor enzymu CYP3A4. Proto existuje možnost interakce s jinými současně podávanými léčivými přípravky, které se metabolizují primárně enzymem CYP3A4 nebo jeho účinek modulují. Souběžné užívání dasatinibu a antagonisty H₂ (např. famotidin), inhibitoru protonové pumpy (např. omeprazol) nebo hydroxidu hlinitého/hydroxidu hořečnatého může snížit expozici dasatinibu. Pacienti s mírnou, středně těžkou nebo těžkou poruchou funkce jater mohou dostávat doporučenou zahajovací dávku. Opatrnost je nutná, pokud pacienti musí užívat léčivé přípravky inhibující funkci krevních destiček nebo antikoagulanty. Podávání dasatinibu je spojeno s retencí tekutin. Pro podrobnější informace viz Souhrn údajů o přípravku. **INTERAKCE S JINÝMI LÉČIVÝMI PŘÍPRAVKY A JINÉ FORMY INTERAKCE:** Souběžné užití dasatinibu a léčivých přípravků, které jsou silnými inhibitory enzymu CYP3A4 (např. ketokonazol, itraconazol, erytromycin, klaritromycin, ritonavir, telitromycin), může zvýšit koncentraci dasatinibu. Proto se u pacientů léčených přípravkem SPRYCEL nedoporučuje systémové podávání silných inhibitorů CYP3A4. Léčivé přípravky, které indukují aktivitu enzymu CYP3A4 (např. rifampicin, dexametazon, fenytoin, karbamazepin, fenobarbital nebo *Hypericum perforatum* neboli třezalka tečkovaná), mohou zvyšovat metabolismus a snižovat koncentraci dasatinibu v plazmě. U pacientů léčených přípravkem SPRYCEL je třeba zvážit použití antacid místo blokátorů H₂ nebo inhibitorů protonové pumpy. Antacida mohou být podávána do 2 hodin před nebo 2 hodiny po podání přípravku SPRYCEL. Viz Souhrn údajů o přípravku. **TĚHOTENSTVÍ A KOJENÍ:** SPRYCEL by neměl být během těhotenství podáván, pokud to není nezbytně nutné. V průběhu léčby přípravkem SPRYCEL je třeba kojení ukončit. Viz Souhrn údajů o přípravku. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY*:** U většiny pacientů léčených přípravkem SPRYCEL se po určité době objevily nežádoucí účinky. Většina z nich byla mírného až středního stupně. Většina pacientů v chronické fázi CML intolerantních na imatinib tolerovala léčbu dasatinibem. Nejčastějšími hlášenými nežádoucími účinky byly retence tekutin (včetně pleurálního výpotku), průjem, kožní vyrážka, bolesti hlavy, krvácení, únava, nauzea, dušnost, bolest svalů a kostí, infekce, zvracení, kašel, bolesti břicha a pyrexie. U 5 % pacientů byla hlášena febrilní neutropenie související s podáváním léčiva. Různé nežádoucí účinky, jako je pleurální výpotek, ascites, plicní edém a perikardiální výpotek se superficiálním edémem nebo bez něj, lze souhrnně popsat jako „retence tekutin“. Použití dasatinibu je spojeno s případy retence tekutin u 10 %* pacientů. Pro další informace viz Souhrn údajů o přípravku. **UCHOVÁVÁNÍ:** Tento léčivý přípravek nevyžaduje žádné zvláštní podmínky uchovávání. **DRŽITEL ROZHODNUTÍ O REGISTRACI:** BRISTOL-MYERS SQUIBB PHARMA EEIG, Uxbridge Business Park, Sanderson Road, Uxbridge, Velká Británie. **REGISTRAČNÍ ČÍSLO:** SPRYCEL 20 mg: EU/1/06/363/001, SPRYCEL 50 mg: EU/1/06/363/002, SPRYCEL 70 mg: EU/1/06/363/003. **DATUM REGISTRACE:** 20. listopad 2006. **DATUM POSLEDNÍ REVIZE TEXTU:** červenec 2009.

Výdej přípravku SPRYCEL je vázán na lékařský předpis. Lék je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění.

Dříve než předepíšete tento lék, přečtěte si prosím úplné znění Souhrnu údajů o přípravku.

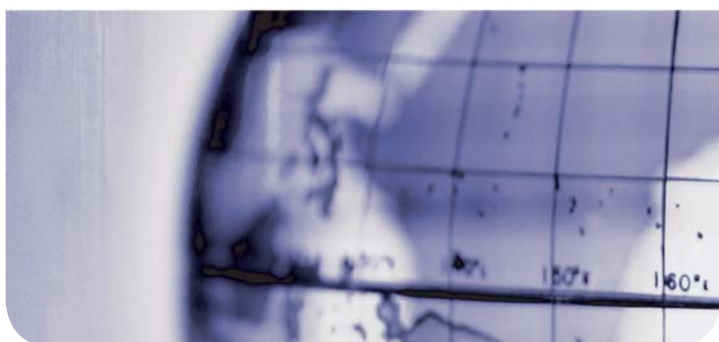
Podrobné informace o tomto přípravku jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské lékové agentury (EMA) <http://www.emea.europa.eu> nebo jsou dostupné na adrese Bristol-Myers Squibb spol. s r.o., Olivoва 4/2096, 110 00 Praha 1, tel: +420 221 016 111.

POUZE PRO ODBORNOU VEŘEJNOST.

* Všimněte si prosím změn v Souhrnu údajů o přípravku.



QUINTILES ČESKÁ REPUBLIKA



QUINTILES ČESKÁ REPUBLIKA
vyhledává další zdravotnická zařízení a lékaře,
kteří mají zájem podílet se na výzkumu nových léků.

QUINTILES

je součástí Quintiles Transnational Corp., největší smluvní výzkumné organizace na světě. S využitím nových metod a profesionálních zkušeností nabízíme farmaceutické služby a řešení, které zvyšují kvalitu péče o zdraví na celém světě.



Klinická hodnocení léků pomáhají nalézt odpovědi na otázky související s vývojem nových, účinnějších léků nebo nových způsobů v používání již známé léčby.

Lékaři na celém světě svou účastí na klinických studiích přispívají k tomu, že se nové, účinné, bezpečné a ověřené léky dostanou k pacientům.

QUINTILES

poskytuje komplexní služby ve všech terapeutických oblastech klinického hodnocení (KH) humánních léčivých přípravků.

QUINTILES

spolupracuje se zdravotnickými zařízeními všech typů ve všech krajích České republiky.

QUINTILES

zajišťuje kompletní vedení klinických studií v České republice.

- Výběr zdravotnických zařízení a zkoušejících lékařů všech odborností
- Povolení k provedení klinického hodnocení (SÚKL, Etické komise, smlouvy se zdravotnickými zařízeními)
- Monitoring KH
- Zaškolení zdravotnického personálu v protokolu studie, GCP a české legislativě související s prováděním KH
- Distribuci studijní medikace a materiálů
- Komunikaci se SÚKL a EK s mezinárodním studijním týmem v průběhu KH
- Klade důraz na bezpečnost pacientů, etiku a přesnost provádění klinických studií
- Pracuje podle pravidel správné klinické praxe (GCP) a Helsinské deklarace
- Zkvalitňuje a rozšiřuje služby v oblasti monitorování klinických studií, zajišťuje kontinuální vzdělání svých zaměstnanců



V případě Vašeho zájmu o spolupráci s námi nás kontaktujte na adrese Quintiles, Radlická 714/113A, Praha 5, Česká republika, tel.: +420 246 044 111, fax: +420 246 044 444, e-mail: clinical.info@quintiles.com

It's all about results.

www.quintiles.com



Arimidex[®]
anastrozol

 **FASLODEX[®]**
fulvestrant

Zoladex[®]
goserelin

SafeSystem[®]



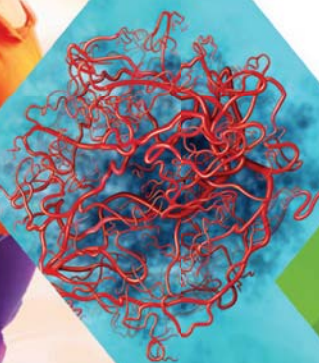
Inovativní postupy v léčbě nádorových onemocnění

Herceptin
trastuzumab
Targeted on HER2, Focused on living

AVASTIN
bevacizumab
Leading angiogenesis
inhibition

Xeloda
capecitabine

Tarceva
erlotinib



Další informace o přípravku získáte na adrese:
Roche, s.r.o., Dukelských hrdinů 52, 170 00 Praha 7, telefon 220 382 111