

ONKOLOGIE

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

IV. DNY DIAGNOSTICKÉ, PREDIKTIVNÍ A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE

I. SYMPOZIUM O CÍLENÉ BIOLOGICKÉ LÉČBĚ

26. – 28. LISTOPADU 2008

OLOMOUC

ABSTRAKTA

ISSN 1803-5922

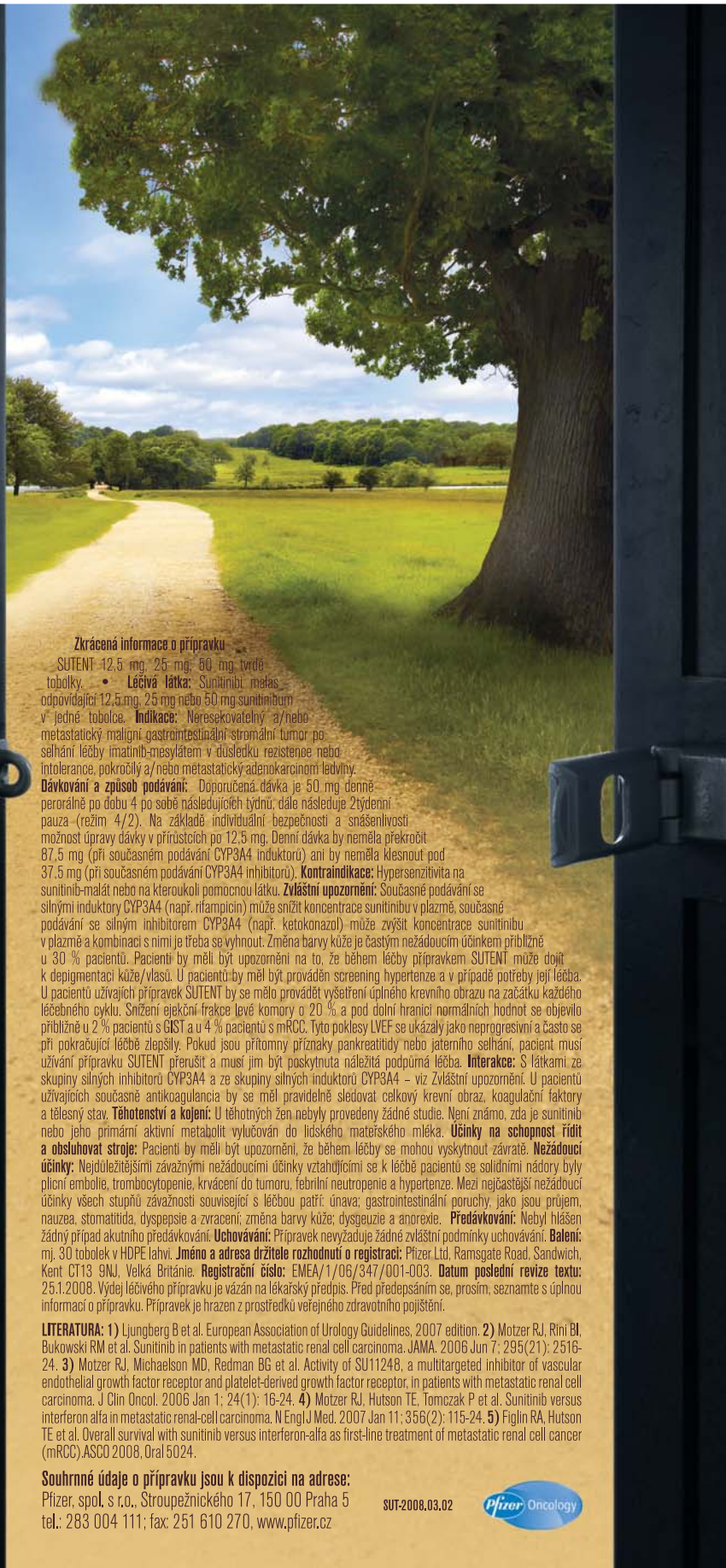
Kontrola onemocnění – otevření nových možností



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

STANDARD v 1. linii^{1,5}

ve světě



Zkrácená informace o přípravku

SUTENT 12,5 mg, 25 mg, 50 mg tvrdé tobolky. • **Léčiva látka:** Sunitinib malate odpovídající 12,5 mg, 25 mg nebo 50 mg sunitinibu 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, dále následuje 2týdenní pauza (režim 4/2). Na základě individuální bezpečnosti a snášenlivosti možnost úpravy dávky v přírůstcích po 12,5 mg. Denní dávka by neměla překročit 87,5 mg (při současném podávání CYP3A4 induktorů) ani by neměla klesnout pod 37,5 mg (při současném podávání CYP3A4 inhibitorů). **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na sunitinib-malát nebo na kteroukoliv pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Současné podávání se silnými induktory CYP3A4 (např. rifampicin) může snížit koncentrace sunitinibu v plazmě, současné podávání se silným inhibitorem CYP3A4 (např. ketokonazol) 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 depigmentaci kůže/vlasů. U pacientů by měl být prováděn screening hypertenze a v případě potřeby její léčba. U pacientů užívajících přípravek SUTENT 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 přibližně 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. Pokud jsou přítomny příznaky pankreatitidy nebo jaterního selhání, pacient musí užívání přípravku SUTENT přerušit a musí jim být poskytnuta náležitá podpůrná léčba. **Interakce:** S látkami ze skupiny silných inhibitorů CYP3A4 a ze skupiny silných induktorů CYP3A4 – viz Zvláštní upozornění. U pacientů užívajících současně antikoagulantia 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 sunitinib 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:** Nejzávažnějšími 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 a zvracení; změna barvy kůže; dysgeuzie a anorexie. **Předávkování:** Nebyl hlášen žádný případ akutního předávkování. **Uchovávání:** Přípravek nevyžaduje žádné zvláštní podmínky uchovávání. **Balení:** m, 30 tobolek v HDPE lahvi. **Jméno a adresa držitele rozhodnutí o registraci:** Pfizer Ltd, Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ, Velká Británie. **Registrační číslo:** EMEA/1/06/347/001-003. **Datum poslední revize textu:** 25.1.2008. Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Před předepsáním se, prosím, seznáme 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.

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-2008.03.02



STŘEDA, 26. listopadu 2008

- 14:00–14.10 Zahájení konference
- 14.10–15.50 **1. NOVÉ PREDIKTIVNÍ FAKTORY V KLINICKÉ ONKOLOGII**
Předsedající: Divoký V., Svoboda M.
- Hajdúch M., Drábek J., Berkovcová J., Dziechciarková M., Srovnal J.: **Mutace genu KRAS – klinické konsekvence u nádorových onemocnění**
 - Svoboda M., Grell P., Šimíčková M., Fabian P., Petráková K., Palácová M., Macková D., Trojanec R., Hajdúch M., Pavlík T., Nenutil R., Vyzula R.: **Výsledky retrospektivní analýzy cílené léčby metastatického karcinomu prsu trastuzumabem v MOU. Identifikace prediktivních faktorů**
 - Divoký V.: **Sensitivity and resistance of leukemia cells to imatinib and dasatinib in cml patients**
- 15.50–16.10 Přestávka
- 16.10–17.10 **2. MOLEKULÁRNÍ PODSTATA ÚČINKU PROTINÁDOROVÝCH LÉČIV I.**
Předsedající: Eckschlager T., Džubák P.
- Eckschlager T., Hraběta J., Figová K., Poljaková J., Hřebáčková J., Cipro Š.: **Efekt hypoxie na chemorezistenci neuroblastomových buněk**
 - Džubák P., Kratochvílová R., Janošťáková A., Lipert J., Kolareddy M., Hajdúch M.: **Příprava vhodného modelového systému pro studium účinku protinádorových léčiv na buněčných liniích**
 - Kolareddy M., Hajdúch M., Džubák P.: **Differential pRb cleavage upon exposure to different class of apoptosis inducing cytotoxic agents**
- 17.10–17.30 Přestávka
- 17.30–18.30 **3. MOLEKULÁRNÍ PODSTATA ÚČINKU PROTINÁDOROVÝCH LÉČIV II.**
Předsedající: Hajdúch M., Vítek P.
- Kameníčková A., Džubák P., Kratochvílová R., Šárek J., Hajdúch M.: **Deriváty triterpenů odvozené od betulinové kyseliny indukující změny v buněčném cyklu**
 - Procházková P., Poljaková J., Libra A., Poučková P., Bunčeka M., Hraběta J., Stiborová M., Eckschlager T.: **Genetické a expresní změny spojené s chemorezistencí k ellipticinu u buněčné linie neuroblastomu**
 - Cipro Š., Hraběta J., Poljaková J., Hřebáčková J., Figová K., Stiborová M., Eckschlager T.: **Valproát má antiangiogenní účinek a potencuje cisplatinu a ellipticin v neuroblastomových buněčných liniích**
 - Vítek P., Holečková P., Pála M., Kubeš J.: **Cílená biologická terapie a ionizující záření – víme jakou lze očekávat toxicitu?**

Večer – volný program

ČTVRTEK, 27. listopadu 2008

- 9.00–10.00 **4. PROGNOTICKÉ A PREDIKTIVNÍ FAKTORY I.**
Předsedající: Svoboda M., Trojanec R.
- Drábek J., Wiecek S., Borkovcová J., Holinková V., Staňková M., Hermann J., Hajdúch M.: **Srovnání detekce nejčastějších mutací v KRAS genu metodou TheraScreen se sekvenováním**
 - Němeček R., Kocáková I., Kocák I., Svoboda M., Lakomý R., Poprach A., Hrstka R., Slabý O., Nenutil R., Vyzula R.: **Retrospektivní analýza KRAS a dalších prediktivních parametrů v souboru pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem (mCRC) léčených kombinací cetuximab + irinotekan**
 - Škarda J., Srovnal J., Radová L., Kolář Z., Klein J., Kolek V., Amariglio N., Rechavi G.: **Sledování frekvence RNA editingu v kódovacích sekvencích transkriptů P53, BRCA1, CYFIP2, FLNA a BLCAP u různých typů plicních nádorů**
 - Trojanec R., Hajdúch M., Kolář Z., Palková V., Braunerová B., Bouchalová K., Ehrmann J., Tichý M., Krejčí V., Mlčochová S.: **Zkušenosti se stanovením statusu genu Her-2/neu (c-erbB-2) u obtížně vyšetřovatelných vzorků**
- 10.00–10.30 Přestávka

10.30 – 12.00 **5. PROGNOTICKÉ A PREDIKTIVNÍ FAKTORY II.**

Předsedající: Drábek J., Slabý O.

1. Kalita O., Vaverka M., Hrabálek L., Zlevorová M., Trojanec R., Hajdúch M., Drábek J., Hlobílková A., Houdek M.: **Možnosti řešení recidiv Glioblastoma Multiforme**
2. Slabý O., Hrstka R., Nováková J., Cibulková K., Lžičarová E., Lakomý R., Křen L., Fadrus P., Smrčka M., Michálek J.: **Prediktivní význam vybraných mikroRNA a metylačního stavu promotoru MGMT u pacientů s multifonním glioblastomem**
3. Hlobílková A., Ehrmann J., Knížetova P., Krepopová K., Krejčí V., Kalita O., Kolář Z.: **Analýza exprese VEGF, Flt-1, Flk-1, nestinu a MMP-9 v souvislosti s patogenezí a progresí astrocytárních nádorů**
4. Slabý O., Šachlová M., Bednaříková M., Fabian P., Vytopilová S., Nenutil R., Vyzula R.: **Souvislost rozložení genové exprese jednotlivých typů somatostatinových receptorů SSTR1-SSTR5 a odpovědi pacientů s neuroendokrinními tumory na léčbu somatostatinovými analogy**
5. Jargin S.: **Overestimation of radiation-induced malignancy after Chernobyl akcident**

12.00 – 13.00 Přestávka na oběd

13.00 – 14.30 **6. PROGNOTICKÉ A PREDIKTIVNÍ FAKTORY III.**

Předsedající: Srovnal J., Garajová I.

1. Flodr P., Kubová Z., Papajik T., Tichý M., Krejčí V.: **Potential prognostic and predictive factors in diffuse large B-cell lymphoma – the role of NFKappaB**
2. Kološtová K., Pintérová D., Bobek V., Janatová I., Prokopová V., Kubecová M., Šindelka R., Čtrnáctá V., Kubista M., Barkmanová J., Tesařová P.: **Sledování exprese genů v cirkulujících nádorových buňkách (CTC) u pacientek s rakovinou prsu jako součást procesu individualizace léčby a časné detekce metastatického procesu**
3. Srovnal J., Kesselová M., Kořínková G., Vysloužil K., Skalický P., Starý L., Klementa I., Duda M., Strážnická J., Šrámek V., Čwierka K., Bílková R., Růžková V., Radová L., Hajdúch M.: **Prognostický význam minimální reziduální choroby u pacientů operovaných pro kolorektální karcinom – výsledky tříletého sledování**
4. Garajová I., Svoboda M., Slabý O., Fabian P., Silák J., Šmerdová T., Knoflíčková D., Kocák I., Kocáková I., Růžičková J., Hoch J., Vyzula R.: **Identifikácia klinických a molekulárných prediktívnych faktorov k stanoveniu odpovedi k neoadjuvantnej konkomitantnej chemorádioterapii u pacientov s karcinómom rekta: pilotné výsledky**
5. Krčová Z., Ehrmann J., Woodman C. B., Murray P. G., Melichar B., Kolář Z.: **Analýza imunohistochemické exprese EZH2, H3K27 a UTX ve spinocelulárním karcinomu děložního čípku a nenádorovém epitelu**

14.30 – 14.45 Přestávka

14.45 – 16.30 **7. NÁDOROVÁ GENOMIKA A PROTEOMIKA***

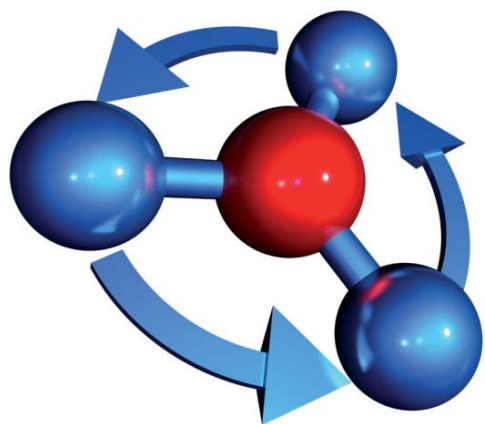
Předsedající: Svatoš A., Kovářová H.

1. Svatoš A.: **Pokroky v proteomických technologiích**
2. Skalníková H.: **Proteomické přístupy ke studiu nádorových onemocnění**
3. Martinková J., Skalníková H., Halada P., Novák P., Džubák P., Hajdúch M., Dziechciarková M., Gadher S. J., Kovářová H.: **Proteomická studie mechanismů chemorezistence T-lymfoblastické leukemie k inhibitorům cyklin-dependentních kináz**
4. Rylová G., Džubák P.: **Afinitní purifikace cílů protinádorových léčiv a jejich identifikace technologií LC-MS/MS**
5. Merta A.: **Možnosti využití aqMan Gene Signature Arrays a TaqMan Open Arrays v onkologickém výzkumu a diagnostice**

**Tato sekce je organizována a garantována projektem Centra nádorové proteomiky LC07017.*

16.30 – 16.45 Ukončení první části konference a předání cen za vítěznou přednášku a poster

19.00 – 24.00 Společenský večer



34th FEBS C o n g r e s s

July 4 - 9, 2009

Prague, Czech Republic



Life's Molecular Interactions

- Molecular Interactions
- Social Life of the Cell
- Organism, the Network of Interactions



Federation of European
Biochemical Societies



Czech Society for Biochemistry
and Molecular Biology

Latest information available on www.febs2009.org

PÁTEK, 28. listopadu 2008

- 8.00–9.30 **1. KARCINOM PRSU**
Předsedající: Cwierka K.
- Kohoutek M.: **Trastuzumab v adjuvantní léčbě karcinomu prsu se zvýšenou expresí HER2/neu – přínos a rizika**
 - Melichar B.: **Současné postavení cílené biologické léčby v neoadjuvantní terapii**
 - Študentová H.: **Optimalizace léčebného postupu u HER2/neu pozitivního metastazujícího karcinomu prsu**
 - Palácová M.: **Antiangiogenní léčba jako součást první linie u metastazujícího karcinomu prsu**
 - Cwierka K.: **Lapatinib – účinná léčba po selhání trastuzumabu**
- 9.30–9.50 **Symposium Bayer Schering**
- 3. V cílové rovince patogeneze solidních a nesolidních nádorů?**
- Papajík T.: **90Y-ibritumomab tiuxetan – možnosti radioimunoterapie v cílené léčbě nádorů**
 - Holečková P.: **Sorafenib: pokroky v cílené léčbě karcinomu ledvin**
- 9.50–10.00 **Přestávka**
- 10.00–10.30 **4. Symposium MERCK**
- Hajdúch M., Melichar B.: **Erbix – individualizovaná léčba metastazujícího kolorektálního karcinomu**
- 10.30–11.30 **5. KARCINOM LEDVIN**
Předsedající: Melichar B.
- Študent V.: **Chirurgická léčba karcinomu ledviny**
 - Melichar B.: **Algoritmus systémové léčby metastatického karcinomu ledviny**
- 11.30–11.50 **6. Symposium Pfizer**
- Kohoutek M.: **Sutent standard v 1. linii léčby metastatického renálního karcinomu a jeho další možnosti**
- 11.50–12.50 **Oběd**
- 12.50–13.50 **7. KARCINOM HLAVY A KRKU**
Předsedající: Pála M.
- Pála M.: **Cílená biologická léčba u nádorů ORL oblasti – úspěchy a neúspěchy**
 - Holečková P.: **Vlastní zkušenosti s cílenou biologickou léčbou u pacientů s nádory ORL oblasti**
- 13.50–14.00 **Přestávka**
- 14.00–14.10 **8. Symposium Wyeth Whitehall**
- Vávra T.: **mTOR inhibitor, temsirolimus**
- 14.10–15.40 **9. LYMFOMY**
Přednášející: Papajík T.
- Papajík T.: **Možnosti diagnostiky a léčby ne-Hodgkinových lymfomů**
 - Raida L.: **Hodgkinův lymfom jako model vyléčitelného nádorového onemocnění**
 - Mysliveček M.: **Současné postavení a možnosti pozitronové emisní tomografie v diagnostice a hodnocení léčebné odpovědi u nádorových chorob**
- 15.40 **Losování ankety společnosti SOLEN**

ZÁVĚR KONFERENCE

1. Bouchal J., Neuwirt H., Santer F. R., Culig Z.: **Koaktivátory p300 a CBP potencují signalizaci estrogenového receptoru beta v buňkách PC3 odvozených od karcinomu prostaty**
2. Brančíková D., Adámková-Krákorová D., Bednařík O., Mechl Z.: **Sledování léčebné odpovědi při terapii kostních metastáz**
3. Dzian A., Matáková T., Halašová E., Kulíšková I., Piovarčí D., Hamžík J., Mištuna D.: **Sledovanie génových polymorfizmov biotransformačných enzýmov vo vzťahu k vzniku karcinómu pľúc**
4. Kapustová M., Schneiderka P., Študent V.: **Screening PSA – studie a vyhodnocení**
5. Mašek V., Anzenbacherová E., Machová M., Brabec V., Anzenbacher P.: **Antitumor platinum complexes based on transplatin inhibit human liver microsomal cytochromes P450**
6. Matáková T., Sivoňová M., Halasová E., Mistuna D., Dzian A., Dobrota D.: **Genetic Polymorphisms Glutathione S-transferases in Colorectal Cancer**
7. Pešta M., Klečka J., Holubec L., Topolčan O., Eret V., Chottová-Dvořáková M., Babouk M., Novák K., Stolz J., Hora M.: **Expres genu DD3^{PCAS} (DIFFERENTIAL DISPLAY CODE 3) v diagnóze karcinomu prostaty**
8. Sivoňová M., Dobrota D., Kliment J., Pidaničová A., Valanský L., Lachvač L., Nagy V., Petráčková D., Petrovičová J., Žemberová E., Tajtáková M.: **Inzulínu podobný rastový faktor 1 (IGF1) a karcinóm prostaty**
9. Sivoňová M., Waczulíková I., Matáková T., Dobrota D., Kliment J. ml., Kliment J.: **Génové polymorfizmy enzýmov II fázy biotransformácie a prevalencia karcinómu prostaty**
10. Steigerová J., Okleštková J., Levková M., Kolář Z., Strnad M.: **Vliv přírodních brassinosteroidů na blokaci buněčného cyklu v G₁-fázi a indukci apoptózy u lidských nádorových buněčných linií odvozených od karcinomu prsu a prostaty**
11. Uvírová M., Dvořáčková J., Buzrla P.: **Využití metody FISH při diagnostice maligního melanomu**

Pořadatelé si vyhrazují právo na změny v uvedeném programu, které budou průběžně zveřejňovány na www.solen.cz.

REGIONÁLNÍ CENTRUM OLOMOUC 26. – 28. 11. 2008

PREZIDENT

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

PROGRAMOVÝ VÝBOR

doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D.
MUDr. Karel Cwiertka, CSc.
MUDr. Miloslav Pála
MUDr. Tomáš Papajík, CSc.
doc. Mgr. Jiří Drábek, Ph.D.
MUDr. Petr Džubák, Ph.D.
prof. MUDr. Jiří Ehrmann, Ph.D.
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D.
prof. MUDr. Zdeněk Kolář, CSc.
RNDr. Radek Trojanec, Ph.D.

POŘADATEL

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

ÚČAST JE V RÁMCI CELOŽIVOTNÍHO POSTGRADUÁLNÍHO VZDĚLÁVÁNÍ DLE STAVOVSKÉHO PŘEDPISU Č.16 ČLK OHODNOCENA KREDITY PRO LÉKAŘE A SESTRY A DLE VYHLÁŠKY Č. 321/2008 SB. PRO VYSOKOŠKOLSKY VZDĚLANÉ ODBORNÍKY NELÉKAŘSKÝCH PROFESÍ VE ZDRAVOTNICTVÍ.
ISSN 1803-5922

ORGANIZÁTOR: SOLEN, s.r.o., Lazecská 297/51, 779 00 Olomouc,

kontaktní osoba: Ing. Karla Břečková, tel.: 582 397 457,
mob.: 777 714 677, e-mail: breckova@solen.cz,

grafické zpracování: Jan Sedláček, tel.: 724 984 451

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 již čtvrtém ročníku Dnů diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie v Olomouci.

Naši tradiční konferenci jsme se v letošním roce rozhodli oživit více klinickou problematikou a do třetího dne jsme vložili první ročník Symposia o cílené biologické léčbě nádorů. Věříme, že tato kombinace více rozšíří spektrum příznivců prediktivní, diagnostické a experimentální onkologie o klinické pracovníky. Považujeme to za kriticky důležité, jelikož prediktivní faktory stále více pronikají do rutinní klinické praxe. Příkladem toho je i letos zavedený požadavek na vyšetření mutací genu KRAS u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem indikovaných k podání EGFR1 inhibitorů. Rok 2008 je pro prediktivní medicínu průlomový. Z iniciativy naší sekce ve spolupráci se Společností patologů a plátců péče jsme pojmenovali síť Laboratoří prediktivní medicíny, ve kterých se bude tato diagnostika koncentrovat, a zajistili způsob úhrady prediktivních vyšetření nádorů. Věříme, že tato opatření povedou ke zkvalitnění diagnostiky a jejímu zpřístupnění.

Pokusili jsme se pro Vás připravit atraktivní program s dostatkem času pro diskuzi, který na řadě podobných akcí postrádám. 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.

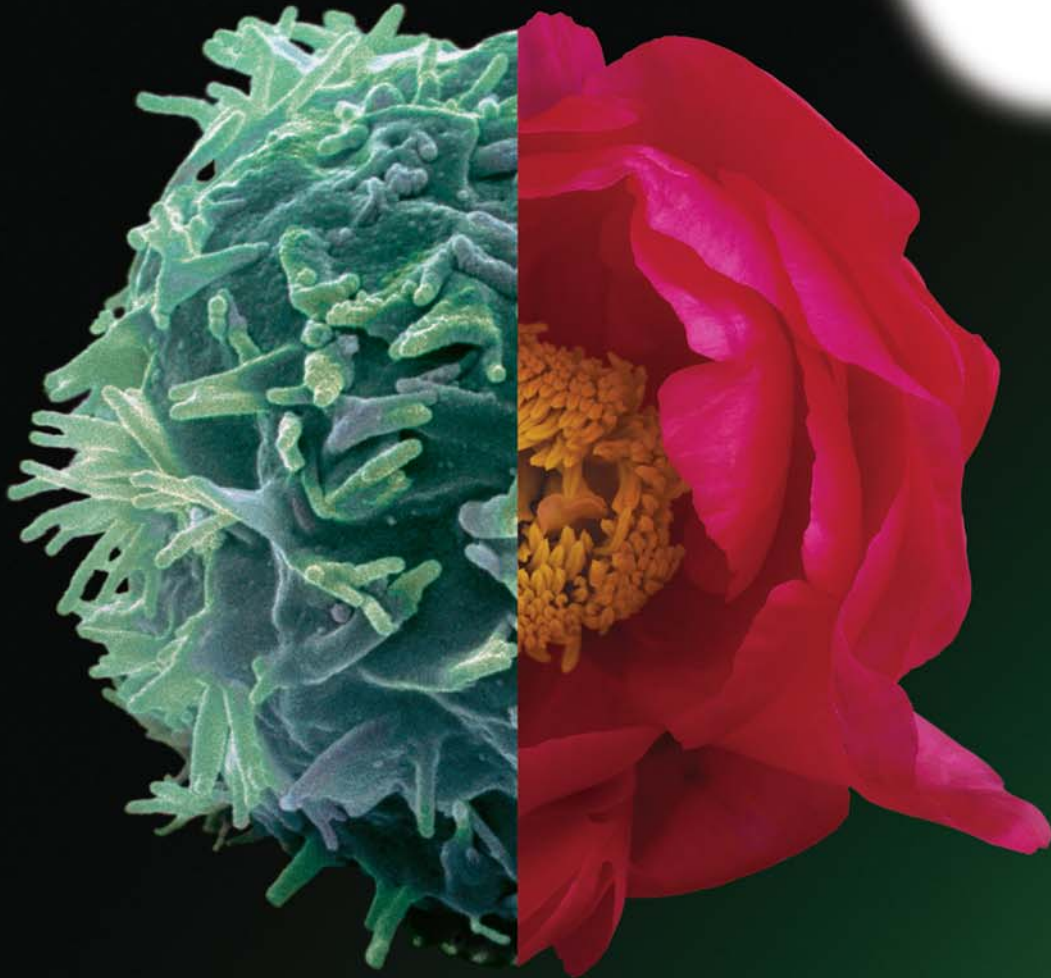
Na konferenci budou opět vyhlášeny *Ceny za nejlepší prezentovanou přednášku a poster*, které jsou tradičně spojeny s finanční odměnou. Tuto cenu vyhlašuje naše Nadace „Rakovina věc veřejná“, o jejíž rozsáhlých aktivitách v našem regionu i mimo něj se můžete dočíst na www.vecverejna.cz.

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



Inhibice receptorů uvnitř buňky přináší naději na život

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



ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU

NÁZEV A LÉKOVÁ FORMA: TYVERB 250 mg, potahované tablety. **SLOŽENÍ:** Lapatinibum ditosylatum monohydrát 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. Pacienty 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 průjem, včetně průjmu těžkého. Důležitá je preventivní léčba průjmu 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 průjmem. 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 erytrodysestézie (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, bolest 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 tabletech. 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:** 10. 6. 2008. **DOSTUPNOST LÉKU:** Lék je vázán na lékařský předpis a dosud nemá stanovenou úhradu 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. Zkrácená informace je platná ke dni vydání propagačního materiálu: 1. 8. 2008.

IV. DNY DIAGNOSTICKÉ, PREDIKTIVNÍ A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE

1. Nové prediktivní faktory v klinické onkologii

Mutace genu KRAS – klinické konsekvence u nádorových onemocnění

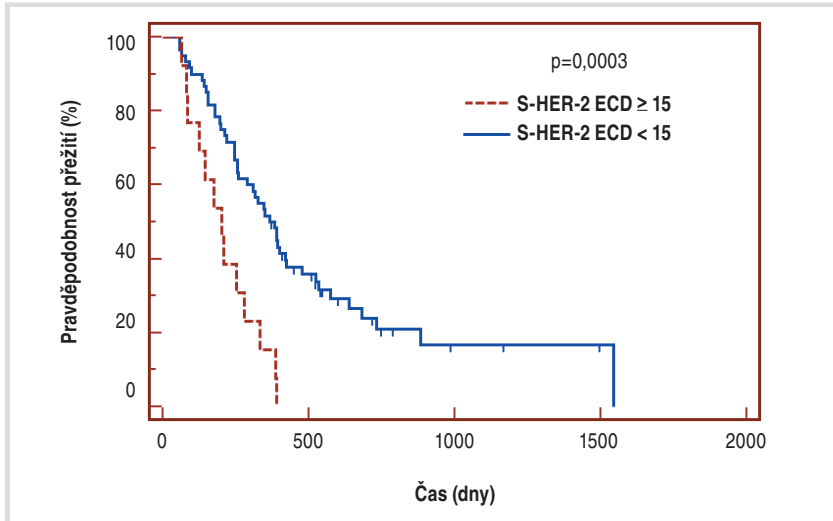
Hajdúch M., Drábek J.,
Berkovcová J., Dziechciarková M.,
Srovnal J. Staňková M.

¹ Laboratoř experimentální medicíny
při Dětské klinice, Lékařská fakulta
Univerzity Palackého, Olomouc

² Institute of Applied
Biotechnologies a.s., Praha

Gen KRAS (Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma virus oncogene homolog) je onkogen, který kóduje malý protein s GTP-ázovou aktivitou, jenž se podílí na intracelulární signalizaci, pojmenovaný KRAS. Tento protein se účastní regulace buněčného dělení tím, že přenáší zevní impulzy z receptorů cytoplazmatické membrány do jádra. Od roku 1982, kdy byl gen KRAS objeven, byla publikována řada prací zabývajících se na molekulární úrovni konsekvencemi jeho mutace v nádorových buňkách. Bylo prokázáno, že aktivační mutace genu KRAS znemožňují hydrolyzu GTP na GDP a přechod aktivní formy KRAS proteinu na neaktivní. Mutovaný protein proto není schopen hydrolyzy GTP a zůstává konstitutivně aktivní bez ohledu na aktivační nebo deaktivující signály přicházející z membránových receptorů hierarchicky postavených nad genem KRAS. Typickým příkladem receptoru fyziologicky aktivujícího gen KRAS je receptor pro epidermální růstový faktor EGFR1, jehož terapeutická inhibice se v poslední době využívá u celé řady epitelálních nádorových onemocnění. Tyto nádory vykazují abnormální aktivaci EGFR1 genu. Klinicky nejčastěji používané inhibitory jsou monoklonální protilátky (cetuximab a panitumumab) nebo nízkomolekulární inhibitory tyrozinkinázové domény EGFR1 (erlotinib, gefitinib a lapatinib). V souladu s molekulárními poznatky se ukazuje, že pacienti s nádory nesoucími mutace genu KRAS mají jednak horší prognózu a také minimální odpověď na EGFR1 inhibitory. Z těchto důvodů se stalo vyšetření mutací genu KRAS součástí diagnosticko-léčebného algoritmu, prozatím u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem léčených cetuximabem nebo panitumumabem. V svém sdělení budeme demonstrovat různé metodické přístupy

Obrázek 1. Kaplan-Meierovy křivky přežití – doba do progresu onemocnění (TTP) v závislosti na stavu S-HER-2 ECD v době mezi 90. a 130. dnem léčby trastuzumabem. Hodnoty S-HER-2 ECD jsou uvedeny v $\mu\text{g/l}$



k vyšetření mutací genu KRAS a srovnávat jejich sensitivitu, specifitu a klinickou relevanci.

Práce na tomto projektu je podpořena z grantů MSMT 6198959216, MPO 1H-PK/45 a LC07017.

Výsledky retrospektivní analýzy cílené léčby metastatického karcinomu prsu trastuzumabem v MOÚ. Identifikace prediktivních faktorů

Svoboda M.^{1,6}, Grell P.¹, Šimíčková M.³, Fabian P.², Petráková K.¹, Palácová M.¹, Macková D.¹, Trojanec R.⁴, Hajdúch M.⁴, Pavlík T.⁵, Nenutil R.², Vyzula R.^{1,6}

¹ Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno,

² Oddělení patologie, Masarykův onkologický ústav, Brno,

³ Oddělení laboratorní medicíny, Masarykův onkologický ústav, Brno,

⁴ Laboratoř experimentální medicíny, Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc,

⁵ Institut biostatistických analýz, Masarykova univerzita, Brno,

⁶ Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno

Východiska: Léčba trastuzumabem, monoklonální protilátkou proti HER-2 re-

ceptoru, významně zvyšuje léčebnou odpověď (RR), prodlužuje čas do progresu onemocnění (TTP) i celkové přežití (OS) pacientek s HER-2 pozitivním metastatickým karcinomem prsu. Na straně druhé je tato léčba doprovázená primární i sekundární rezistencí onemocnění. Provedli jsme retrospektivní analýzu vlastního souboru pacientek s cílem identifikovat prognostické faktory použitelné v běžné klinické praxi.

Metodika: Do souboru bylo zařazeno 112 pacientek, které do ledna 2007 zahájily v Masarykově onkologickém ústavu paliativní protinádorovou terapii s trastuzumabem pro metastatický karcinom prsu. Sledovali jsme základní charakteristiky primárních tumorů (histologický typ, exprese estrogenového, progesteronového a HER-2 receptoru, amplifikace Her-2/neu genu), stav pacientek, rozsah onemocnění, vývoj koncentrace sérových nádorových markerů (CEA, CA 15-3, S-HER-2 ECD) a parametry účinnosti léčby a přežití (RR, TTP, OS).

Výsledky: U 95 % pacientek byl trastuzumab podáván v kombinaci s cytostatiky (nejčastěji taxany – 83 %), 1. a 2. linie léčby představovaly 88,4 % aplikací. Medián TTP byl 284 dnů (9,3 měsíce), medián OS byl 612 dnů (20,1 měsíce), RR 54,5%. Nejvíce odpovědí na léčbu bylo

NUTRILAC®

Nová dietní potravina pro zvláštní lékařské účely vhodná při podvýživě související s nemocí.

Co je NutrilaC?

Jedná se o nutričně kompletní potravinu s navýšenou energetickou hodnotou. Používá se především jako náhrada části stravy nebo jako jediný zdroj výživy v případě, kdy pokrytí výživových potřeb pacienta nelze dosáhnout běžnou stravou.

Indikace:

Poruchy mechaniky či funkce dutiny ústní, dysfagie, cévní mozkové příhody, předoperační a pooperační stavy, stenózy jícnu, anorexie, nutriční podpora ve stáří.

NutrilaC je vyráběn ve třech variantách – NutrilaC Natural bez příchuti, NutrilaC Natural Plus bez příchuti s vysokou energetickou hodnotou a NutrilaC Vanilka s vanilkovou příchutí.

Jaké má výhody NutrilaC?

- ✘ výroba na čistě mléčném základu se sníženým obsahem laktózy
- ✘ distribuce ve 200ml nebo ekonomickém 500ml balení ve skle
- ✘ nižší ceny v porovnání se zahraniční konkurencí



NUTRILAC®

NutrilaC je k dostání v lékárně.

v první linii léčby ($p < 0,0001$) a u nádorů s poměrem signálů sond HER-2/Ch17 $\geq 2,2$ ($p = 0,0092$). Trastuzumab byl předčasně ukončen u 11 pacientek (9,8% případů), u 7 (6,2%) z důvodů kardiotoxicity. Metastatické postižení CNS nastalo u 31 pacientek (27,7%). Sérový nádorový marker S-HER-2 ECD byl nejčastějším pozitivním markerem v době před zahájením léčby (72,5%) i při progresi onemocnění (55,9%). Coxova regresní analýza prokázala nejsilnější prognostický význam ve vztahu k TTP u markeru S-HER-2 ECD, a to jak k jeho hladině před zahájením léčby, tak i v době mezi 90. a 130. dnem léčby trastuzumabem. Nejlepším prediktorem OS byl stav CEA před zahájením léčby a stav S-HER-2 ECD v době mezi 90. a 130. dnem léčby.

Závěr: Potvrdili jsme, že nejlepší odpověď na léčbu je dosažena při použití trastuzumabu již v první linii paliativní protinádorové terapie. Dosud jediným prediktivním markerem, který je zároveň absolutním indikačním kritériem, je průkaz HER-2 positivity tumoru, nejlépe metodou FISH. Stanovení sérové koncentrace S-HER-2 ECD před zahájením léčby a monitorace dynamiky tohoto markeru v průběhu léčby trastuzumabem je nejvýznamnějším prognostickým ukazatelem vývoje onemocnění (TTP i OS), a může tak přispět k časnému odhalení progresu a k individualizaci časového plánu kontrolních vyšetření.

Poděkování: Práce byla podpořena grantovým projektem IGA MZČR NR/8335-3.

Sensitivity and resistance of leukemia cells to imatinib and dasatinib in cml patients

Veselovska J.¹, Solna R.¹, Rozmanova S.², Faber E.², Jarosova M.², Holzerova M.², Indrak K.², Divoky V.¹

¹ Department of Biology, Faculty of Medicine, Palacky University, Olomouc, Czech Republic

² Department of Hemato-oncology, University Hospital, Olomouc, Czech Republic

Background. Second generation Abl tyrosine kinase inhibitors (TKIs), such as dasatinib (DAS) or nilotinib, are currently available for the treatment of patients with chronic myeloid leukemia (CML) resistant or intolerant to imatinib (IM) therapy. The efficacy of TKIs can be evaluated *in vitro* by degree of inhibition of phosphorylation of selected signaling molecules downstream Bcr-Abl after incubation of leukocytes with the drug.

Aim. To evaluate functional assay that enables the clinicians to predict therapy responses and the degree of resistance/sensitivity of Bcr-Abl-positive leukemia patients to TKIs.

Methods. Quantitative real time RT-PCR (Q-RT-PCR) was performed to monitor the level of BCR-ABL transcripts. BCR-ABL mutational status was assessed using sequencing of the RT-PCR products. The *in vitro* test of sensitivity to TKIs was based on assessment of inhibition of phosphorylation of Crkl and Src Family of Kinases (SFK) after incubation of patient's leukocytes with the drug *in vitro*. We used western blot with anti-Crkl 32H4 monoclonal antibody (Cell Signaling Technology, Beverly, MA) and Phospho-Src Family (Tyr416)

Antibody (Cell Signaling Technology Inc., Danvers, MA). Leukocytes were incubated one hour with or without 10 μ M IM or 250nM DAS and then processed for immunoblotting.

Results. Over 60 patients were analyzed using the test, some of them repeatedly. The extent of inhibition of phosphorylation of Crkl and SFK in this assay correlated with the clinical status and the numbers of BCR-ABL-positive cells assessed by FISH and/or Q-RT-PCR. The patients' cells with Y253H and T315I mutations showed a complete or partial failure to inhibit Bcr-Abl TK by IM, based on the ratio of mutant and wild-type clones. DAS in T315I patients did not inhibit Bcr-Abl TK, but completely inhibited SFK. Patient with E255K mutation showed resistance to IM but sensitivity to DAS, which correlated with his *in vivo* responses to these drugs. Some IM-resistant patients lacking mutation of BCR-ABL proved sensitivity to higher dosage of IM or to DAS in this assay, which lead to appropriate therapeutic intervention. In one patient, BCR-ABL clone was eradicated on IM therapy; however, a Ph-negative myeloproliferative disorder associated with a high activation of SFK persisted, suggesting activation of an alternative signaling pathway not inhibited by IM and independent of Bcr-Abl. The patient developed resistance to DAS, which corresponded with a failure to inhibit SFK *in vitro* phosphorylation assay.

Conclusions. *In vitro* test of sensitivity of Bcr-Abl-leukemia cells to TKIs allows direct evaluation of the Bcr-Abl protein inhibition and reflects both the (possible) mutational status of Bcr-Abl as well as other mechanisms of resistance intrinsic to the cell. It could serve as a simple test for indication of these inhibitors in a patient-specific manner.

Acknowledgement. Supported by grant MSM 6198959205 and by Bristol-Myers Squibb.

poznámky:

2. Molekulární podstata účinku protinádorových léčiv I.

Efekt hypoxie na chemorezistenci neuroblastomových buněk

Eckschlager T., Hraběta J., Figová K., Poljaková J., Hřebáčková J., Cipro Š.
Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol, Praha

Úvod. Hypoxie je v nádorech velmi častým jevem, který se významně podílí na jejich biologickém chování. Hypoxií indukovaný transkripční faktor (HIF), který je hlavním transkripčním faktorem aktivovaným poklesem pO_2 , je tvořený dvěma podjednotkami ARNT/HIF-1 β a hypoxií indukovanou HIF-1 α s homology HIF-2 α a HIF-3 α . HIF-1 α řídí transkripci řady genů kódujících proteiny ovlivňující angiogenezi, metabolismus glukózy, proliferaci, přežívání buněk a invazivitu a metastazování. Overexprese HIF-1 α je spojená s častým selháním protinádorové léčby vyvolaném snížením cytostatiky navozené apoptózou.

Cíle. 1. určit vliv hypoxie na citlivost neuroblastomových buněk k cisplatině a karboplatině; 2. sledovat změny buněčného cyklu a apoptózu v normoxických a hypoxických podmínkách.

Metody. Použili jsme buněčné linie odvozené od neuroblastomu vysokého stupně rizika UKF-NB-4 a UKF-NB-3 a z nich připravené linie rezistentní k cytostatikům. Na indukci hypoxických podmínek jsme buněčné kultury kultivovali v uzavřeném systému (Hypoxic chamber, Billups-Rothenberg, Inc., USA) s definovanou směsí plynů O_2 (1%), CO_2 (5%), N_2 (94%). Hypoxický fenotyp testovaných buněk jsme ověřovali kontrolou exprese proteinu HIF-1 α pomocí Western blotu s králičí polyklonální protilátkou (Upstate Biochemicals). IC_{50} jednotlivých cytostatik jsme vypočítali z výsledků 96jamkových MTT testů proložením nelineární regresní křivky (software GraphPad Prism4). Kinetiku buněčného cyklu jsme měřili průtokovým cytometrem (FACSCalibur) po obarvení buněk propidium jodidem. Apoptózu jsme měřili cytometricky jako hypodiploidní peak a rovněž jsme hodnotili morfologii buněk po obarvení fluorescenčním barvivem Hoechst 33342.

Výsledky a diskuze. U všech testovaných buněčných linií odvozených od NBL byla cit-

livost k derivátům platiny, doxorubicinu a k elipticinu nižší v hypoxických podmínkách, výjimkou byla pouze kyselina valproová, kde byla IC_{50} v normoxii a v hypoxii prakticky totožná. Hypoxií indukovanou chemorezistenci bylo možné omezit chetominem, který inhibuje vazbu HIF s p300. Tato vazba spouští hypoxií indukovanou transkripci. U všech linií se v hypoxii snížilo zastoupení proliferační frakce a v hypoxii byla nižší i spontánní i cytostatiky indukovaná apoptóza.

Naše studie potvrzuje, že hypoxie vyvolává chemorezistenci nádorových buněk. Protože hypoxie v nádorech je častá, je testování nových látek s protinádorovými účinky nezbytné i v hypoxii.

Práce vznikla za finanční podpory IGA grant NR9522-3, MŠMT grant MSM0021620813 a GAUK grant 72208/2008.

Příprava vhodného modelového systému pro studium účinku protinádorových léčiv na buněčných liniích.

Džubák P., Kratochvílová R., Janošťáková A., Lipert J., Kolareddy M., Hajdúch M.
Laboratoř experimentální medicíny při Dětské klinice LF UP a FN Olomouc

Vzhledem k tomu, že různá léčiva mají rozdílný mechanismus účinku a také i různou rychlost indukce buněčné smrti, bylo by jejich případné srovnání v totožném čase ovlivněno právě pokročilostí apoptózy. Proto jsme se rozhodli monitorovat a nastavit parametry, jejichž změna apoptózu doprovází (jsou vhodným markerem apoptózy) a na jejich základu srovnat jednotlivá léčiva vůči sobě. Pro tento účel byla použita modelová linie CEM a jako marker apoptózy posloužila aktivace kaspáz měřená pomocí substrátu MagicRed (zDEVD)₂ na destičkovém fluorimetru v časové kinetice. Byl hodnocen čas do aktivace kaspáz, který sloužil k výpočtu hodnoty TA50 – poločasu do indukce apoptózy. V rámci stanovení času do aktivace apoptózy TA50 se tento interval podařilo stanovit u 28 testovaných léčiv. Jako výchozí koncentrace byla použita hodnota 5x IC_{50} . Přitom hodnoty TA50 se pohybovaly v rozmezí 60 až 750 minut. Pro zbývajících 5 léčiv se hodnotu TA50 nepoda-

řilo stanovit, a to pravděpodobně z důvodu aktivace buněčné smrti jiným způsobem než námi monitorovanou aktivací kaspáz. Proto pro tato léčiva byla v dalších testech použita hodnota 10x IC_{50} a maximální testovaný čas 750 minut.

Zjištěné hodnoty byly použity jako výchozí časy pro přípravu vzorků pro hodnocení expresních profilů jednotlivých léčiv jak na úrovni RNA, tak na úrovni proteinů.

Práce je podporována granty: MSM 6198959216 a LC07017.

Differential pRb cleavage upon exposure to different class of apoptosis inducing cytotoxic agents

Kollareddy M., Hajdúch M., Džubák P.
Laboratoř experimentální medicíny při Dětské klinice LF UP a FN Olomouc

Retinoblastoma protein (pRb) is a well characterized tumor suppressor protein. pRb in association with other protein binding partners is involved in G1 check point regulation. This check point ensures that cells have attained enough size and harbors sufficient nutrients before they enter into replication phase. pRb governing G1 check point is also activated upon exposure to cytotoxic agents (anticancer compounds) that induce apoptosis. During apoptosis pRb is dephosphorylated resulting in cell cycle arrest and subsequently cleaved sequentially in response to cytotoxic agents. Here we present the differential cleavage pattern of pRb upon exposure to different class of anticancer compounds that induce apoptosis. This cleavage pattern may result due to the action of different effector caspases that recognizes specific consensus sequences of pRb. A particular type of sequential pRb cleavage induced by a specific cytotoxic agent may have advantage of an increased rate of apoptosis and subsequent rapid tumor clearance. Hence this small study may help to select the efficient anticancer compounds that induce specific pRb cleavage, which in turn enhance the rate of apoptosis rapidly compared to other cytotoxic agents that induce different type of pRb cleavage pattern.

Práce je podporována granty: MSM 6198959216 a LC07017.

3. Molekulární podstata účinku protinádorových léčiv II.

Deriváty triterpenů odvozené od betulinové kyseliny indukující změny v buněčném cyklu

Kameníčková A.¹, Džubák P.¹,
Kratochvílová R.¹, Šárek J.², Hajdúch M.¹

¹ Laboratoř experimentální medicíny
při Dětské klinice LF UP a FN
Olomouc

² Katedra organické a jaderné
chemie, PŘF UK Praha

Počet případů onemocnění rakovinou se neustále zvyšuje a výsledky současné terapie stále nejsou uspokojivé. Proto je vyvíjeno úsilí identifikovat nová léčiva vykazující protinádorovou aktivitu a minimum nežádoucích účinků. V rámci Laboratoře experimentální medicíny je dlouholetá tradice testování cytotoxických účinků derivátů kyseliny betulinové, které patří k potenciálním protinádorovým léčivům. Kyselina betulinová, se řadí mezi přírodní triterpenoidní sloučeniny a je prokázána její vysoká cytotoxická účinnost vůči leukemickým nádorovým buňkám. Ovšem vzhledem k jejím nepříliš výhodným farmakologickým vlastnostem se řada chemických skupin snaží o syntézu lépe biologicky dostupných a účinnějších derivátů. Nicméně bez znalosti a pochopení molekulárního cíle je hledání účinného léčiva/derivátu zdoluhavé, neli nemožné. Proto jsme se v rámci naší práce zaměřili na pochopení mechanismu účinku těchto sloučenin. Pro jednodušší identifikaci molekulárního cíle je nutné znát průběh buněčného cyklu po ošetření léčivem a také jeho kontrolní mechanismy, kde velkou roli hrají cyklin dependentní kinázy a další regulační proteiny (p53, pRb). V naší práci jsme otestovali 14 různých derivátů kyseliny betulinové, které byly vytipovány na základě cytotoxického MTT testu. Díky analýze buněčného cyklu průtokovou cytometrií jsme pozorovali změny v procentuálním zastoupení buněk v G1, S a G2/M fázích buněčného cyklu, včetně korespondující fosforylace serinu 10 na histonu H3. V dalších testech byl pozorován také vliv na syntézu DNA a RNA ve smyslu její aktivace/inhibice. Zajímavým zjištěním je skutečnost, že v rámci jedné

skupiny derivátů odvozených od kyseliny betulinové byl pozorován rozdílný vliv na regulaci buněčného cyklu a syntézu nukleových kyselin.

Práce je podporována granty: MSM 6198959216 a LC07017.

Genetické a expresní změny spojené s chemorezistencí k ellipticinu u buněčné linie neuroblastomu

Procházková P.¹, Poljaková J.², Libra A.³,
Poučková P.⁴, Bunčák M.³, Hraběta J.⁵,
Stiborová M.², Eckschlagler T.⁵

¹ 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova
v Praze

² Katedra biochemie UK, PŘF UK, Praha

³ Generi Biotech, s.r.o., Hradec Králové

⁴ Ústav biofyziky a informatiky UK,
1. LF UK, Praha

⁵ Klinika dětské hematologie
a onkologie UK, 2. LF a FN Motol, Praha

Úvod: Neuroblastom vysokého rizika (HR NBL) zůstává jedním z nejhůře léčitelných dětských nádorových onemocnění. HR NBL je charakteristický agresivním růstem a velmi nepříznivou prognózou bez ohledu na klinické stadium. S tím souvisí snaha o ovlivnění HR NBL novými léky. Jednou z hlavních příčin selhání chemoterapie je vznik rezistence na použítá cytostatika. Zaměřili jsme se na studium buněk HR NBL rezistentního na ne zcela běžně používané cytostatikum: ellipticin. Od 70. let byly polárnější deriváty ellipticinu využívány k léčbě karcinomu prsu s kostními metastázemi, akutní myeloblastické leukemie a karcinomu štítné žlázy. V současné době je zkoumáno i použití ellipticinu při léčbě AIDS. Za hlavní cytotoxický a protinádorový účinek ellipticinu a jeho derivátů je považována interkalace do DNA a inhibice topoizomerázy II alfa (TOPO2A). Ellipticin také selektivně inhibuje fosforylaci proteinu p53 v několika lidských nádorových buněčných liniích. Ellipticin rovněž odpráhuje oxidativní fosforylaci v mitochondriích, a tím narušuje energetickou rovnováhu buněk. Bylo také popsáno, že ellipticin zabraňuje proliferaci buněk regulací exprese cyklinu B1 a Cdc2

a fosforylaci Cdc2. Velmi důležitým aspektem pozorovaným při léčbě byla individuální variabilita v odpovědi pacientů na podané léčivo. Vysvětlením může být rozdílná enzymová výbava enzymy důležitými pro biotransformaci ellipticinu (cytochromy P450, cyklooxygenáza, myeloperoxidáza). Tyto enzymy aktivují léčivo na terapeuticky účinnější derivát, který nádorové buňky poškozují efektivněji.

Výsledky: Lidská neuroblastomová linie UKF-NB-4 rezistentní na ellipticin (UKF-NB-4ELLI) byla získána dlouhodobým kultivováním buněk linie UKF-NB-4 (linie získaná z relapsu vysoce rizikového neuroblastomu do kostní dřene). Komparativní genomovou hybridizací (CGH) jsme vyšetřili HR NBL buněčnou linii UKF-NB-4ELLI. Možné změny chromozomových oblastí jsme ověřovali metodou FISH, která nám umožňuje, při použití specifické sondy, zjistit přesný počet konkrétních genů a chromozomů. Expresí genů jsme vyšetřili metodou RNA-microarray a ověřili metodou RT PCR. Byly nalezeny změny v expresi řady genů s možným významem za vznik chemorezistence. Za nejvýznamnější považujeme snížení exprese TOPO2A podpořené ztrátou zmožení genu TOP2A u rezistentní linie. Dalším mechanismem lékové rezistence je zvýšená exprese antiapoptotického genu Bcl-2. Rezistentní linie má oblast 18q21.3, s lokalizací genu Bcl-2, zmoženou a expresí oproti senzitivní linii zvýšenou. Apoptózu je možné zablokovat i delecí genu BAX. UKF-NB-4ELLI má oblast 19q s lokalizací genu BAX deletovanou. V chemorezistentní linii vymizelo zmožení v oblasti 7q11.2-31.3, kde je lokalizován gen pro cytochrom P450 3A4. UKF-NB-4ELLI má oproti senzitivní linii sníženou tumorigenicitu a in vivo v nunu myších roste pomaleji.

Diskuze a závěry: Z našich výsledků vyplývá, že rezistence na použité cytostatikum je jev složitý, spojený s mnohočetnými změnami chromozomů a podmíněný řadou mechanismů, které mohou, ale také nemusí korelovat se změnami na chromozomech. Oblasti chromozomů, kde jsou lokalizovány geny MDR1 (7q21), MRP1 (16p13), LRP1 (12q13-14) bývá u chemorezistentních nádorů zmožená nebo ampli-



ALIMTA - partner v 1. a 2. linii léčby NSCLC s převážně non-squamosní histologií



Správná **volba**
Správný **pacient**
Správný **čas**

Zkrácená informace o přípravku ALIMTA*:

ALIMTA (pemetrexed) je protinádorové léčivo ze skupiny antifolátů. **Složení:** pemetrexedum dinatricum, prášek pro přípravu koncentráту pro přípravu infuzního roztoku. **Indikace*:** V kombinaci s cisplatinou k léčbě pacientů s neresekovatelným maligním mezoteliomem pleury bez předchozí chemoterapie. V kombinaci s cisplatinou indikován v první linii k léčbě pacientů s lokálně pokročilým nebo metastazujícím nemalobuněčným karcinomem plic jiného histologického typu, než predominantně z dlaždicových buněk. Přípravek ALIMTA je indikován ve druhé linii jako monoterapie k léčbě pacientů s lokálně pokročilým nebo metastazujícím nemalobuněčným karcinomem plic jiného histologického typu, než predominantně z dlaždicových buněk. **Dávkování a způsob podání:** V kombinaci s cisplatinou je doporučená dávka přípravku 500 mg/m² tělesného povrchu podávaná jako intravenózní infuze po dobu 10 minut první den každého 21denního cyklu. Doporučená dávka cisplatinu je 75 mg/m², podaná infuzí během dvou hodin přibližně 30 minut po ukončení infuze pemetrexedu v první den každého 21denního cyklu. V monoterapii je doporučená dávka přípravku 500 mg/m² podávaná jako intravenózní infuze po dobu 10 minut v první den každého 21denního cyklu. Ke snížení výskytu a závažnosti kožních reakcí se podá kortikosteroid den před podáním pemetrexedu, v den jeho podání a v den po jeho podání. Kortikoid by měl být ekvivalentní 4 mg dexametasonu podávanému perorálně 2× denně. Pacienti užívající pemetrexed musejí mít před každou dávkou monitorovaný celý krevní obraz, včetně diferenciálu a počtu destiček. Před každým podáním chemoterapie musí být provedeno biochemické vyšetření za účelem vyhodnocení funkce ledvin a jater. U pacientů s pacientů s clearancí kreatininu pod 45 ml/min se podáním pemetrexedu nedoporučuje. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na pemetrexed nebo na kteroukoli pomocnou látku. Současné podávání vakcíny proti žluté zimnici. **Těhotenství a laktace:** Pemetrexed se nesmí používat v těhotenství, při léčbě musí být přerušeno kojení. **Zvláštní upozornění:** Pemetrexed může potlačit funkci kostní dřeně, která se manifestuje jako neutropenie, trombocytopenie a anémie, což představuje obvykle toxicitu, která limituje velikost použité dávky a její redukci. Ve studii fáze 3 u pacientů s mezoteliomem byla pozorována menší celková toxicita a snížení hematologické a nehematologické toxicity stupně 3 nebo 4, jako je neutropenie, febrilní neutropenie a infekce s neutropenií stupně 3 nebo 4, pokud byla před léčbou podávána kyselina listová a vitamin B₁₂. Pacienti musí proto denně užívat kyselinu listovou perorálně nebo multivitaminu s obsahem kyseliny listové (350–1 000 µg). Během sedmi dnů před první dávkou

pemetrexedu se musí podat nejméně pět dávek kyseliny listové a její podávání musí pokračovat po celý průběh léčby a po dobu 21 dní po poslední dávce pemetrexedu. Pacienti musejí rovněž dostat intramuskulární injekci vitamínu B₁₂ (1000 µg) v týdnu před první dávkou pemetrexedu a jednou každé tři cykly poté. Další injekce vitamínu B₁₂ se mohou podávat ve stejný den jako pemetrexed. Pemetrexed může mít geneticky škodlivé účinky. Pohlavně zralým mužům se doporučuje během léčby a až 6 měsíců po jejím ukončení nezpłodit dítě. Ženy v plodném věku musejí během léčby pemetrexedem používat účinnou antikoncepční metodu. **Interakce:** Souběžné podávání některých léků může vést k opožděné clearanci pemetrexedu. Jde hlavně o nefrotoxické léky (např. amoniglykosidy, kličková diuretika, sloučeniny platiny, cyklosporin), látky, které se rovněž vylučují tubulární sekrecí (např. probenecid, penicilin). Zvýšené opatrnosti je zapotřebí při současném podání nesteroidních antirevmatik (NSA) (ibuprofen, kyselina salicylová). U pacientů s poruchou funkce ledvin je nutno zamezit současnému podávání vyšších dávek NSA 2 dny před (u NSA s delším poločasem, jako je piroxicam a rofekoxib 5 dnů před) v den a 2 dny po podání pemetrexedu. **Nežádoucí účinky:** Hematologické: leukopenie, neutropenie, anémie, trombocytopenie. **Oční:** konjunktivitida. **Gastrointestinální:** Nausea, zvracení, stomatitida, faryngitida, anorexie, průjem, zácpa, dyspepsie. **Nervové:** Senzorická neuropatie, poruchy chuti. **Kožní:** Vyrážka, alopecie. **Jiné:** Únava, dehydratace, zvýšení hodnot sérového kreatininu, zvýšení hladiny aminotransferáz. **Balení a výdej:** 1 lahvička obsahující Pemetrexedum 500 mg. Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis a přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. **Podmínky pro uchování:** Neotevřená lahvička nevyžaduje žádné zvláštní podmínky pro uchování. **Držitel registračního rozhodnutí:** Eli Lilly Nederland B.V., Grootslag 1-5, NL-3991 RA, Houten, Nizozemsko. **Číslo registračního rozhodnutí a datum poslední revize textu:** EU/1/04/290/001-002; 08/04/2008.

Před předepsáním přípravku se prosím seznáme s úplným zněním Souhrnu údajů o přípravku.

Úplné znění Souhrnu údajů o přípravku obdržíte na adrese:
ELI LILLY ČR, s.r.o., Pobeřní 1A, Praha 8, 186 00,
tel: 234 664 111, fax: 234 664 891

fikovaná. Linie UKF-NB-4ELLI žádné takové změny nemá. U linie UKF-NB-4 rezistentní na doxorubicin (UKF-NB-4DOXO), která má gen MDR1 amplifikovaný, byla průtokovým cytometrem potvrzena vysoká exprese P-glykoproteinu (P-gp). U linie UKF-NB-4ELLI nebyla exprese P-gp prokázána, což odpovídá snížené expresi MDR1 na úrovni mRNA. Z našich nálezů vyplývá, že ač jsou mechanismy působení doxorubicinu a ellipticinu na buňky podobné (interkalace DNA, inhibice TOP2A), ellipticin není přes P-gp vypuzován, a mechanismy chemorezistence jsou u UKF-NB-4ELLI a UKF-NB-4DOXO rozdílné. Jedinými změnami, které odpovídají popsaným mechanismům, jsou snížení exprese TOPO2A a zvýšená exprese Bcl-2, podpořené delecí genu BAX, což zabraňuje buňce vstoupit do apoptózy.

Práce vznikla za finanční podpory GAUK 7926/2007, IGA MZ 1A8696-4/2005 a MŠMT VZ č. 0021620813.

Valproát má antiangiogenní účinek a potencuje cisplatinu a ellipticin v neuroblastomových buněčných liniích

Cipro Š., Hraběta J., Poljaková J., Hřebečková J., Figová K., Stiborová M., Eckschlager T.

Úvod: Neuroblastom patří mezi nejčastější malignity dětského věku. Prognóza nemocných s biologicky nepříznivými formami neuroblastomu je i přes intenzivní léčbu často infaustní. Terapeutický zásah, který by zvyšoval účinnost cytostatik, by byl pro nemocné postižené touto malignitou značným přínosem. V naší práci jsme se zaměřili na vliv kyseliny valproové (VPA) na neuroblastomové buněčné linie UKF-NB-4 a UKF-NB-3 rezistentní na cisplatinu. VPA je běžně používané antiepileptikum, které se v poslední době ukazuje jako efektivní protinádorové agens. Mechanismus jeho působení se vysvětluje především epigeneticky inhibičním působením na histon-deacetylázu (HDAC). Úplně vysvětlení jeho protinádorového působení tato teorie však nepodává. V naší práci jsme proto hodnotili i vliv VPA na angiogenezi, který může přispívat k jeho protinádorovým účinkům. Hypoxie v nádorech koreluje s rozsahem onemocnění a jeho horším průběhem.

Klinicky významná je zvláště hypoxií indukovaná rezistence k radioterapii a chemoterapii, genomová instabilita a indukce angiogenezy.

Cíle: (1) Stanovit, zda VPA potencuje účinek cisplatinu a ellipticin v normoxii a v hypoxii, (2) potvrdit, že hyperacetylace histonů hraje roli v protinádorovém účinku VPA, (3) posoudit vliv VPA na angiogenezi.

Materiál a metody: Experimenty byly prováděny na buněčných liniích odvozených od neuroblastomu vysokého stupně rizika UKF-NB-4 a UKF-NB-3 a od nich odvozených linií rezistentních na cisplatinu. Efekt 24 hodinové preinkubace 1 mM VPA jsme určovali pomocí MTT testu. Tato koncentrace VPA je dosahována v séru pacientů při antiepileptické léčbě. Antiangiogenní potenciál VPA byl studován pomocí capillary-like tube formation testu na endoteliích z lidské pupečnickové vény (HUVEC). Přítomnost hyperacetylovaných histonů H3 a H4 byla určena Western blotem. V některých experimentech byl použit jiný, specifitější, inhibitor HDAC trichostatin A v koncentraci 100 nM. Na indukci hypoxických podmínek jsme buněčné kultury kultivovali v uzavřeném systému (Hypoxic chamber, Billups-Rothenberg, Inc., USA) s definovanou směsí plynů O₂ (1 %), CO₂ (5 %), N₂ (94 %). Hypoxický fenotyp testovaných buněk jsme ověřovali kontrolou exprese proteinu HIF-1 α pomocí Western blotu s králičí polyklonální protilátkou (Upstate Biochemicals).

Výsledky: Preinkubace obou buněčných linií 1 mM VPA snížila IC₅₀ ellipticin i cisplatinu v normoxických i hypoxických podmínkách. VPA i trichostatin A signifikantně snížil počet „křížení“ v capillary-like tube formation testu. Hyperacetylace histonů byla potvrzena jak v hypoxii, tak v normoxii. Proti očekávání jsme opakovaně pozorovali, že VPA způsobuje vyšší hyperacetylaci histonů než TSA.

Závěr: Můžeme konstatovat, že VPA potencuje účinek ellipticin i cisplatinu. Důležitým bodem našeho pozorování je synergický efekt VPA a ellipticin nejen v normoxii, ale i v hypoxii. Potvrdili jsme, že preinkubace VPA způsobuje hyperacetylaci histonů H3 i H4. K protinádorovému účinku VPA mohou přispívat i jeho antiangiogenní vlastnosti. Naše výsledky i literární údaje ukazují, že možnost potenciace účinků cytostatik VPA může přispět

ke zlepšení léčebných výsledků některých nádorů včetně neuroblastomu vysokého rizika.

Podpořeno grantem GAUK 72208/2008.

Cílená biologická terapie a ionizující záření – víme jakou lze očekávat toxicitu?

Vítek P., Holečková P., Pála M., Kubeš J.
Ústav radiační onkologie FN
Na Bulovce, UK Praha

Cílená biologická terapie se širokým spektrem preparátů je v současné době standardní modalitou v léčbě solidních nádorů. Nízká toxicita většiny preparátů umožnila dlouhodobou léčbu zahrnující i adjuvantní indikace.

Detailně popsaný mechanismus efektu v řadě experimentálních prací umožnil i využití biologické terapie jako potenciátoru ionizujícího záření. Biologická léčba je pak v kvalitativně nové pozici – její podávání je krátkodobé, jednorázové a je součástí kurativního přístupu.

Toxicita biologické léčby v kombinaci se zářením lze jen omezeně stanovit v preklinických studiích u experimentálních nádorů. Klinické studie, které konzistentně hodnotí toxicitu kombinované terapie, jsou ojedinělé a vztahují se převážně k modulaci EGFR. Přesto se ukazuje, že potenciace efektu záření je v nenádorových tkáních významná a přibývá referencí o neočekávané těžké toxicitě záření v kombinaci s různými modulatory. U nemocných z ÚRO dokumentujeme případy těžké toxicity při léčbě nádorů ORL oblasti zářením s modulací EGFR. Nápadně kontrastují s obvykle hladkým průběhem léčby u ostatních nemocných na stejné terapii. V rámci popsaných mechanismů efektu nejsme schopni neobvyklou toxicitu predikovat. Neměli jsme k dispozici vhodné biomarkery. Nejasný efekt biologické léčby na nenádorové tkáni, abskopální efekty záření, nejasný mechanismus potenciace (vliv na všechna „R“ podle Witherse), neurčené biomarkery pro některé modulatory a nedostatek preklinických experimentů u nenádorových tkání, to vše je podkladem pro nejistotu v toxicitě biologické terapie se zářením. První studie s „bioradioterapií“ přinesly příznivé výsledky, ale dále je nutné dlouhodobě sledovat a hodnotit bezpečnost léčby, pokud se nepodaří toxicitu predikovat.

4. Prognostické a prediktivní faktory I.

Srovnání detekce nejčastějších mutací v KRAS genu metodou TheraScreen se sekvenováním

Drábek J.¹, Wiecek S.¹, Berkovcová J.¹, Holinková V.¹, Staňková M.², Ehrmann J.³, Hajdúch M.¹

¹ LEM při Dětské klinice LF UP a FN Olomouc

² Institute of Applied Biotechnologies, Praha

³ Ústav patologie LF UP a FN Olomouc

Onkogen KRAS (Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog) kóduje malý GTPasový transduktorový protein KRAS, podílející se na regulaci buněčného dělení přenosem signálu z vnějšku buňky do buněčného jádra. Mutace KRAS genu zabraňuje inaktivující transici KRAS proteinu a vede k nádorové transformaci a zvýšené rezistenci k chemoterapii, zvláště u pacientů s mutací v EGFR1 genu.

Mutační status KRAS genu se testuje jako prediktivní marker terapeutického účinku EGFR1 inhibitorů; u metastazujícího kolorektálního karcinomu se stalo potvrzení standardní alely KRAS *conditio sine qua non* pro indikaci terapie cetuximabem a panitumumabem.

Přestože sekvenování je považováno za zlatý standard genotypizačních metod, první komerční souprava pro klinické využití s CE značkou je TheraScreen od firmy DxS založená na PCR se sekvenčně specifickými škorpionovými primery.

V našem příspěvku srovnáváme technické odlišnosti a přínosy obou metod v rutinním klinickém využití v laboratoři LEM Olomouc.

Práce na tomto projektu je podporována grantem MSM6198959216 a MPO 1H-PK/45.

Retrospektivní analýza KRAS a dalších prediktivních parametrů v souboru pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem (mCRC) léčených kombinací cetuximab + irinotekan

Němeček R., Kocáková I., Kocák I., Svoboda M., Lakomý R., Poprach A., Hrstka R., Slabý O., Nenutil R., Vyzula R. Masarykův onkologický ústav Brno

Úvod: Obsahem sdělení je retrospektivní analýza potenciálních prediktivních parametrů odpovědi na anti-EGFR terapii (cetuximab v kombinaci s irinotekanem) v souboru pacientů s pokročilým mCRC léčených v MOÚ od 7/2005 do 7/2008.

Soubor a metody: 49 pacientů s mCRC (78 % muži, medián věku 59 let, 84 % pacientů s víceorgánovým postižením – především játra, plíce a retroperitoneální lymfadenopatie, všichni s pozitivní expresí EGFR, ECOG PS 0–1 a s přiměřenými hematologickými, renálními a jaterními funkcemi). Všichni pacienti byli předléčeni fluoropyrimidiny a irinotekanem, 92 % oxaliplatinou, 20 % bevacizumabem, u téměř všech byl řešen chirurgicky primární nádor, u 14 pacientů provedena resekce jater, u 12 pacientů RFA jaterních metastáz, u 3 pacientů resekce plicních metastáz. Sledovaná léčba probíhala u 67 % pacientů v rámci 3. linie, u 24,5 % dokonce v rámci 4. či 5. linie paliativní chemoterapie pro metastatické onemocnění. Léčebné schéma: iniciálně cetuximab 400 mg/m² i. v. na 2 hod., následně týdenní aplikace 250 mg/m² i. v. na 1 hod., irinotekan 350 mg/m² á 3 týdny, hodnocení odpovědi po 2–3 měsících dle RECIST, léčba do progresu či neakceptovatelné toxicity. Výsledky statisticky zpracovány v programu MedCalc.

Výsledky: Follow-up studie se pohyboval v rozmezí od 2,3 do 30,8 měsíců s mediánem 9,8 m. Bylo podáno celkem 455 cyklů á 3 týdny (medián 8, rozmezí 3–29). Léčba byla ukončena u 38 pacientů (z toho u 35 pacientů pro progresi onemocnění), 11 pacientů v léčbě pokračuje. Ze sledovaného souboru dosud zemřelo 23 pacientů (47 %).

Zaznamenali jsme kompletní remisi (CR) u 1 pacienta (2 %), parciální remisi (PR) u 18 pacientů (36,7 %) a stabilizaci onemocnění (SD) u 16 pacientů (32,7 %) – tedy celková objektivní odpověď (RR) nastala u 38,7 % a kontrola onemocnění u 71,4 % pacientů. Léčba byla efektivní i u 10 pacientů ze 17 (59 %), kteří byli dříve na irinotekan rezistentní. Čas do progresu onemocnění (TTP) se pohyboval v rozmezí 1,5–25 měsíců, medián TTP 6,8 m. Medián přežití od zahájení léčby cetuximabem byl 16,3 měsíců (rozmezí 2,3–30,8 měsíce), medián přežití od zahájení terapie pro metastatické onemocnění byl 39,9 měsíců (rozmezí 10,4–77,4 m). Stran toxicity dominoval průjem, nevolnost a akneiformní exantém (G2 v 59 %

případů), většinou se však jednalo o mírnější stupně toxicity G 1–2 (dle NCI-CTC) a léčba byla pacienty veskrze velmi dobře tolerována (ukončení léčby z důvodu toxicity bylo nutné pouze u 1 pacienta).

Hodnocení prediktivních parametrů odpovědi na léčbu: Byly potvrzeny statisticky signifikantní pozitivní korelace mezi stupněm exantému a léčebnou odpovědí ($p=0,002$) a mezi stupněm exantému a TTP ($p=0,008$), naopak stupeň nádorové exprese EGFR s léčebnou odpovědí ani s TTP nekoreloval. Taktéž odpověď na předchozí irinotekan, ECOG PS, věk, stadium v době diagnózy, počet metastatických lokalit a linie protinádorové léčby nevykazovaly prediktivní potenciál.

Analýza KRAS: Dle odpovědi na léčbu a mediánu času do progresu bylo vybráno 10 + 10 pacientů s nejlepšími a nejhorsími výsledky, v jejichž vzorcích nádorové tkáně byl vyšetřen metodou PCR za pomoci kitu TheraScreen statut onkogenu KRAS. Ve skupině pacientů s nejlepší odpovědí (1xCR, 9xPR, TTP 9–25 m) nebyla u žádného pacienta mutace KRAS tímto vyšetřením prokázána. Ve skupině pacientů s nulovou odpovědí na léčbu (kteří ihned zprogreďovali v intervalu od 1,5 do 2,8 měsíce) bylo identifikováno 6 pacientů s mutací KRAS (5x Gly12Asp, 1x Gly13Asp) a 4 pacienti bez prokazatelné mutace tohoto onkogenu. Byla potvrzena statisticky signifikantní korelace mezi statutem KRAS a odpovědí na léčbu ($p=0,0147$) a mezi KRAS a TTP ($p=0,0083$, HR 3,145).

Diskuze: Naše výsledky korelují se závěry aktuálních studií, potvrzují efektivitu kombinace irinotekanu s cetuximabem v léčbě pokročilého mCRC a potvrzují prediktivní hodnotu vyšetření statutu onkogenu KRAS před zahájením anti-EGFR léčby.

Poděkování: firmě MERCK Pharma k.s. za materiální podporu vyšetření KRAS mutace.

Laboratorní část práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR: NR/9076-4.

Literatura

- Cunningham D, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*, 2004; 351: 337–345.
- Lièvre A, et al. KRAS mutation as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol*, 2008; 26: 374–379.

3. Van Cutsem E, et al. KRAS status and efficacy in the first-line treatment of patients with mCRC treated with FOLFIRI with or without cetuximab: The CRYSTAL experience. ASCO 2008. Abstract 2.
4. Bookemeyer C, et al. KRAS status and efficacy of first-line treatment of patients with mCRC with FOLFOX with or without cetuximab: The OPUS experience. ASCO 2008. Abstract 4000.

Sledování frekvence RNA editingu v kódovacích sekvencích transkriptů p53, BRCA1, CYFIP2, FLNA a BCLAP u různých typů plicních nádorů

Škarda J.¹, Srovnal J.², Radová L.², Hajdúch M.², Klein J.³, Kolek V.³, Amariglio N.^{4,5}, Rechavi G.^{4,5}

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

² Laboratoř experimentální medicíny při Dětské klinice LF UP a FN, Olomouc

³ 1. chirurgická klinika LF UP a FN, Olomouc

⁴ Cancer Research Center, Chaim Sheba Medical Center, Tel Hashomer, Israel

⁵ Sackler School of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel

Deregulace epigenetických mechanismů se významnou měrou podílí na nádorové transformaci a progresi. RNA editace adenozinu na inozin je místně specifická modifikace helikálních struktur prekurzorové mediátorové RNA. Tento proces je katalyzován takzvanými ADAR (adenosine deaminase acting on RNA) enzymy.

Cílem práce byla detekce frekvence editovaných míst v kódovaných sekvencích transkriptů p53, BRCA1 (breast cancer 1, early onset), CYFIP2 (cytoplasmic FMR1 interacting protein 2), FLNA (filamin A) a BCLAP (bladder cancer associated protein) transkriptů. Uvedené editovací sekvence byly detekovány v normální plicní tkáni a ve zmražených vzorcích adenokarcinomu, spinocelulárního karcinomu, malobuněčného karcinomu, sarkomu intimy plicnice a plicních karcinoidů pomocí RT-PCR a statistické analýzy. Bylo zjištěno, že frekvence editace RNA je dvojnásobně vyšší v nenádorové plicní tkáni oproti plicním nádorům (9,13% a 4,43%, p=0,01). Dále byly zjištěny signifikantní rozdíly v editaci FLNA (p=0,0001) a BCLAP (p=0,0125) transkriptů

mezi adenokarcinomy a velkobuněčnými karcinomy plic. Prognostický význam změn frekvence editace RNA v daných sekvencích bude předmětem dalších studií.

Práce byla podpořena grantem MSM 6198959216.

Zkušenosti se stanovením statusu genu Her-2/neu (c-erbB-2) u obtížně vyšetřovatelných vzorků

Trojanec R.^{1,3}, Hajdúch M.^{1,3}, Kolář Z.^{2,3}, Palková V.^{1,3}, Braunerová B.^{1,3}, Bouchalová K.^{1,3}, Ehrmann J.^{2,3}, Tichý M.^{2,3}, Krejčí V.^{2,3}, Mlčochová S.^{1,3}

¹ Laboratoř experimentální medicíny LEM, Dětská klinika FN a LF UP v Olomouci

² Laboratoř molekulární patologie při Ústavu patologie, LF UP v Olomouci

³ Referenční laboratoř pro c-erbB-2, LF UP v Olomouci

Amplifikace a/nebo nadměrná exprese genu Her-2/neu znamená u karcinomu prsu nepříznivou prognózu a je důvodem pro indikaci geneticky cílené léčby trastuzumabem (Herceptin). Výsledky mezinárodních studií ukazují, že část výsledků z lokálních laboratoří je falešně pozitivních či negativních. Z tohoto důvodu byla po vzoru jiných zemí za podpory zdravotních pojišťoven a firmy Roche založena v ČR 1. 7. 2002 Referenční laboratoř pro stanovení statusu Her-2/neu v Olomouci (RL). Zařazení Herceptinu do adjuvantního režimu vedlo ke zvýšení počtu vyšetřovaných vzorků, a tím i k rozšíření o dalších 5 referenčních pracovišť, jejichž úkolem je verifikovat status Her-2/neu u pacientek indikovaných k Herceptinu.

V rámci rutinní diagnostiky bylo v RL Olomouc k 1. 10. 2008 vyšetřeno 2 544 pacientek s karcinomem prsu. Ačkoliv větší část vzorků bylo možno vyšetřit metodou FISH, u části preparátů nebyla hybridizace opakovaně úspěšná či nebylo možno vzorky vyšetřit z důvodu nedostatečného množství nádorových buněk (5,31%). Příčinou špatné hybridizace může být například termizace tkáně před zpracováním, degradace preparátu nesprávným transportem před fixací anebo nevhodně zvolená či nestandardně provedená fixace preparátu. Z tohoto důvodu jsme navrhli a standardizovali metodu detekce statusu genu Her-2/neu pomocí real-time PCR. Zavedená duplexní real-time PCR umožňuje kvantitativní detekci Her-2/neu za použití refe-

renčních genů. Jako referenční geny byly vybrány: dck, gcs1 a epn2, které se dle dostupných informací u karcinomu prsu neamplifikují. Metoda byla standardizována na sérii parafinových řezů o známém statusu genu Her-2/neu a zavedena v RL jako metoda detekce Her-2/neu, v případě selhání metody FISH. V současné době touto metodou bylo vyšetřeno již 77 pacientů, z nichž u 78% bylo vyšetření provedeno úspěšně.

Mezi obtížně vyšetřované případy patří i skupina vzorků, vykazujících polyzomii chromozomu 17 (CH17), detekovanou pomocí centromerické alfa-satelitní sondy. Numerické i strukturální aberace CH17 patří k nejčastějším cytogenetickým nálezům u karcinomu prsu a mají klinický význam v prognóze onemocnění. Vyšší počet kopií CH17 (polyzomie CH17) byl nalezen u 13,6% (345/2544) případů, což odpovídá publikovaným údajům. Díky polyzomii CH17 není na základě FISH vyšetření k léčbě trastuzumabem (Herceptin) indikováno asi 5–7% procent pacientek, jelikož nesplní kritérium poměru počtu signálů Her-2/neu: CH17 > 2,0. Účinnost Herceptinové léčby nebyla dosud u pacientek s polyzomii CH17 dostatečně ověřena, avšak v České republice je na základě národního konsenzu tato terapie indikovaná i u polyzomických nádorů, pokud jsou současně imunohistochemicky vysoce pozitivní (imunohistochemicky 3+).

Paralelní hybridizací polyzomických nádorů s lokus specifickými sondami na krátké rameno CH17 jsme prokázali, že 58% původně polyzomických vzorků má pouze 2 kopie CH17. V některých případech docházelo k nespecifické hybridizaci centromerické sondy (CH17) i na centromery jiných chromozomů či v nádorových buňkách došlo ke komplexním přestavbám karyotypu, které zkreslují počet kopií chromozomu 17. Toto zjištění je klinicky významné, jelikož odlišení pravé polyzomie od nepravé zvyšuje procento pacientek indikovaných k léčbě trastuzumabem. Z tohoto důvodu tyto případy vyšetřujeme rovněž lokusově specifickou próbou, orientovanou na chromozomální oblast 17p11.2.

Smyslem referenčních laboratoří je mimo rutinní diagnostiku rovněž poskytnout metodologii, referenční materiály a konzultantský servis pro patology, cytogenetiky i onkology a poskytovat kvalitní výsledky vyšetření i u obtížně stanovitelných vzorků. Hlavním úkolem je podpora racionalizace cílené léčby.

Tato práce je podporována zdravotními pojišťovnami ČR a grantovými projekty MSM6198959216 a MPO 1H-PK/45. Zvláštní poděkování patří všem spolupracujícím klinickým i laboratorním pracovištím a našim pacientům.

5. Prognostické a prediktivní faktory II.

Možnosti řešení recidiv Glioblastoma Multiforme

Kalita O.¹, Vaverka M.¹, Hrabálek L.¹, Zlevorová M.², Trojanec R.³, Hajdúch M.³, Drábek J.³, Hlobilková A.⁴, Houdek M.¹

¹ Neurochirurgická klinika LF UP a FN Olomouc

² Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

³ Laboratoř experimentální medicíny LF UP a FN Olomouc

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

Popis: Klinická aplikace laboratorních metod (histologie, cytogenetika, imunohistochemie) při rozhodování o další terapii zhoubných nádorů mozku.

U histologicky jinak podobných vysokostupňových gliomů byla odhalena značná heterogenita jejich genetických a imunohistochemických profilů, což je podkladem jejich další stratifikace. Zdá se že jednotlivé skupiny, se liší nejen zmíněnými genetickými změnami, ale také věkovým rozvrstvením, biologickým chováním a délkou přežití. Tomuto závěru se snažíme přizpůsobit i naši léčebnou strategii – přiřadit každé skupině cílenou terapii. Výsledek operace bez následné onkologické terapie je jen částečný. Spory ohledně indikací k operaci, radiace a opakované chemoterapii však nadále probíhají.

Pro dosažení výsledků je tedy podstatná spolupráce v rámci neuroonkologického týmu složeného z neurochirurga, neuro-onkologa, neuro-radiologa, neuro-patologa a pracovníka cytogenetické laboratoře.

Práce je podporována granty: MSM 6198959216, MPO 1H-PK/45 a LC07017.

Prediktivní význam vybraných mikroRNA a metylačního stavu promotoru MGMT u pacientů s multifonním glioblastomem

Slabý O., Hrstka R., Nováková J., Cibulková K., Lžičarová E., Lakomý R., Křen L., Fadrus P., Smrčka M., Michálek J.
Masarykův onkologický ústav, Brno
Fakultní nemocnice Brno
Univerzitní centrum buněčné imunoterapie

Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Glioblastoma multiforme (GBM) je nejčastějším intrakraniálním nádorem astrocytárního původu. Patří mezi nejvíce letální nádory, jejichž prognóza je i při optimální léčbě (úspěšném neurochirurgickém zákroku a chemoradioterapii) infaustní s mediánem přežití 12–15 měsíců od stanovení diagnózy. V posledních dvou letech bylo s úspěchem provedeno několik studií zaměřených na prediktivní význam metylace promotorové oblasti genu pro DNA-reparační protein O6-metylguanin-DNA metyltransferázu (MGMT) pro léčbu novým alkylačním činidlem, temozolomidem (TMZ). V naší studii jsme se rozhodli validovat tato pozorování v našich podmínkách a rozšířit je o kvantitativní analýzu vybraných mikroRNA (miR-21, miR-221, miR-222, miR-181a, miR-181b, miR-181c, miR-125b a miR-128a) vytipovaných na základě in-silico analýz a suspektních z posttranskripční regulace MGMT, ale i jiných genů zodpovědných za invazivitu, progresi a imunorezistenci glioblastomových buněk, například komponenty TGFbeta signalizace. MikroRNA jsou nekódující jednořetězcové RNA o délce 18–25 nukleotidů tvořící nedávno objevenou skupinu regulátorů genové exprese, jejichž deregulace byla potvrzena jako jedna z kauzálních událostí v kancerogenezi mnoha nádorových onemocnění. Zavedli jsme metodiku kvantitativního stanovení metylace genu pro MGMT založenou na bisulfidové reakci a následné metylačně-specifické PCR a variantu metody Real-Time PCR pro stanovení mikroRNA (stem-loop RT-PCR). 26 pacientů s histopatologicky diagnostikovaným GBM zařazených do naší pilotní studie podstoupilo chirurgický zákrok na Neurochirurgické klinice FN Brno a konkomitantní chemoradioterapii s temozolomidem (RT/TMZ) v Masarykově onkologickém ústavu v Brně, kde zůstali nadále dispenzarizováni. Souvislost metylace promotoru MGMT a hladin výše uvedených mikroRNA s odpovědí GBM na konkomitantní RT/TMZ, ale i na parametry přežití a jiné klinickopatologické parametry GBM v současnosti vyhodnocujeme, výsledky budou součástí našeho sdělení.

Analýza exprese VEGF, Flt-1, Flk-1, nestinu a MMP-9 v souvislosti s patogenezi a progresí astrocytárních nádorů

Hlobilková A.¹, Ehrmann J.¹, Knížetová P.¹, Krepopová K.¹, Krejčí V.¹, Kalita O.²

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

² Neurochirurgická klinika LF UP a FN Olomouc

Astrocytární nádory, zejména jejich „high-grade“ formy, patří mezi mozkové nádory, které se vyznačují silnou angiogenní aktivitou. Naše imunohistochemická studie analyzuje expresi vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF), jeho receptorů (Flk-1 a Flt-1), intermediálního filamentárního proteinu nestinu, který se podílí na vývoji centrálního nervového systému a MMP-9 z rodiny matrix-metaloproteináz, jež se uplatňují v regulaci nádorové invaze a angiogeneze. Cílem studie bylo hodnocení významu exprese VEGF, jeho receptorů, nestinu a MMP-9 v astrocytomech vzhledem ke gradingu. Imunohistochemická detekce byla prováděna na souboru tkáňových vzorků zalitých do parafínu celkem od 69 pacientů; 32 s „low-grade“ a 37 „high-grade“ astrocytomy. Pro nepřímou imunodetekci byly použity komerčně dostupné protilátky proti VEGF, Flk-1, Flt-1, nestinu, CD34 a MMP-9. Expresie receptorů Flt-1 a Flk-1 nevykazovala žádný signifikantní rozdíl ve skupině „low-grade“ a „high-grade“ astrocytomů. Expresie VEGF a MMP-9 byla zvýšena ve skupině „high-grade“ tumorů ($p < 0,026$; $p < 0,024$). Dále byla nalezena vyšší exprese nestinu v nádorových astrocytech i endoteliálních buňkách u „high-grade“ tumorů ($p < 0,007$; $p < 0,003$). Zvýšení exprese VEGF v „high-grade“ astrocytomech může následně vést k aktivaci signálních drah umožňujících přežití buněk regulujících angiogenezi a migraci. Výsledky exprese nestinu a MMP-9 rovněž ukazují na jejich pravděpodobnou úlohu v neoangiogenezi i nádorové proliferaci.

Práce byla podpořena granty: IGA MZ ČR NR/7828-3 a MŠM 6198959216.

Souvislost rozložení genové exprese jednotlivých typů somatostatinových receptorů SSTR1-SSTR5 a odpovědi pacientů s neuroendokrinními tumory na léčbu somatostatinovými analogy

Slabý O., Šachlová M., Bednaříková M., Fabian P., Vytopilová S., Nenutil R., Vyzula R.

Masarykův onkologický ústav, Brno
Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Somatostatin je polypeptidový hormon účinkující jako inhibitor hypofyzární, pankreatické a gastrointestinální sekrece. Somatostatinový analog je proto s úspěchem využíváno v klinické praxi k léčbě pacientů s hormonální hypersekrecí spojenou s rozvojem neuroendokrinních tumorů (NET). Účinek somatostatinu a současně i jeho analog (SA) je ovlivněn především typem receptoru, přes který je uskutečňován. Pro somatostatin bylo doposud identifikováno pět typů specifických membránových receptorů SSTR1 až SSTR5. Geny pro jednotlivé typy receptorů jsou lokalizovány na různých chromozomech, což naznačuje nejen individuální transkripční kontrolu každého z nich, ale i jejich rozdílnou funkčnost. Recentní práce ukazují, že agonizace každého z těchto receptorů je skutečně spojena s aktivací rozličných signálních drah a rozdílnou buněčnou odpovědí. SSTR2 a SSTR5 jsou zapojeny především do regulace

uvolňování somatotropinu, SSTR5 navíc reguluje sekreci inzulínu a glukagonu. Daleko zajímavější je skutečnost, že obzvláště SSTR3 a v menší míře SSTR2 specifickým ligandem může vést k indukci apoptózy. Z výše uvedeného lze předpokládat, že rozložení jednotlivých typů somatostatinových receptorů, a to především ve smyslu zvýšené exprese SSTR2 a SSTR3, může vysvětlovat, a před zahájením léčby i predikovat, lepší léčebnou odpověď a dosud biologicky neuspokojivě vysvětlený anti-neoplastický účinek somatostatinových analogů u některých pacientů s NET. V naší studii jsme se rozhodli stanovit hladiny mRNA pro všech pět typů somatostatinových receptorů metodou Real-Time PCR na souboru 25 pacientů s NET s vyjádřenou hormonální hypersekrecí, léčených (n=19 – octreotid; n=6 – lanreotid) a dispenzarizovaných na Masarykově onkologickém ústavu v Brně. Odpověď byla vyhodnocována po šesti měsících léčby, a to jak na úrovni biochemické (pokles nebo stabilizace chromograninu A v séru a 5-HIOK v moči u 80 % případů), symptomatické (efekt na vyjádřené symptomy pozorován u 83 % případů), tak radiologické – efekt na měřitelné léze (v 48 % pozorována objektivní odpověď – SD, PR, CR). Medián terapie analogy činí k dnešnímu datu 14 měsíců. Výsledky naší studie se zaměřením na vliv rozložení exprese jednotlivých typů somatostatinových receptorů na radiologickou odpověď a parametry přežití pacientů s NET léčených SA budou prezentovány v rámci našeho sdělení.

Poděkování: Práce byla podpořena výzkumným záměrem MZOMOU2005.

Overestimation of radiation-induced malignancy after Chernobyl accident

Sergei V. Jargin
Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

After the Chernobyl accident appeared numerous publications containing interpretation of spontaneous diseases as radiation-induced and conclusions about cancer incidence increase without comparison with general growth tendencies. Improved diagnostics and population screening after the accident are not always taken into account in evaluations of cancer incidence. In some studies, overestimation was caused by non-random case selection. According to the UNSCEAR 2000 report, incidence of all malignancies remained after the Chernobyl accident within statistical error in agreement with growth tendency for Russia in general (except for thyroid carcinoma in children and adolescents). Latent carcinomas and borderline lesions diagnosed as malignancies, as well as certain percentage of false-positive conclusions, contributed to high incidence figures.

Literatura

1. Jargin SV. Over-estimation of radiation-induced malignancy after the Chernobyl accident. *Virchows Arch*, 2007; 451: 105–106.
2. Jargin SV. Re: DNA damage repair in bladder urothelium after the Chernobyl accident in Ukraine. *J Urol.*, 2007; 177: 794–799.
3. Jargin SV. On the overestimation of Chernobyl NPP accident consequences. *Med Radiol and Radiation Safety (in Russian)*. 2007; 52 (1): 73–74.
4. Jargin SV. On the overestimation of Chernobyl NPP accident effects: urinary bladder tumors. *Med Radiol and Radiation Safety (in Russian)*, 2007; 52 (4): 83–84.

poznámky:

6. Prognostické a prediktivní faktory III.

Potenciální prognostické a prediktivní faktory difuzního velkobuněčného B-lymfomu (DLBCL) – signální dráha NFκB

Flodr P.¹, Kubová Z.², Papajík T.², Tichý M.¹, Krejčí V.¹

¹ Ústav patologie LF UP a FN, Olomouc

² Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Potenciálně kurabilní klinicko-patologická jednotka DLBCL zaujímá přibližně 30–40% všech non-Hodgkinových lymfomů a tvoří tak významnou část skupiny B-lymfomů. Medián věkového rozložení spadá do sedmé dekády. Známé prognostické ukazatele DLBCL jsou definovány klinicky, biochemicky, morfoloicky, imunohistochemicky a molekulárně-geneticky. Některé ze studií využívají imunohistochemickou detekci exprese proteinů BCL6, CD10, MUM1/IRF4 a popisují stratifikaci DLBCL na skupinu typu germinálního centra (GC) a non-germinálního centra (non-GC) DLBCL s odlišným pětiletým přežíváním. Uvedené dělení DLBCL bylo též podpořeno genetickým expresním profilem. Rodina proteinů NFκB patří k transkripčním faktorům ovlivňujícím základní biologické vlastnosti buňky – proliferaci, apoptózu, diferenciaci a modulaci mikroprostředí. NFκB hraje rovněž klíčovou roli v imunitní odpovědi. Konstitutivní aktivace signální dráhy NFκB je jedním z možných patogenetických procesů vzniku DLBCL.

Cíl práce: Sledován vztah GC a non-GC typu DLBCL k expresi proteinů signální dráhy NFκB (p50, p52, p65).

Materiál a metody: 32 formalíne fixovaných a v parafínu zalitých vzorků DLBCL bylo vyšetřeno metodou nepřímé imunohistochemie (CD10, BCL6, MUM1/IRF4, p50, p52, p65). Membránová pozitivita CD10, jaderná pozitivita BCL6 řadí DLBCL k typu GC, jaderná pozitivita MUM1/IRF4 řadí DLBCL k typu non-GC. Jaderná pozitivita NFκB je považována za známku aktivace příslušné signální dráhy.

Shrnutí: Soubor DLBCL byl rozdělen na případy typu GC (n=14) a non-GC (n=6) se zbývající částí (n=12), kterou nebylo možno jednoznačně zařadit k žádné ze skupin. Známky aktivace signální dráhy NFκB vykazovalo 8 DLBCL bez jednoznačné vazby na GC a non-GC typ imunoprofilu. V současné době

hodnotíme, zda DLBCL se známkami aktivace signální dráhy NFκB nese biologické vlastnosti s rozdílnými prognostickými a prediktivními výstupy.

Podpořeno MŠMT ČR MSM 6198959205.

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

Kološťová K.^{1,6}, Pintérová D.¹, Bobek V.¹, Janatková I.², Prokopová V.², Kubecová M.³, Šindelka R.⁴, Čtrnáctá V.⁴, Kubista M.^{4,6}, Barkmanová J.⁵, Tesařová P.⁵

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, Ústavy molekulární genetiky AV ČR

⁵ Onkologická klinika VFN a 1. LF UK v Praze

⁶ TATAA Molecular Diagnostics, Inovativní Biomedicínské Centrum AV ČR v Praze

Předmětem řešeného projektu je zavedení standardních operačních protokolů pro izolaci cirkulujících nádorových buněk (circulating tumor cells – CTC) pomocí nově certifikovaného diagnostického testu u pacientek s rakovinou prsu.

CTC buňky se vyskytují v periferní krvi, antigeně nebo geneticky patří k jednotlivým typům nádorů. Zdroj CTC buněk není přesně definován (předpokládá se, že je jím ložisko primárního tumoru, odváznější teorie mluví o původu CTC v kostní dřeni). Na základě přítomnosti CTC v krvi a rozdílné exprese onkomarkerů na úrovni mRNA v CTC je možné stanovit algoritmy časné detekce diseminace (metastáz). Všeobecně platí, že pacientka s CTC buňkami trpí agresivnější formou onemocnění. CTC buňky by mohly být ideálním prostředkem monitorování dynamiky onemocnění právě pro-

to, že periferní krev pacientek je relativně jednoduše dostupná a umožňuje tak neomezené opakování vyšetření v případě potřeby.

Nový diagnostický systém je založený na kombinaci imunomagnetické separace CTC pomocí specifického panelu protilátek proti CTC. Následně je v CTC detekována exprese MUC-1, HER2neu a EpCAM – markerů nádorových buněk.

CTC-test představuje nový standard sledování průběhu onemocnění a účinnosti terapie, a to díky možnosti detekce relapsu s vysokou přesností dokonce i v případě, kdy konvenční metody ještě výskyt metastáz nesignalizují (cca 9 měsíců dříve). V případě pozitivity jsou mikrometastázy ihned atakované léčbou, což by mělo vést k výraznému prodloužení života pacientek.

Prognostický význam minimální reziduální choroby u pacientů operovaných pro kolorektální karcinom – výsledky tříletého sledování

Srovnal J.¹, Kesselová M.¹, Kořínková G.¹, Vysloužil K.², Skalický P.², Starý L.², Klementa I.², Duda M.², Strážnická J.³, Šrámek V.³, Čwierka K.³, Bílková R.¹, Růžková V.¹, Radová L.¹, Hajdúch M.^{1,3}

¹ Laboratoř experimentální medicíny při Dětské klinice LF UP a FN Olomouc

² I. chirurgická klinika LF UP a FN Olomouc

³ Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Minimální reziduální choroba (MRD) u nemocných s kolorektálním karcinomem znamená přítomnost nádorových buněk v těle pacienta, u něhož byla provedena radikální resekce primárního tumoru a který je v současnosti bez klinických známek onemocnění. Tyto izolované nádorové buňky lze na základě současných znalostí považovat za prekurzory mikrometastáz. Prognostický význam MRD však stále není zcela jasný a cílem našeho projektu je objasnit souvislost mezi přítomností MRD a parametry přežití.

Minimální reziduální chorobou u pacientů s kolorektálním karcinomem se dlouhodobě zabýváme, jako markerů k detekci cirkulujících/disseminovaných nádorových buněk v perifer-

ní krvi a kostní dřeně za použití metody real-time RT-PCR využíváme karcinoembryonální antigen (CEA) a cytokeratin 20 (CK20).

Ve spolupráci s I. chirurgickou klinikou FN a LF Olomouc jsme v letech 2004–2006 na přítomnost MRD vyšetřili více než 200 pacientů klinických stadií I–III operovaných pro kolorektální karcinom. U většiny pacientů byly vyšetřeny vzorky periferní krve, portální krve a kostní dřeně v den operace a vzorky kostní dřeně a periferní krve opět 1 měsíc po operaci před podáním event. adjuvantní léčby. Pacienti byli poté dispenzarizováni v převážné míře na Onkologické klinice FN a LF Olomouc, kde jim byla poskytnuta onkologická léčba dle doporučených léčebných protokolů. U více než 130 pacientů byla provedena statistická analýza (Kaplan-Mayer) hodnotící vztah mezi přítomností MRD a parametry přežití.

Výsledky studie hodnotící vztah mezi přítomností MRD a přežitím bez nemoci (disease free survival, DFS) ukázaly několik zajímavých poznatků. Především se ukazuje, že kostní dřeň je pro detekci MRD u pacientů s kolorektálním karcinomem vhodnějším kompartmentem pro vyšetření než periferní krev. Dále že přítomnost MRD v kostní dřeně nám spíše predikuje systémové postižení, než přítomnost jaterních metastáz. Velmi zajímavým zjištěním však byla statisticky velmi významná souvislost mezi přítomností MRD v kostní dřeně měsíc po odstranění primárního tumoru a DFS ($p=0,01$). Zjistili jsme také, že nejenom pozitivita MRD v kostní dřeně měsíc po operaci, ale též nárůst MRD statisticky významně ($p=0,0005$) souvisí s horším DFS. Prognostický význam přítomnosti MRD bude diskutován v samotném sdělení, kdy bude poukázáno na rozdíly mezi jednotlivými vyšetřovanými kompartmenty a použitými markery a na dynamiku MRD vzhledem k DFS.

Detekce MRD u solidních nádorů metodou RT-PCR v reálném čase je relativně novou metodou představující potenciálně účinný nástroj v klinické onkologii, který svým přínosem v oblasti ultrastagingu znamená zpřesnění diagnostiky a následně léčby onkologicky nemocného pacienta. Na přednášce bude diskutován především prognostický význam přítomnosti MRD u pacientů s kolorektálním karcinomem.

Práce na tomto projektu je podporována granty MSM6198959216, IGA MZCR NR/7804-5 a MPO 1H-PK/45.

Identifikácia klinických a molekulárných prediktívnych faktorov k stanoveniu

odpovedi k neoadjuvantnej konkomitantnej chemorádioterapii u pacientov s karcinómom rekta: pilotné výsledky

Garajová I.^{1,5}, Svoboda M.^{1,5}, Slabý O.^{2,5}, Fabian P.², Silák J.³, Šmerdová T.², Knořlíčková D.², Kocák I.^{1,5}, Kocáková I.^{1,5}, Růžičková J.⁴, Hoch J.⁶, Vyzula R.^{1,5}

¹ Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

² Oddělení onkologické a experimentální patologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

³ Oddělení chirurgické onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁴ Klinika radiační onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁵ Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

⁶ Chirurgická klinika 2. LF UK a FNM, Praha

Východiska: Neoadjuvantná konkomitantná chemorádioterapia je štandardnou liečbou lokálne pokročilých nádorov konečníka. Jej cieľom je zredukovať objem nádoru, a tým viesť k radikálnemu, a pokiaľ možno aj k sfinkter-šetriacemu chirurgickému zákroku (1, 2). Neoadjuvantná liečba je založená na súbežnej aplikácii fluoropyrimidínov (5-fluorouracil, kapecitabín) a rádioterapie (45–50,4 Gy). V porovnaní s adjuvantným prístupom má menšiu toxicitu a znižuje incidenciu lokálnych recidív (3, 4, 5). Aj napriek relatívne vysokej účinnosti neoadjuvantnej liečby existuje skupina pacientov, ktorým neprináša benefit a predstavuje pre nich riziko toxicity a oddialenia chirurgického výkonu. Cieľom našej štúdie bolo vytýpať klinické i molekulárne faktory senzitivity a rezistencie k neoadjuvantnej chemorádioterapii.

Súbor pacientov a metódy: Do klinickej časti štúdie bolo zaradených celkovo 170 pacientov s lokálne pokročilým karcinómom konečníka v klinickom štádiu II. a III. Medián veku pacientov bol 59 rokov (v rozmedzí od 29 do 80 rokov). Väčšina pacientov bola mužského pohlavia ($n=124$), 131 pacientov (77%) malo ochorenie v klinickom štádiu III. Preferovanejším chemoterapeutickým režimom bol kapecitabín ($n=137$, 81%) Downstaging v parametre „T“ nastal u 95 pacientov (56%), v parametre „N“ nastal u 94 pacientov (55%). Predoperačnú eleváciu nádorového márkru

CEA sme pozorovali u 58 pacientov (34%), nádorový marker CA 19-9 bol elevovaný predoperačne len v 9 prípadoch. Redukcia chemoterapie bola nutná u 18 pacientov (11%), rádioterapie v 20 prípadoch (12%). Vzdialenosť od anokutánnej línie (AC línia) bola od 1 do 20 cm, celkovo u 61 pacientov (36%) bola po ukončení neoadjuvantnej liečby nutná trvalá stómia. Do štúdie s DNA čipmi bolo zaradených 17 pacientov z vyššie uvedeného súboru. Okrem klinického hodnotení liečebnej odpovedi, bola odpoveď hodnotená aj histopatologicky pomocou TRG (Tumor Regression Grade) podľa Mandarda (6). Pacienti s TRG 1-2 (TRG1 patologická kompletná remisia) boli zaradení do skupiny respondérov a pacienti charakterizovaní TRG 4-5 (TRG5 bez známky regresie nádorových buniek) tvorili skupinu nonrespondérov. Použili sme nízko hustotné oligonukleotidové čipy nesúce sondy pre detekciu 440 génov. K identifikácii génov rozdielne exprimovaných medzi dvoma skupinami pacientov sme použili t-test a metódu SAM (Significance Analysis of Microarrays). Imunohistochemické vyšetrenie expresie studovaných proteínov bolo provedené na podsúbore 72 pacientov.

Výsledky: Ako štatisticky významné stran odpovedi pacienta s nádorom konečníka k neoadjuvantnej chemorádioterapii sme potvrdili tieto klinické parametre: iniciálna veľkosť tumoru, vzdialenosť od anokutánnej línie, redukcia rádioterapie. Ako štatisticky významné stran celkového prežívania pacientov (prežitie do známok progresie (TTP), celkové prežitie (OS), sme potvrdili tieto klinické parametre: grade (TTP i OS), iniciálna veľkosť tumoru (TTP), TRG (TTP), ypN (TTP), downstaging v „T“ (TTP) a v „N“ (TTP), predoperačná hodnota CEA (TTP), predoperačná hodnota CA 19-9 (TTP i OS), pooperačná hodnota CEA (TTP i OS), pooperačná hodnota CA 19-9 (TTP i OS). Ďalej sme identifikovali 8 génov so signifikantne zvýšenou expresiou v karcinómoch rezistentných k aplikovanej chemorádioterapii (RB1, RBBP4, HYOU1, JUNB, MDM4, CANX, MMP2, TCF7L2) a niekoľko proteínov antiapoptických signálnych dráh (EGFR, beta 1 integrín – CD29, MDM4). Pozorovali sme štatisticky významnú závislosť od miery expresie EGFRa dosiahnutým TRG. Pozitívna expresia EGFR bola spojená s horšou odpoveďou k neoadjuvantnej liečbe. Naopak, pacienti, ktorých nádory boli negatívne stran expresie proteínu CD29, lepšie odpovedali na neoadjuvantnú chemorádioterapiu (TRG 1-3). Ďalej sme dokázali štatisticky významnú závislosť medzi mierou expresie proteínu MDM4 a TTP.

Záver: Naše doterajšie výsledky potvrdzujú, že existujú klinické i molekulárne faktory, na základe ktorých je možné predikovať úspešnosť neoadjuvantnej konkomitantnej chemorádioterapie u pacientov s lokálne pokročilým karcinómom konečníka.

Podakovanie: Práca bola podporená grantom IGA MZ ČR NR/9076–4.

Literatúra

1. Rimkus C, Friederichs J, Boulesteix A, et al. Microarray-based prediction of tumor response to neoadjuvant radiochemotherapy of patients with locally advanced rectal carcinoma. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2008; 6: 53–61.
2. Kocáková I, Růžičková J, Kocák I, et al. Role of concomitant chemoradiotherapy in the treatment algorithm for rectal carcinoma. *Cas Lek Ces, Supplement 1*, 2003; 142: 32–35.
3. Sauer R, Becker H, Hohenberger W, et al. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Eng J Med*, 2004; 351: 1731–1740.
4. Kapiteijn E, Marijnen C, Nagtegaal I, et al. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. *N Eng J Med*, 2001; 345: 638–646.
5. Bosset J, Collette L, Calais G, et al. Chemotherapy with preoperative radiotherapy in rectal cancer. *N Eng J Med*, 2006; 355: 1114–1123.
6. Mandard A, Dalibard F, Mandard J, et al. Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of oesophageal carcinoma: Clinicopathologic correlations. *Cancer*, 1994; 73: 2680–2686.

Analýza imunohistochemické exprese EZH2, H3K27 a UTX ve spinocelulárním karcinomu a nenádorovém epitelu děložního čípku

Krčová Z.¹, Ehrmann J.¹, Woodman C. B.², Murray P. G.², Melichar B.³

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

² CRUK Institute for Cancer Studies, University of Birmingham, Velká Británie

³ Onkologická klinika FN, Olomouc

Metylace histonů patří mezi epigenetické mechanismy, které se podílejí na aktivaci a represi genů. Poslední poznatky o enzymech metylujících lyzinové zbytky histonů svědčí pro jejich vliv na karcinogenezi. Polykombinovaný represivní komplex 2 (PRC2) je jedním z hlavních enzymů podílejících se na metylaci lyzinu 27 na histonu H3 (H3K27). Obecnou biologickou funkcí PRC2 je tlumení transkripce genů („silencing“) podílejících se na diferenciaci. Komplex se skládá ze čtyř podjednotek s katalytickým místem v EZH2 podjednotce, která funguje jako chromatin modifikující enzym. Metylační stav H3K27 transkripčních míst je výsledkem dynamic-

ké rovnováhy mezi funkcí metylázy PCR2 a nedávno objevenými demetylázami UTX a JMJD3 a je podmíněný koncentrací enzymů v místě cílového genu. Metylační stav H3K27 může být v diferencovaných fibroblastech kontrolován demetylázou UTX.

Cílem této studie byla analýza exprese proteinů EZH2, H3K27 a UTX pomocí nepřímé imunohistochemické metody v tkáňových mikroerejiích (TMA) sestávajících ze 48 invazivních spinocelulárních karcinomů děložního čípku a z 10 vzorků nenádorového epitelu.

Předběžné výsledky ukazují výrazně zvýšenou nukleární expresi EZH2 ve spinocelulárních karcinomech oproti nenádorovému epitelu děložního čípku. Nukleární exprese H3K27 byla výrazně vyšší v nenádorové tkáni oproti karcinomu, stejně jako v případě UTX. Tyto výsledky naznačují možnou významnou účast demetylázy JMJD3. Demetyláza UTX se u karcinomu děložního čípku pravděpodobně nebude výrazněji podílet na metylační rovnováze. Dále bylo zjištěno, že u nenádorového i nádorového epitelu je exprese EZH2 vyšší zejména v bazální části epitelu, exprese H3K27 nevykazuje topografickou variabilitu. UTX je v bazální vrstvě negativní, zatímco ve vyšších vrstvách nenádorového epitelu se objevuje výrazná exprese.

Práce byla podpořena granty MSM 6198959216 a Cancer Research UK.

7. Nádorová genomika a proteomika*

*Tato sekce je organizována a garantována projektem Centra nádorové proteomiky LC07017.

Proteomické technologie v medicíně: staré prohry a nová vítězství

Svatoš A.

Mass Spectrometry Research Group, Max Planck Institute for Chemical Ecology, Jena, Germany

Proteomika, založená na kombinaci hmotnostní spektrometrie a rozsáhlých databází s informacemi o sekvenci genů, způsobila od poloviny devadesátých let minulého století velká očekávání a optimizmus, který postupem času vyprchal a nastal návrat k realitě. Při aplikacích proteomických technologií v medicíně jsou zřetelné jejich zásadní problémy. Hledání nových biomarkerů se stalo černou mýrou pre-

devším ve firemním světě a řada firem uzavřela před cca dvěma lety svá proteomická oddělení. Tehdejší technologie nebyly schopné se vyrovnat se složitostí lidského proteomu a jeho dynamickým rozsahem. Efekt „špičky ledovce“ kdy lehce identifikované proteiny zaplňují databáze proteomů, je za současných poměrů těžko řešitelný. Zajímavé proteiny, jejichž přítomnost může indikovat začínající onemocnění, se vyskytují v řadově nižších koncentracích a nové metody k jejich vylovení z proteomického moře jsou velmi technologicky náročné.

V současnosti bylo dosaženo velkého pokroku pomocí vyspělých hmotnostně-spektrometrických a separačních technologií a inteligentního vedení analytického experimentu, podpořeného novými způsoby prohledávání proteomických a genomických databází. To umožnilo identi-

fikaci velké části proteinů (66% z 6600 ORF) v pekařských kvasnicích (2). Vyspělé metody molekulární histologie vyvíjené na Vanderbilt University v USA (1) již dnes pomáhají při určování druhu rakoviny v biopsích a k cílené volbě vhodné chemoterapie. Proteomické technologie jsou rozšířeny vývojem a použitím protilátek proti veškerým proteinům v lidském těle, obsáhlý projekt ze Stockholm University (3).

Proteomika se jistě stane důležitou součástí nových léčebných postupů a individuální medicíny, ale stále potřebuje čas na vyřešení mnoha svých potíží.

Literatura

1. Caprioli et al. *Nature Meth.* (2008) 5, 57.
2. Mann et al. *Nature* (2008) 455, 1251.
3. Uhlen et al. *Nature Biotech.* (2008) 26, 146.

Proteomické přístupy ke studiu nádorových onemocnění

Skalníková H.

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., Liběchov

Rozvoj vysoce účinných separačních metod, citlivých analytických přístrojů, genomiky a bioinformatiky vedl ke vzniku nového vědního oboru „proteomika“. Proteomika zkoumá biologické jevy na úrovni proteinů a umožňuje tak sledovat konečné funkční a regulační molekuly, které mají rozhodující vliv na fenotyp buňky a organismu. Proteiny podléhají různým posttranslačním modifikacím, které určují jejich aktivitu a lokalizaci v buňce. Tyto jevy nemohou být pozorovány a spolehlivě předpovíány na úrovni DNA/RNA. Nádorová proteomika umožňuje hledat rozdíly mezi normálními a nádorovými buňkami, sledovat účinek protinádorových léků na molekulární úrovni a také identifikovat potenciální diagnostické, prediktivní a prognostické biomarkery v tělních tekutinách. Nalezené proteinové molekuly mohou pak sloužit jako cíle pro vývoj nových protinádorových léčiv (např. inhibitorů enzymatické aktivity proteinu).

Dnes již klasickou metodou pro separaci proteinů je dvojrozměrná gelová elektroforéza, kdy jsou proteiny děleny v gelu nejprve podle svého izoelektrického bodu, a následně podle molekulové hmotnosti. V poslední době se pro separaci peptidů a proteinů velmi často používají jedno i více rozměrné chromatografické techniky. K identifikaci proteinů, případně i k jejich kvantifikaci, se využívá hmotnostní spektrometrie. Specifický protein nebo i některé jeho posttranslační modifikace lze detekovat pomocí protilátek za využití technik imunoblotu, imunocytochemie, ELISA nebo mikročipů.

V této přednášce budou zmíněny proteomické metody, které se stále významněji uplatňují ve výzkumu nádorových onemocnění.

Podpořeno grantem MŠMT LC07017 a výzkumným záměrem AVOZ50450515.

Proteomická studie mechanismů chemorezistence T-lymfoblastické leukemie k inhibitorům cyklin-dependentních kináz

Martinková J.^{1,4}, Skalníková H.^{1,4}, Halada P.², Novák P.², Hrabáková R.^{1,4},

Džubák P.³, Hajdúch M.³, Dziechciaruková M.³, Kovářová H.^{1,4}

¹ Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR v.v.i.

² Mikrobiologický ústav AV ČR v.v.i.

³ Univerzita Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc

⁴ Společná proteomová laboratoř, Praha

Cyklin-dependentní kinázy (CDK) jsou klíčovými regulačními molekulami buněčného cyklu, diferenciaci a apoptózy. Jejich deregulace, ke které dochází v řadě nádorových buněk, vedla k vývoji farmakologicky aktivních inhibitorů CDK. Syntetické inhibitory CDK na bázi trisubstituovaných derivátů purinu specificky inhibují CDK rodinu kináz a představují tak novou generaci potenciálních protinádorových léčiv.

Vznik chemorezistence k protinádorovým léčivům je jednou z hlavních překážek v úspěšné léčbě rakoviny. V této proteomické studii byla použita ke studiu vývoje chemorezistence k farmakologicky aktivnímu inhibitoru CDK lidská linie buněk CEM T-lymfoblastické leukemie jako model hematologické malignity. Dlouhodobou kultivací senzitivních CEM buněk v subletálních dávkách inhibitoru CDK byla odvozena rezistentní linie CEM buněk (CEM-R). K identifikaci proteinů, jejichž hladiny byly významně rozdílné mezi rezistentní a senzitivní linií buněk, bylo použito diferenční proteinové mapování pomocí dvourozměrné kapalínové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Mezi jinými byly nalezeny změny izoform histonů H4 a H2B, které ukazují na regulaci na úrovni struktury chromatinu při vývoji chemorezistence. Mezi dalšími proteiny, které mohou významně přispívat k rozvoji chemorezistence T-lymfoblastické leukemie k inhibitoru CDK, byly identifikovány hsp70/hsp90 organizing protein (hop), Y box-binding protein 1 (YB-1) a Rho GDP disociační inhibitor 2 (Rho GDPDI2). Kvantitativní proteomická data byla ověřena pomocí imunodetekce a studiem subcelulární lokalizace proteinů.

Širší validace těchto proteinů u dalších modelů nádorových onemocnění představuje zajímavou možnost identifikace potenciálních prognostických biomarkerů odpovídavosti nádorových buněk na protinádorovou terapii.

Podpořeno grantem MŠMT LC07017 a výzkumným záměrem AVOZ50450515.

Identifikace možných cílů chinolonových léčiv metodami hmotnostní spektrometrie.

Rylová G.¹, Džubák P.¹, Špenerová M.¹, Holub D.¹, Hlaváč J.², Hajdúch M.¹

¹ Laboratoř experimentální medicíny při Dětské klinice, LF UP Olomouc

² Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta UP, Olomouc

Syntéza a analýza cytotoxických účinků chinolonových derivátů se v poslední době staly předmětem studia ve vývoji nových protinádorových léčiv. Ve spolupráci s Katedrou organické chemie na Přírodovědecké fakultě UP testujeme chemické knihovny těchto látek v buněčných cytotoxických testech. Byla identifikována řada zajímavých derivátů s cytotoxickými účinky. Jedním z nich je látka 05-0782 s IC₅₀ = 0,77 μM. Pro další optimalizaci účinku léčiva je výhodné znát její cíl. Za účelem jeho identifikace byla připravena biotinylovaná varianta mateřské sloučeniny 05-0782. Takto modifikovanou molekulu jsme imobilizovali na několik typů magnetických kuliček potažených streptavidinem (Dynabeads Streptavidin) a vzniklý komplex jsme inkubovali s proteinovými lyzáty leukemické buněčné linie CEM. Po odmytí nenavázaných proteinů zůstaly na komplexu jen specificky navázané proteiny. Trypsinovou digescí těchto proteinů jsme provedli bez eluce, přímo na imobilizovaném komplexu proteinů s magnetickými kuličkami. Pro identifikaci peptidů ve vzorku jsme zvolili separaci pomocí gradientní kapalínové chromatografie s následnou hmotnostně spektrometrickou analýzou na vysoce kapacitní iontové pasti, LC-ESI. Vyhodnocení výsledků proběhlo pomocí programu ProteinScape. Porovnáním proteinových profilů vzorku 05-0782 a negativní kontroly jsme identifikovali skupinu ribozomálních proteinů jako možných proteinových cílů.

Práce byla podpořena z grantů MSMT 6198959216 a LC07017.

I. SYMPOZIUM O CÍLENÉ BIOLOGICKÉ LÉČBĚ

1. Karcinom prsu

Trastuzumab v adjuvantní léčbě časného karcinomu prsu se zvýšenou expresí HER2/neu – přínos a rizika

Kohoutek M.

Onkologické centrum, KNTB, a.s., Zlín

U nemocných s časným karcinomem prsu je pozitivita receptoru HER2 významným prognostickým markerem. Podle kritérií ze St. Gallenu je HER2-pozitivita důvodem k zařazení nemocné do kategorie vyššího rizika. Nádory s nadměrnou expresí HER2 a/nebo amplifikací příslušného genu se chovají agresivněji, onemocnění dříve a častěji relabuje, přežití nemocných je kratší. V literatuře se uvádí, že HER2-pozitivitu je možno prokázat u více než 20% nově diagnostikovaných karcinomů prsu. Podle zkušeností v České republice tato hodnota dosahuje asi 15%.

Bylo prokázáno, že blokáda HER2 monoklonální protilátkou trastuzumabem významně prodlužuje život nemocných s metastatickým karcinomem prsu. Logickým důsledkem proto bylo zahájení studie s užitím trastuzumabu v adjuvantní léčbě. První průběžné výsledky 4 velkých studií, do kterých bylo zařazeno více než 13 000 nemocných, byly publikovány v roce 2005. Evropská studie HERA hodnotila monoterapii trastuzumabem po ukončení standardní chemoterapie. Ve dvou ramenech bylo hodnoceno podávání trastuzumabu po dobu jednoho nebo dvou let. V rameni s dvouletým podáváním dosud nebylo dosaženo plánovaného počtu příhod a výsledky proto dosud nebyly zhodnoceny. Ve dvou amerických studiích byl trastuzumab podáván po ukončení 4 cyklů kombinace AC společně s paklitaxelem (v týdenním nebo třítýdenním režimu, 12 týdnů) a následně v monoterapii celkem 1 rok. Studie BCIRG 006 měla podobné schéma, jen paklitaxel byl nahrazen docetaxelem a navíc bylo zařazeno rameno bez antracyklinů (docetaxel + karboplatina 6 cyklů + trastuzumab).

Ve všech studiích bylo dosaženo významného zlepšení celkového přežití (OS) i přežití bez známek nemoci (DFS), což dává naději, že vyšší počet nemocných bude vyléčen. Poměr rizik (HR) pro DFS se v těchto studiích pohyboval v rozmezí 0,48–0,63 (0,67 v rameni bez antracyklinů), HR pro OS 0,59–0,66.

Publikované výsledky byly natolik přesvědčivé, že trastuzumab byl rychle zaveden jako standardní součást adjuvantní léčby HER2-pozitivního časného karcinomu prsu.

Pro zhodnocení přínosu adjuvantní terapie, která významně prodlužuje přežití pacientek, jsou obecně důležitá rizika pozdní toxicity této terapie – pro trastuzumab především v oblasti kardiotoxicity. Dle dosavadních výsledků studií se ukazuje, že pozdní toxicita trastuzumabu je nízká – a tedy přijatelná. I když dosud nejsou k dispozici výsledky dlouhodobého sledování nemocných, dostupná data ukazují, že (kumulativní) incidence kardiálních příhod je přijatelně nízká a po ukončení léčby již významně nestoupá. Pozorované poklesy ejekční frakce levé srdeční komory jsou reverzibilní, u většiny nemocných dochází k naprosté normalizaci a u značné části je možné i další pokračování léčby trastuzumabem, je-li indikována.

Trastuzumab je standardní součástí léčby všech žen s HER2-pozitivním karcinomem prsu – pozitivita receptoru HER2 je významným prediktivním faktorem efektu této cílené léčby. Vyšetření HER2 je standardní součástí patologicko-anatomického vyšetření každého nově diagnostikovaného a relabujícího karcinomu prsu.

Současné postavení cílené biologické léčby v neoadjuvantní terapii karcinomu prsu

Melichar B.

Onkologická klinika,
LF UP a FN Olomouc

Neoadjuvantní chemoterapie je postupem volby u nemocných s lokálně pokročilým inoperabilním karcinomem prsu. Neoadjuvantní chemoterapie je také stále více používána v léčbě operabilních nádorů, kde rozšiřuje možnosti chirurgické léčby (zejm. umožní prs zachovávací výkon). Základní cíl neoadjuvantní léčby, v rámci multimodální terapie vyléčit nemocnou, je totožný s cílem léčby adjuvantní léčby. Je proto logické, že se v případě neoadjuvantní a adjuvantní chemoterapie používají totožná schémata. V případě karcinomů prsu s vysokou expresí HER-2 je v současné době v adjuvanci postupem volby kombinace s trastuzumabem. Kombinace s tra-

stuzumabem je také považována za standard neoadjuvantní léčby. Nejdůležitějším parametrem, ukazujícím účinnost neoadjuvantní léčby, je procento patologické kompletní odpovědi. Patologická kompletní odpověď je spojena s velmi dobrou dlouhodobou prognosou. U standardních režimů kombinujících antracykliny a taxany se setkáváme s patologickou kompletní odpovědí u 15–25%. V kombinaci s trastuzumabem se u HER-2-pozitivních karcinomů setkáváme s objektivní odpovědí až v 60–70% případů. I když zatím není definován optimální režim kombinace s trastuzumabem v neoadjuvantní léčbě karcinomu prsu, stává se tato kombinace postupem volby v této indikaci.

Optimalizace léčebného postupu u HER2/neu pozitivního metastazujícího karcinomu prsu

Študentová H.

Onkologická klinika LF UP a FN
Olomouc

Trastuzumab je humanizovaná monoklonální protilátka působící na extracelulární doménu HER2 receptoru s tyrosin-kinázovou aktivitou. Trastuzumab prokázal klinickou účinnost u nemocných s HER2/neu pozitivním karcinomem prsu a v současné době je schválený jak pro adjuvantní léčbu, tak u metastazujícího onemocnění. Klinické studie II. a III. fáze u pacientek s metastazujícím karcinomem prsu prokázaly jeho klinickou aktivitu v monoterapii, a také zlepšení přežití u pacientek v 1. linii léčby v kombinaci s chemoterapií. Otázkou zůstává primární a získaná rezistence na trastuzumab, optimalizace selekce pacientek, prevence vzniku rezistence a management pacientek, u kterých dojde během léčby k progresi.

Antiangiogenní léčba jako součást první linie u metastazujícího karcinomu prsu

Palácová M.

Abstrakt nedodán.

Lapatinib – účinná léčba po selhání trastuzumabu

Cwiertka K.
Onkologická klinika,
LF UP a FN Olomouc

Zvýšená exprese receptorů z rodiny receptorů pro epidermální růstový faktor a následná aktivace signálních drah je spojena s agresivnějším chováním karcinomu prsu. Základní léčbou první linie u nemocných s metastatickým karcinodem prsu se zvýšenou expresí HER2 je trastuzumab. Přes tuto léčbu dochází po určité době k progresi nádoru. Lapatinib je duálním tyrosinkinázovým inhibítorem, který blokuje intracelulární doménu receptorů HER1 a HER2. Lapatinib inhibuje i zkrácenou formu receptoru p95, která je trastuzumabem neovlivnitelná. V experimentu bylo

prokázáno, že jeho účinek není závislý na funkci PTEN ani na expresi hormonálních receptorů.

Lapatinib byl registrován nejdříve v USA a později i v zemích EU na základě studie fáze III, která srovnávala kapecitabin v monoterapii s kombinací kapecitabinu a lapatinibu (EGF 100151) v léčbě nemocných s metastazujícím karcinodem prsu se zvýšenou expresí erbB2, předléčených antracykliny, taxany a trastuzumabem. Primárním cílem této studie byla doba do progresu. Kapecitabin byl podáván v dávce 2000 mg/m²/den po dobu 14 dní s následnou týdenní přestávkou, lapatinib v dávce 1 250 mg denně. Léčba byla prováděna do progresu nebo do nepřijatelné toxicity. Do studie bylo zařazeno celkem 399 nemocných. Medián doby do progresu byl 27 týdnů v kombinovaném režimu oproti 18,6 týdne u nemocných léčených samotným kapecitabinem. Studie rovněž

prokázala nižší výskyt mozkových metastáz ve skupině nemocných léčených kombinací s lapatinibem. Léčba byla všeobecně dobře tolerovaná. Nejčastějšími nežádoucími projevy byly průjemy, „hand-foot“ syndrom, nauzea, zvracení a únava. Zvýšenou pozornost je třeba věnovat vzestupu hladin transamináz a bilirubinu. Výskyt významné kardiotoxicity byl vzácný (1,6 %). Obdobné výsledky byly dosaženy i v rámci programu LEAP (Lapatinib Expanded Access Program), do kterého nábor v České republice probíhal od února 2007 do září 2008.

Závěr: Lapatinib je účinným lékem u nemocných s metastazujícím karcinodem prsu se zvýšenou expresí HER2, které byly předléčené taxany, antracykliny a trastuzumabem. Je účinný i u nemocných s mozkovými metastázami. Z dosavadní klinické zkušenosti lze konstatovat, že má přijatelný profil toxicity.

4. Karcinom ledvin

Současné možnosti chirurgické léčby nádorů ledvin

Študent V.
Urologická klinika FN a LF UP Olomouc

Úvod: Renální karcinom představuje asi 2–3% všech karcinomů. Jeho vyšší incidence je ve vyspělých zemích. A bohužel Česká republika má dlouhodobě světový primát v nejvyšší incidenci karcinomu ledvin na světě. V roce 2005 byla incidence 27/100 tis. obyvatel a mortalita 11,3/100 tis. obyvatel. Chirurgická léčba je stále zlatým standardem kurativní léčby adenokarcinomu ledviny.

Materiál a metoda: Zhodnocení současných možností chirurgické léčby. Zachování onkologické bezpečnosti nově zaváděných chirurgických výkonů, jejich vliv na kvalitu života a morbiditu.

Výsledky: Léčba lokalizovaného karcinomu ledviny T1-2. Zlatým standardem je radikální nefrektomie. V případě tumoru horního polu ledviny >7 cm, kdy bývá častější postižení nadledviny, je indikována současně i adrenalectomie. Není prokázán benefit předoperační embolizace krvácejícího tumoru. Extenzivní lymfadenektomie není považována za terapeutický standard.

Nephron-sparing surgery – standardní indikace lze rozdělit následovně:

- **záchovné - absolutní**
- solitární ledvina
- oboustranné tumory
- systémové nemoci

- **záchovné – elektivní (tumory <4 cm)**
- přednosti – zachování více funkčního parenchymu
- rizika recidivy 1–2%
- náhled nemocného.

Laparoskopická radikální nefrektomie v rukách zkušeného operátora se zachováním onkologických principů otevřené rad. nefrektomie je považován rovněž za zlatý standard chirurgické léčby lokalizovaného karcinomu ledviny.

Laparoskopická parciální nefrektomie ve zkušených rukách je alternativou otevřené nephron-sparing surgery, její indikace jsou periferně uložené malé tumory. Při větších tumorech či jejich centrálním uložení její nevýhodou je delší doba dočasné ischemie a větší počet komplikací při srovnání s otevřenou operativou.

Alternativní metody: Radiofrekvenční ablace (RF), kryoablace, mikrovlnná ablace apod. – indikací jsou malé léze u starších lidí, u pacientů s genetickou predispozicí pro multiplikované tumory.

Nevýhody: chybí histologické ověření tumoru. Dosud však chybí výsledky studií srovnávající výsledky alternativních metod.

Chirurgická léčba metastatického adenokarcinomu ledviny

Nefrektomie pro tumor ledviny je kurativní jen v případě, pokud je odstraněna všechna nádorová tkáň. Pro většinu pacientů s metastatickým postižením je nefrektomie jen paliativním výkonem a je nezbytná další systémová terapie.

Resekce metastáz: Kompletní odstranění metastázy je indikováno pokud je toto technicky možné a pacient je v dobrém klinickém stavu. Kompletní odstranění metastáz zlepšuje klinickou prognózu.

Závěr: Chirurgická léčba karcinomu ledviny zůstává základní a stále neúspěšnější léčbou karcinomu ledviny. Miniinvazivní operační přístupy mají srovnatelné onkologické výsledky jako otevřené výkony s výraznými benefity pro nemocné.

Algoritmus léčby metastatického karcinomu ledviny

Melichar B.
Onkologická klinika,
LF UP a FN Olomouc

V posledních několika letech jsme svědky významného pokroku v léčbě metastatického karcinomu ledviny. Karcinom ledviny je onemocněním rezistentním na cytotoxické léky a donedávna měly reprodukovatelnou (i když omezenou) účinnost v léčbě tohoto nádoru pouze 2 léky – interferon-alfa a interleukin-2. Z těchto dvou cytokinů bylo pouze použití interferonu-alfa založeno na průkazu zlepšení přežití v randomizovaných studiích, zatímco registrace interleukinu-2 v této indikaci byla podpořena pouze dlouhotrvající kompletní odpovědí u malé části pacientů.

Na základě studií proběhlých v předchozích několika letech je v současné době zřejmé, že inhibitory tyrozinových kináz (sunitinib a sorafenib) jsou účinné u nemocných po selhání léčby cytokiny, ale i v první linii metastatického onemocnění. Ukazuje se i účinnost léků cílených na inhibici molekuly mTOR (mammalian target of rapamycin), zejm. temsirolimu a everolimu. V randomizované studii byla ve srovnání s interferonem-alfa, prokázána vyšší účinnost sunitinibu (delší doba do progresu i celkové přežití) a temsirolimu (u nemocných se špatnou prognózou). Nadějně výsledky pilotních studií s bevacizumabem, monoklonální protilátkou proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru (VEGF) v monoterapii vedly k iniciaci randomizovaných studií, ve kterých byla v první linii léčby metastatického onemocnění dosavadní standardní léčba (in-

terferon-alfa) kombinována s bevacizumabem a srovnávána s monoterapií interferonem-alfa. Bylo prokázáno významné prodloužení doby do progresu i trend prodloužení celkového přežití (z pohledu analýzy celkového přežití nebylo zatím dosaženo dostatečného počtu událostí) při kombinované léčbě. Prodloužení doby do progresu bylo významné u nemocných s příznivou i intermediární prognózou, účinnost kombinace byla dokonce zachována i v případech, kdy bylo nutné provést redukcí dávky interferonu-alfa. V první linii byla tedy v randomizovaných studiích prokázána významně vyšší účinnost sunitinibu nebo kombinace bevacizumabu s interferonem-alfa ve srovnání s monoterapií interferonem-alfa. Tento pokrok vedl ve většině vyspělých zemí téměř k opuštění léčby interferonem-alfa, který byl dosud uznávaným celosvětovým standardem. Molekulárně cílená

léčba se tak stává postupem volby v první linii léčby metastatického karcinomu ledviny. Další studie začínají definovat i postup po selhání první linie cílené léčby. V randomizované studii bylo prokázáno významné prodloužení doby do progresu při podání everolimu u nemocných po selhání sunitinibu a sorafenibu.

Zavedení biologické léčby mění metastatický karcinom ledviny z onemocnění s rychlým fatálním průběhem na chronické onemocnění. Vystává tedy otázka optimalizace algoritmu léčby, který by maximálně využil potenciál všech účinných léků. Na základě dostupných dat se jako optimální léčba první linie jeví u nemocných s dobrou a intermediární prognózou kombinace interferonu-alfa s bevacizumabem, následovaná v případě selhání sekvenčním podáním nízkomolekulárních inhibitorů tyrozinových kináz a v další linii podáním everolimu.

6. Karcinom hlavy a krku

Cílená biologická léčba u nádorů ORL oblasti – úspěchy a neúspěchy

Pála M.

Ústav radiační onkologie FN Bulovka a 1. LF UK Praha

Souhrnné sdělení mapuje možnosti cílené biologické léčby u nádorů ORL oblasti. Vzhledem k vysoké expresi receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR) a jeho úloze v proliferaci, apoptóze, metastazování, angiogenezi a buněčné diferenciaci, je dnes EGFR nejčastějším zásahovým cílem biologické léčby pokročilého karcinomu ORL oblasti.

V současnosti je standardním léčebným postupem uplatňovaným u lokoregionálně pokročilých ORL karcinomů konkomitantní radiochemoterapie. Simultánní kombinace radioterapie s chemoterapií sice přináší vyšší efektivitu oproti radioterapii samotné, ale to vše za cenu vyšší akutní a pozdní toxicity. Cílená biologická léčba s odlišným profilem toxicity může otevřít nové možnosti v primární i adjuvantní léčbě.

U metastazujících nádorů pak blokátory EGFR jako první zaznamenaly prodloužení celkového přežití v kombinaci se systémovou chemoterapií oproti systémové chemoterapii samotné. Sdělení se rovněž věnuje dalším perspektivním zástupcům cílené biologické léčby a jejímu potencionálnímu začlenění v budoucích léčebných strategiích léčby nádorů ORL oblasti.

Vlastní zkušenosti s cílenou biologickou léčbou u pacientů s nádory ORL oblasti

Holečková P.

Ústav radiační onkologie FN Bulovka a 1. LF UK Praha

Karcinomy ORL oblasti se vyskytují častěji u mužů než u žen. Nejčastějším histologickým typem těchto nádorů je dlaždicobuněčný karcinom (SCC) s různým stupněm rohovění. Na buňkách SCC byl zjištěn výskyt EGFR ve vysokém procentu, a tento receptor může být blokován několika typy látek, z nich u nádorů ORL oblasti je užívána monoklonální protilátka proti EGFR cetuximab (Erbix). Jedinou možnou indikací podání Erbituxu v ČR v současné době je lokálně či lokoregionálně pokročilý neoperovaný SCC ORL oblasti, který je léčen s kurativním záměrem radioterapií (RT). Studie s Erbituxem u metastatického či rekurentního SCC ORL oblasti sice přinesly pozitivní výsledky v kombinaci s cDDP, ale v této indikaci nemá tento preparát v ČR dokončenou registraci.

Dalším preparátem, který je v klinickém zkoušení u SCC ORL oblasti, je panitumumab (Vectibix) – monoklonální protilátka, plně humanizovaná, která je v ČR registrována (stejně jako Erbitux) pro léčbu metastatického kolo- rektálního karcinomu.

Klinickým zkoušením u tumorů ORL oblasti prošel i blokátor tyrosinové kinázy EGFR gefitinib (Ireasa). Výsledky těchto studií v indikaci pro relaxující či metastatický SCC ORL oblasti byly však spíše zklamáním.

Nejvíce zkušeností máme s podáním Erbituxu ve výše zmíněné indikaci.

Oba další zmíněné preparáty jsme měli možnost podávat v klinických studiích.

Erbix je podáván konkomitantně s RT, cLD 70 Gy normofrakcionovaně, a to podle schématu, které bylo použito v Bonnerově studii, tj. 400 mg/m² týden před zahájením RT (tzv. nasycovací dávka) a pak 250 mg/m² qw po dobu RT (tj. celkem 8x).

Nejčastějšími akutními nežádoucími účinky jsou kožní reakce. V ozařované oblasti se jedná o zhoršení radiodermatitidy, a to až na stupeň 4 – deskvamace, krvácení, krusty. Na zbytku těla jde o různé stupně dermatitidy až po akneiformní dermatitidu. Dalším nežádoucím účinkem bývá poškození nehtových lůžek a nehtů. Orální mukozitida se vyskytuje v nej- různějších stupních až do stupně 4 (hodnoceno podle RTOG a podle CTC AE), byť jsme si původně slibovali, že mukozitidy se v takové formě vyskytovat nebudou.

Po ukončení podávání Erbituxu dochází poměrně rychle ke zmírnění akutních nežádoucích reakcí. Vzhledem k poměrně krátké době sledování po ukončené léčbě není možné vyjádřit se o pozdní toxicitě, která je neméně důležitou částí onkologické léčby.

8. Lymfomy

Možnosti diagnostiky a léčby ne-Hodgkinových lymfomů

Papajík T., Procházka V., Indrák K.
Hemato-onkologická klinika
FN a LF UP v Olomouci

Ne-Hodgkinovy lymfomy (NHL) představují 6. nejrozšířenější nádorové onemocnění lidské patologie. NHL nejsou homogenní klinicko-patologickou jednotkou, ale různorodou skupinou neoplazií vznikající nádorovou transformací a následnou klonální expanzí B- a T-lymfocytů nebo vzácně i NK-buněk. Přesné příčiny vzniku většiny NHL nejsou známy, nicméně lymfomy můžeme s určitou nadsázkou pokládat za získanou genetickou chorobu, která vzniká ztrátou, poškozením nebo chybou regulací genů zodpovědných za řízení buněčného cyklu. Diagnostika se podle WHO klasifikace opírá o 5 základních bodů: histologický obraz postižené tkáně, imunofenotyp nádorové buňky, její genetické a molekulárně-genetické změny, charakteristiku fyziologického protějšku nádorové buňky a klinický obraz. Histologický obraz zůstává stále základním kamenem diagnózy NHL. Naprosto nezbytnou součástí vyšetření nádorové tkáně je použití protilátek proti povrchovým antigenům a buněčným proteinům (imunohistochemické metody) a zhodnocení obrazu dvěma nezávislými patologi (dvojitý čtení). Metody molekulární genetiky, mikročipová a proetinová analýza pomáhají upřesnit biologicky odlišné podtypy NHL a poskytují informaci o zásadních změnách v genomu a proteomu nádorového lymfocytu. V poslední době jsme také svědky dramatického pokroku v použití zobrazovacích metod, které umožňují přesné určení stadia lymfomu a postižení jednotlivých orgánů a tkání. Pozitronová emisní tomografie s použitím 2-[fluorin-18] fluoro-2-deoxy-D-glukózy (¹⁸F-FDG) kombinovaná s výpočetní tomografií (PET/CT) je neinvazivní trojrozměrnou vyšetřovací metodou vhodnou k vstupní diagnostice a stážování NHL, stejně tak jako k hodnocení léčebné odpovědi či k ověření relapsu choroby. Moderní přístup k nemocnému s NHL je založen na snaze o poznání individuálního chování „jeho“ tumoru, snaze předpovědět riziko

nedosažení kompletní remise po konvenční terapii, relapsu či krátkého celkového přežití nemocných. Na základě kombinace moderních prediktivních faktorů můžeme pro mladší nemocné zvolit individuálně intenzivní terapii, snížit tak toxicitu léčby u pacientů s níže rizikovou chorobou a na druhé straně zvýšit pravděpodobnost přežití pro nemocné s pokročilým a vysoce rizikovým NHL. Základem léčby většiny nemocných s NHL je chemoterapie. Nicméně nástup cílené biologické léčby založené na monoklonálních protilátkách a její kombinace s chemoterapií (imunochemoterapie) znamenaly významný pokrok v léčbě NHL a znatelně zlepšily prognózu zejména nemocných s CD20+ B-buněčnými lymfomy (až 80% ze všech NHL). Rituximab (anti-CD20 protilátka) ve spojení s režimy obsahujícími antracyklin je standardním přístupem léčby 1. linie u difuzních velkobuněčných (DLBCL) a folikulárních (FL) NHL. Zdá se, že tato kombinace bude přínosem i v léčbě dalších CD20+ NHL. U relabovaných a refrakterních FL, ale i DLBCL byl zaznamenán velmi nadějný efekt ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetanu, protilátky proti CD20 antigenu konjugované s radionuklidem yttria. Tento lék představuje nový směr v terapii nádorů – radioimuno-terapii. Účinek dalších protilátek a nových cílených léků je testován v řadě klinických studií (anti-CD22, anti-CD40, anti-CD80, bortezomib, blokátory bcl-2 proteinu). Díky pokrokům v diagnostice, stážování a zejména novým možnostem biologické léčby se NHL stávají jedním z nejlépe léčitelných a ve stále se zvyšujícímu počtu případů vyléčitelných nádorů lidské patologie.

Podpořeno grantem IGA MZ ČR č. NR/9502-3.

Hodgkinův lymfom jako model vyléčitelného nádorového onemocnění

Raida L., Papajík T.
Hemato-onkologická klinika
LF UP a FN Olomouc

V průběhu šedesáti let se z Hodgkinova lymfomu (HL) stalo nádorové onemocnění s relativně nejvyšší kurabilitou. Intenzifikace primární léčby, cílená radioterapie (RT),

transplantace krvetvorných kmenových buněk (SCT) umožňují vyléčit více než 80% nemocných. Je pravděpodobné, že toto procento nebude současnými standardními prostředky, i přes jejich různé kombinace a snahu o maximální intenzifikaci, již zásadně zvýšeno. Gemcitabinem, analogem cytosinarabinosidu, jako relativně novým cytostatikem, bylo v multicentrické studii dosaženo léčebné odpovědi u 39% předlécených nemocných s rekurentní a/nebo refrakterní chorobou, avšak jeho místo není v léčbě HL zatím jednoznačně určeno.

Klinické úspěchy paradoxně předcházely poznatkům o etiologii a biologii HL. Do poloviny 90. let minulého století byla vedena diskuze o původu Reed-Sternbergových buněk (RSC) a v poslední dekádě je intenzivně věnována pozornost různým transkripčním faktorům a antigenům, jež exprimují, a vlivu okolního mikroprostředí. Byly referovány výsledky prvních studií s imunoterapií zaměřenou buď přímo na antigeny RSC (anti-CD20 /rituximab/, u histologického subtypu modulární lymfocytární predominance, kde je antigen CD20 exprimován přímo na nádorových buňkách, dále anti-CD30 a anti-CD25 protilátky s navázaným radioizotopem nebo toxinem) nebo ovlivňující „podpůrné“ buňky v mikroprostřední HL (anti-CD20 protilátka, rituximab, potlačující B-lymfocyty infiltrující okolí RSC). Touto experimentální léčbou byla v pilotních studiích navozena odpověď asi u čtvrtiny nemocných. V blízké budoucnosti se tedy zřejmě nabízí léčebné možnosti kombinující u nemocných s HL „původní“ standardní a „nové“ imunoterapeutické přístupy, podobně jako je tomu v současnosti u některých nehodgkinských lymfomů (NHL) nebo B-chronické lymfatické leukemie (B-CLL).

Současné postavení a možnosti pozitronové emisní tomografie v diagnostice a hodnocení léčebné odpovědi u nádorových onemocnění

Mysliveček M.
Klinika nukleární medicíny
FN a LF UP Olomouc

Hybridní zobrazování PET/CT s integrovanou pozitronovou emisní tomografií

(PET) a výpočetní tomografií (CT), zavedené do onkologické klinické praxe v nedávné době, poskytuje během jediného vyšetření anatomické i funkční informace. Celotělové PET/CT vyšetření se stává standardní zobrazovací modalitou v diferenciaci maligních

a benigních lézí, v diagnostice, stagingu a restagingu, hodnocení efektu léčby, v detekci relapsu a v plánování radioterapie u stále většího počtu maligních nádorů.

Ve sdělení budou krátce prezentovány principy PET/CT, včetně přípravy pacientů

a provedení vyšetření a dále současné „evidence-based“ indikace v onkologii, výhody a slabiny této modality a trendy jejího dalšího vývoje.

poznámky:

1. Koaktivátory p300 a CBP potencují signalizaci estrogenového receptoru beta v buňkách PC3 odvozených od karcinomu prostaty

Bouchal J.¹, Neuwirt H.²,
Santer F. R.², Culig Z.²

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

² Urologická klinika, Lékařská
univerzita Innsbruck, Rakousko

Úvod: Transkripční koaktivátory p300 a CBP se podílí na vývoji hormonálně nezávislé proliferace nádorů prostaty. Cílem tohoto projektu bylo dále zkoumat význam zmiňovaných koaktivátorů pro transkripci a signalizaci estrogenového receptoru beta (ER-beta).

Materiál a metody: Transkripční testy byly prováděny na buňkách PC3 po transfekci konstrukty ovlivňujícími expresi p300/CBP (expresní vektory a siRNA proti p300 i CBP) a reportérovým vektorem s ERE (gen pro luciferázu pod kontrolou promotoru s estrogen-responzivními elementy). Luciferázová aktivita byla hodnocena po stimulaci ER-beta fytoestrogenem genisteinem, případně po kombinovaném působení s antiestrogeny ICI 182 780 nebo ICI 164 384.

Výsledky: Stimulace ER-beta 1000 nM genisteinem byla dále potencována zvýšenou expresí p300 i CBP v buňkách PC3. Tato stimulace byla inhibována 100 nM ICI 182 780 nebo 1000 nM ICI 164 384. Antiestrogeny nevykazovaly agonistické účinky na ER-beta po modulaci exprese koaktivátorů p300 a CBP. Stimulace ER-beta v buňkách PC3 byla také inhibována po působení specifických siRNA proti p300 a CBP. Obdobně byly testovány i další nádorové linie odvozené od karcinomu prostaty (DU145, LNCaP, LNCaP-abl, C4-2), nicméně luciferázové signály byly velmi nízké, pravděpodobně z důvodu nízké exprese ER-beta.

Závěr: Koaktivátory p300 a CBP, které jsou oba zvýšeně exprimovány v pokročilých stádiích karcinomu prostaty, potencují signalizaci ER-beta, což může mít význam v cílené léčbě pomocí specifických ligandů ER-beta.

Poděkování: Práce byla částečně podpořena granty MSM 6198959216, Aktion 2007 a 2008 (49p6 a 51p19, www.dzs.cz), a cestovními granty od www.uicc.org (ICR-06-041, 2006) a www.oead.at (Ernst Mach, 2007).

2. Sledování léčebné odpovědi při terapii kostních metastáz

Brančíková D., Adámková-Krákorová D.,
Bednařík O., Mechl Z.
KOC FN u sv. Anny, Brno

Bisfosfonáty mají významnou roli v prevenci SRE u pacientů s kostními metastázami. Bylo prokázáno, že Bisfo vedle inhibice osteoklastické aktivity mohou redukovat nádorový růst i přímým protinádorovým účinkem. Markery kostní resorpce odpovídají na léčbu bisfosfonáty rychle a mohou být užitečné pro monitoraci léčby.

I když je použití kostních markerů v klinice velmi nadějně, je stále v současné době explorativní. Jejich nadějnou roli v monitoraci progresu choroby nebo odpovědi na léčbu je nutno dále studovat, ježto jejich použití může představovat nový standard léčebné péče pro nemocné s kostními metastázami.

Materiál a metody:

Pacienti vhodní do studie:

Nemocné s karcinomem prsu s ověřenými kostními metastázami, dosud bisfosfonáty neléčené.

Stratifikace na a) pacientky bez bolestí 16
b) pacientky s bolestmi 12

Výběr markerů

Budou sledovány následující markery kostní přeměny:

CTX – C telopeptid, kolagen typu I, marker kostní resorpce

ICTP – MMP telopeptid, marker kostní resorpce

P1NP – protokolagen typu 1 N terminální propeptid, marker kostní formace

Odběr kostních markerů před zahájením podání BF, za 14 dní, dále měsíčně po dobu půl roku (jednoho roku).

Při vstupu KO + diff + základní biochemie včetně hladiny Ca a P, včetně kreatinin clearance a odpadů Ca a P /24h á 1m

Specifické markery Ca 15-3 + CEA 1x za 3m
Denzitometrie vstupní + za 6m

Klinické vyšetření á 1m (TK, váha, výška, anamnéza, ECOG)

Scintigrafie

Léčba:

Protinádorová: dle typu onemocnění
Radioterapie 10x3 Gy o osteolytických lesí limitovaných na místa bolestivosti

Bisfosfonáty: zoledronová kyselina,
ibadronová kyselina

Výsledky:

Progrese nemoci u 5 pacientů korelovala s opětovným vzestupem markerů P1NP. Pokles hladin koreloval s poklesem intenzity bolesti u 11 symptomatických pacientů, ale při zhoršení scintigrafického nálezu u 4 uz nich došlo i ke zvýšení P1NP, ICTP a CTx.

Předpokládáme, že pokles hladin kostních markerů bude kopírovat účinnost léčby nádorové kostní nemoci.

3. Sledovanie génových polymorfizmov biotransformačných enzymov vo vzťahu k vzniku karcinómu pľúc

Dzian A.¹, Matáková T.², Halašová E.³,
Kulíšková I.⁴, Piovarčí D.⁵, Hamžík J.¹,
Mištuna 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

⁵ Centrum hrudníkovej chirurgie,
ÚTPCH a HCH, Vyšné Hágy

Karcinóm pľúc je pre svoju vysokú incidenciu a vysokú mortalitu celosvetovým problémom. Ročne je u nás diagnostikovaných približne 3000 nových prípadov. Alarmujúci je fakt, že asi len 10% pacientov je indikovaných na primárnu chirurgickú resekciu, ktorá predstavuje jedinú potenciálne kurabilnú liečebnú modalitu. Diagnostikovanie tohto ochorenia je obvykle až v pokročilých štádiách. Paradoxne ide o malignitu, ktorej výskyt by sa dal radikálne zredukovať preventívnymi opatreniami. Klasické skriningové metódy sú málo efektívne. Preto sa hľadajú stále nové spôsoby, ako identifikovať jedincov so zvýšeným rizikom vzniku karcinómu pľúc a poskytnúť im individuálnu prevenciu.

Glutatión-S-transferáza (GSTs) predstavuje superrodinu II. fázy detoxifikačných enzýmov metabolizujúcich xenobiotiká, ktoré katalyzujú reakcie medzi glutatiónom a rôznorodými exogénnymi a endogénnymi elektrofilnými zlúčeninami vrátane mnohých environmentálnych karcinogénov. Najintenzívnejšie študované sú polymorfizmy génov GSTT1, GSTM1, GSTP1. Existuje veľká interindividuálna variabilita v expresii týchto enzýmov, ktorá spôsobuje zmeny ich aktivity prípadne jej úplnú stratu, z čoho možno usudzovať, že ich genetický polymorfizmus môže byť asociovaný s rizikom vzniku nádorových ochorení, medzi ktorými sú v literatúre popisované aj karcinómy pľúc.

Cieľom štúdie typu case-control bolo sledovanie výskytu polymorfizmov génov GSTs a ich kombinácií u pacientov s karcinómom pľúc v slovenskej populácii.

4. Screening PSA – studie a vyhodnocení

Kapustová M., Schneiderka P., Študent V.

OKB, Urologická klinika, FN Olomouc

Úvod: Prostata patrí medzi orgány, ktoré relatívne často postihujú nádorová a pseudonádorová onemocnenia. V prípade karcinomu prostaty (KP) je v súčasnej dobe jednoznačne preferovaným prostatickým špecifickým antigénom (PSA).

Od doby, kedy začal byť PSA široce používaný v diagnostike KP, výrazne vzrostol počet provedených biopsií prostaty. Dôsledkom je vyšší záchyt KP a detekcie časných štádií.

PSA a screening: Karcinóm prostaty, ktorý je diagnostikovaný klinicky, na základe príznakov, väčšinou již prešiel hranice prostaty a rozšíril sa do vzdálených orgánov. Liečba pacientov s pokročilým KP je pak pouze paliatívna a prognóza špatná. Je možné dosáhnout screeningem PSA u mužů prevence?

Screening je definován podle Světové zdravotnické organizace takto: vyhledávací vyšetření, výběrový test zjišťuje osoby nemocné a odlišuje je od osob zdravých. Osoby pravděpodobně nemocné se vyšetřují dále, aby se u nich stanovila konečná diagnóza a po jejím potvrzení se začala adekvátní léčba. Cílem screeningu je snížit mortalitu onemocnění.

Studie KAPROS v Olomouckém kraji: Cílem studie KAPROS I bylo získat urologicko-epidemiologická data mužské populace Olomouckého kraje ve věkovém rozmezí 50–70 let. Projekt KAPROS I probíhal v letech 2004–2005 a byl

zaměřený na prevenci a včasný záchyt nádoru prostaty, výskyt symptomů dolních močových cest a výskyt erektilních dysfunkcí. Tohoto projektu se účastnili i praktičtí lékaři olomouckého kraje. Zřetel byl kladen na změření PSA, vyplnění dotazníků a vyšetření urologem. Bylo rozdáno 2609 dotazníků, zpracováno a hodnoceno 2528. Provedených biopsií 97 z toho 24 pozitivních biopsií. U těchto mužů bylo naměřené PSA v rozmezí $0,7 \geq 10$ $\mu\text{g/l}$.

V letech 2006–2007 se uskutečnil projekt KAPROS II, KAPROS III probíhá od září 2007 dosud (oba projekty jsou podpořeny firmou ABBOTT).

Závěr: PSA je nejvýznamnějším nádorovým markerem pro karcinóm prostaty. V klinické praxi je stanovení PSA snadno dostupným vyšetřením, které vede k detekci klinicky signifikantních karcinómů prostaty, nízkého a tedy potenciálně kurabilního stadia. Ačkoliv PSA není ideálním nádorovým markerem a neexistuje žádná přesná hodnota PSA potvrzující jednoznačně karcinóm prostaty, jeho citlivost výrazně převyšuje ostatní diagnostické vyšetření. Navíc další, od PSA odvozené parametry (PSAD – denzita, PSA-TZ – denzita přechodné zóny, PSAV – velocita, věkově špecifické PSA, volné PSA, PSADT – doubling time), mohou významně přispívat k rozlišení mužů s karcinómom a jinými onemocněními prostaty.

5. Antitumor platinum complexes based on transplatin inhibit human liver microsomal cytochromes P450

Mašek V., Anzenbacherová E., Machová M.¹, Brabec V., Anzenbacher P.¹

¹ Department of Pharmacology, and

² Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University at Olomouc, Czech Republic

³ Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno, Czech Republic

⁴ Laboratory of Biophysics, Department of Experimental Physics, Faculty of Sciences, Palacky University at Olomouc, Czech Republic

Nine forms of human microsomal hepatic cytochromes P450 (CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6,

CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 and CYP3A4) with platinum complexes was studied. Compounds used in this study were cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, transplatin and two transplatin derivatives with alkylamine ligands. Carboplatin did not inhibit the activities; with cisplatin and oxaliplatin, a minor inhibition of CYP2C9 enzyme was seen; cisplatin also inhibited slightly the CYP2B6 activity. As the plasmatic levels of cisplatin obtained in clinical applications are low the effects are most probably not important. On the other hand, transplatin, a clinically ineffective compound, inhibited the CYP2B6 as well as CYP2C9 activities significantly; also, an inhibition of CYP2E1 activity was found with this form of platinum complex. Two new complexes based on the structure of transplatin inhibited CYP activities more strongly reaching nearly a complete inhibition of the respective CYP activities. The IC₅₀ values were found to be below 100 μM indicating that there is a possibility of potential interactions of these transplatin derivatives with drugs metabolized by CYP3A4, CYP2E1, CYP2D6, CYP2C19, CYP2B6, CYP2A6 and CYP1A2 enzymes. Clinically nonsignificant inhibition was found with the CYP2C9 and CYP2C8. This fact indicates a low probability of interactions with drugs metabolized by these CYP enzymes, namely, with warfarin, nonsteroid antiinflammatory agents (as e.g. profenes) or oral hypoglycemics. Hence, the interactions with drug metabolizing human liver microsomal cytochromes P450 with new antitumor agents based on the transplatin cannot be ruled out.

6. Genetic Polymorphisms Glutathione S-transferases in Colorectal Cancer

Matakova T.¹, Sivonova M.¹, Halasova E.², Mistuna D.³, Dzian A.³, Dobrota D.¹

¹ Department of Medical Biochemistry, Comenius University in Bratislava, Jessenius Faculty of Medicine, Slovak Republic

² Department of Medical Biology, Comenius University in Bratislava, Jessenius Faculty of Medicine, Slovak Republic

³ Clinic of Surgery, Jessenius Faculty of Medicine and MFH, Slovak Republic

Aim: To summarize the results of a case-control study focused on genetic polymor-

phisms of selected Phase II metabolizing enzymes (GSTM1, T1, P1) and to investigate the association of these polymorphisms with the colorectal cancer risk among the Slovak population.

Methods: A case-control study with 183 colorectal cancer cases and 422 controls was conducted. DNA was extracted from peripheral blood leukocytes, and the polymorphisms of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 enzymes were determined by PCR-based methods. Association between specific genotypes and the development of colorectal cancer were examined using logistic regression analysis to calculate odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI).

Results: The GSTP1 val/val genotype (OR=2.1, 95% CI: 1.1–4.0, $c^2=9.13$ and $P=2.1$) was associated with an elevated risk. The statistically significant correlation was found also for the combined genotypes of GSTM1 null and GSTP1 valine homozygosity (OR=2.7, 95% CI: 1.1–6.1, $c^2=4.5$ and $P=0.03$).

Conclusion: The genotype of certain metabolising enzymes affects the risk for colorectal cancer. This effect is also important when certain allelic combinations are studied. In the near future, individual risk assessment may be reached by further increasing the number of studies of polymorphisms, combining them with the traditional epidemiological risk factor.

Supported by the Ministry of Education of the Slovak Republic, No. AV4/0013/05, MVTS BII/ČR/SR/UK/06

7. Expresie genu DD3^{PCA3} (DIFFERENTIAL DISPLAY CODE 3) v diagnostice karcinomu prostaty

Pešta M., Klečka J., Holubec L., Topolčan O., Eret V., Chottová-Dvořáková M., Babjuk M., Novák K., Stolz J., Hora M. Univerzita Karlova v Praze Lékařská fakulta v Plzni a FN Plzeň Urologická klinika VFN v Praze, 1. LF UK v Praze

Úvod: Prostatický specifický antigen (PSA) je velice užitečný v časné diagnostice karcinomu prostaty (PCa), ale jeho hlavní nevýhodou je nízká specifita, která vede k velkému množství zbytečných biopsií. Z tohoto důvodu jsou hledány další markery časné diagnózy PCa. Jedním ze slibných je gen DD3^{PCA3}. DD3^{PCA3}

kóduje prostate-specific non-coding mRNA, která je zvýšeně exprimována v prostatických nádorových buňkách ve srovnání s benigní prostatickou tkání. Gen byl poprvé popsán Bussemakerem a kolegy v roce 1999.

Cílem studie bylo zjistit diagnostický potenciál stanovení exprese genu DD3^{PCA3} pro diagnostiku PCa.

Metodika: Stanovení bylo provedeno u tkáňových vzorků od 199 pacientů ze dvou kooperujících pracovišť. Použili jsme jeden bi-optický vzorek pro stanovení exprese DD3^{PCA3} a PSA. Ve skupině bylo 103 pacientů s benigní hyperplazií prostaty (BPH), 12 pacientů s prostatickou intraepiteliální neoplazií (PIN) a 84 pacientů s karcinomem prostaty (PCa). Izolovali jsme celkovou RNA, expresi DD3^{PCA3} a PSA jsme kvantifikovali metodou real-time RT PCR. Sekvence primerů pro PSA a DD3^{PCA3} jsme převzali z publikace Bussemaker a kol. Primery pro DD3^{PCA3} jsme upravili. PCR fragmenty cDNA DD3^{PCA3} a PSA jsme vložili do vektoru pGEM (Promega Corporation) a naklonovali a dále použili jako standardy. Specifitu reakce jsme ověřili teplotní křivkou tání a na elektroforetickém gelu. Výsledky jsme hodnotili zvlášť pro DD3 (Ct) a PSA (Ct) a dále jako poměr DD3^{PCA3}/PSA.

Výsledky: Nalezli jsme statisticky signifikantně zvýšenou hladinu mRNA DD3^{PCA3} (Ct) ve skupině pacientů s PCa ve srovnání se skupinou s benigní hyperplazií prostaty (BPH) $p=0,045$. Také jsme zjistili statisticky signifikantně zvýšenou hladinu mRNA DD3^{PCA3} (Ct) ve skupině pacientů s PCa ve srovnání se skupinou s intraepiteliální neoplazií (PIN) $p=0,023$.

Závěr: Specifita exprese DD3^{PCA3} se zdá být slibná pro časnou detekci karcinomu prostaty a pro diferenciální diagnostiku mezi pacienty s BPH a pacienty s karcinomem prostaty. To může pomoci ve snížení počtu zbytečných biopsií indikovaných právě z nedostatku specifity PSA.

V dalším kroku budeme u skupiny pacientů s BPH hodnotit expresi DD3^{PCA3} ve vztahu ke vzniku karcinomu prostaty.

Práce vznikla s podporou grantu IGA NR/8918-3 a VZ MSM 0021620819.

8. Inzulínu podobný rastový factor 1 (IGF1) a karcinom prostaty

Sivoňová M.¹, Dobrota D.¹, Kliment J.², Pidaničová A.³, Valanský L.⁴, Lachvač L.⁴,

Nagy V.⁴, Petráčková D.⁵, Petrovičová J.⁶, Žemberová E.⁷, Tajtáková M.³

¹ Ústav lékařské biochemie, Jesseniova lékařská fakulta UK, Martin

² Urologická klinika, Jesseniova lékařská fakulta UK a MFN, Martin

³ I. interná klinika LF UPJŠ, Košice

⁴ Urologická klinika LF UPJŠ, Košice

⁵ Ústav experimentální medicíny LF UPJŠ, Košice

⁶ Ústav lékařské informatiky LF UPJŠ, Košice

⁷ RIA laboratorium, Košice

Inzulínu podobný rastový factor 1 (IGF-1) je produkovaný predovšetkým v pečeni a zohráva veľmi dôležitú úlohu pri stimulácii proliferácie buniek prostaty, ako aj inhibíciu apoptózy mutovaných buniek. Biologický účinok IGF1 v cirkulácii aj tkanivách závisí od množstva voľného ligandu. Je známych šesť IGF viažucich proteínov (IGF binding protein, IGFBP). Približne 75–90% IGF1 sa viaže na IGFBP3. Mnohé zo štúdií poukázali na to, že zvýšené hladiny IGF1 a znížené hladiny IGFBP3 sú asociované so zvýšeným rizikom vzniku karcinomu prostaty. Hladiny oboch proteínov sa líšia u jedincov a závisia od rastového hormónu, inzulínu, androgénov, pohlavia, veku, nutričného stavu, pričom hladiny oboch proteínov zároveň podliehajú genetickej kontrole. Cieľom našej štúdie bolo sledovanie plazmatických hladín IGF1, IGFBP3 a ich vzájomného pomeru u 49 pacientov s karcinomom prostaty a 33 zdravých jedincov pomocou RIA metódy. Zistili sme nesignifikantný rozdiel medzi plazmatickými hladinami IGF1 u pacientov s karcinomom prostaty (178,9 ± 79,9 ng/ml) v porovnaní s kontrolnou skupinou (163,1 ± 57,9 ng/ml). Plazmatické hladiny IGFBP3 boli signifikantne nižšie u pacientov s karcinomom prostaty (2286,9 ± 718,1 mg/l) ako u kontrolnej skupiny (2449,1 ± 572,4 mg/l) (p menšie ako 0,05). Vzájomný pomer IGF1/IGFBP3 bol signifikantne rozdielny u oboch skupín (p menšie ako 0,05). U pacientov s karcinomom prostaty aj u zdravých jedincov sa zisťovali hladiny sérového PSA, pričom sme zistili signifikantný rozdiel (p menšie ako 0,01). U pacientov s karcinomom prostaty hladiny sérového PSA pozitívne korelovali s hladinami IGF1 ako aj IGF1/IGFBP3.

Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že IGFBP3 by mohol zohrávať potenciálnu úlohu pri rozvoji karcinomu prostaty a sledovanie

vzájomného pomeru IGF1/IGFBP3 by mohol byť jedným z prediktívnych markerov karcinómu prostaty.

Práca vznikla na základe podpory grantov 2007/45-UK-10, MVTS č. Bil/ČR/SR/UK/06, UK/264/2006, AV 4/0013/05 a VEGA č. 1/4262/07.

9. Génové polymorfizmy enzýmov II fázy biotransformácie a prevalencia karcinómu prostaty

Sivoňová M.¹, Waczulíková I.²,

Matáková T.¹, Dobrota D.¹,

Kliment J. ml.³, Kliment J.³

¹ Ústav lekárskej biochémie, JLF UK, Martin

² Katedra jadrovej fyziky a biofyziky, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky UK, Bratislava

³ Urologická klinika MFN, Martin

Biotransformačné enzýmy, glutatión-S-transferázy (GST) zohrávajú dôležitú úlohu v metabolizme potenciálnych karcinogénov. Niektoré molekulo-epidemiologické štúdie poukázali na možný vzťah medzi polymorfizmami GST a interindividuálnou susceptibilitou ku karcinómu prostaty. Cieľom našej štúdie bolo odhadnúť populačnú prevalenciu génových polymorfizmov GST analýzou skupiny 228 zdravých jedincov vo veku nad 50 rokov a stanoviť frekvencie GST génových polymorfizmov u 129 pacientov s karcinómom prostaty a porovnať ich po štandardizácii na vek s frekvenciami kontrolnej skupiny. Porovnaním zistených frekvencií alel s už publikovanými výsledkami (GSEC projekt) sme nezistili signifikantné rozdiely v pomeroch alel. U pacientov s karcinómom prostaty sme nezistili signifikantné rozdiely v zastúpení vekovo-štandardizovaných frekvencií GST genotypov v porovnaní s kontrolnou skupinou. Napriek tomu, že naša štúdia nepreukázala vzťah medzi genetickými polymorfizmami biotransformačného enzýmu GST a prevalenciou karcinómu prostaty, nemôžeme takúto asociáciu vylúčiť, pretože sila štatistického testovania v našich skupinách bola nízka z dôvodu prirodzene vyššej biologickej variability distribúcie génových polymorfizmov GST v populácii. Potvrdenie takejto asociácie by však vyžadovalo analýzu niekoľko tisíc osôb, čo je veľkosť súboru odhadnutá na zá-

klade variability nami zistených proporcií pre 80 % silu testu a 5 % hladinu významnosti.

Práca vznikla na základe podpory grantov 2007/45-UK-10, MVTS č. Bil/ČR/SR/UK/06, UK/264/2006, AV 4/0013/05 a APVT 51-027404.

10. Vliv přírodních brassinosteroidů na blokaci buněčného cyklu v G1-fázi a indukci apoptózy u lidských nádorových buněčných linií odvozených od karcinomu prsu a prostaty

Steigerová J.¹, Okleštková J.²,

Levková M.¹, Kolář Z.¹, Strnad M.²

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

² Laboratoř růstových regulátorů, PřF UP a Ústav experimentální botaniky AVČR, Olomouc

V současné době je výzkum přírodních látek zaměřen na látky, které by efektivně zastavily buněčný růst a stimulovaly apoptózu nádorových buněk. Znalost mechanismu působení protinádorových léčiv umožňuje optimalizovat používání daného léčiva a navíc navrhnout jeho účinnější deriváty s cíleným účinkem selektivním pro nádorové buňky. Brassinosteroidy (BRs) jsou polyhydroxylové deriváty sterolu, jejichž struktura je blízká živočišným hormonům odvozených od cholesterolu (jako jsou androgeny, estrogeny a kortikoidy u obratlovců; ecdysony u hmyzu a korýšů). BRs představují skupinu nedávno objevených látek s povahou rostlinných hormonů, jejichž spektrum účinku u rostlin je poměrně široké. Přestože molekulární mechanismus BRs není dosud znám, na základě strukturálních motivů těchto látek lze předpokládat, že jejich výrazná cytotoxická aktivita je dána schopností vázat se na steroidní receptory.

V této práci jsme na základě buněčných modelů charakterizovali efekt přírodních BRs – 28-homocastasteronu a 24-epibrassinolidu na buněčný růst, indukci apoptózy a lokalizaci jaderných receptorů pro steroidní hormony. Ke studiu byly použity hormonálně citlivé a necitlivé buněčné linie odvozené od karcinomu prsu a prostaty.

Pomocí MTT-testu byl u mamárních (MCF-7 a MDA-MB-468) a prostatických

(LNCaP a DU-145) nádorových buněčných linií sledován účinek 28-homocastasteronu a 24-epibrassinolidu na buněčnou viabilitu po dobu 6, 12 a 24 h a byla určena koncentrace IC50. Obě studované látky inhibovaly u všech vybraných linií růst buněk a způsobily změny v distribuci buněčného cyklu a hladin proteinů uplatňujících se při jeho regulaci. Pomocí průtokové cytometrie byla zjištěna blokáda buněčného cyklu v G1-fázi po ovlivnění buněk LNCaP, MCF-7 a MDA-MB-468 28-homocastasteronem nebo 24-epibrassinolidem. Tyto změny průběhu buněčného cyklu byly provázeny poklesem inkorporace BrdU, poklesem exprese cyklické D1, sníženou fosforylací pRb a zvýšenou expresí p21Waf1/Cip1 a p27Kip1. Po ovlivnění buněčných linií 28-homocastasterem nebo 24-epibrassinolidem byla pomocí průtokové cytometrie, Western blot analýzy a TUNEL zaznamenána indukce apoptózy. Zejména u buněčné linie LNCaP byly apoptotické změny doprovázené poklesem exprese anti-apoptického proteinu Bcl-2, zvýšením exprese pro-apoptického proteinu Bax, poklesem exprese celkového Bid nasvědčující jeho štěpení a zvýšenou tvorbou aktivních fragmentů caspázy-3, které vznikly štěpením její neaktivní formy. U hormonálně citlivých buněk byly pomocí imunofluorescenčních a separačních metod zjištěny změny lokalizace a exprese androgenového receptoru (AR) a estrogenového receptoru (ER- α , - β) po 12 a 24 h působení testovaných látek.

V této práci jsme prokázali, že BRs modulují signální dráhy proliferace, přežití a smrti buněk. Efekt testovaných přírodních BRs lze přirovnat k antagonistům receptorů pro steroidní hormony. Výsledky by mohly přispět k potenciálnímu terapeutickému využití studovaných látek.

Práce byla podpořena grantem MSM 6198959216.

11. Využití metody FISH při diagnostice maligního melanomu

Uvírová M.¹, Dvořáčková J.², Buzrla P.²

¹ CGB laboratoř, a.s., Ostrava

² Patologický ústav, FN Ostrava

Molekulárně genetické studie ukazují, že maligní melanomy se od benigních lézí liší množením nebo ztrátou specifických

chromozomálních oblastí. Pomocí metody CGH u melanomů byly nalezeny nejčastější delece v oblastech 6q, 8p, 9p a 10q a amplifikace oblastí 1q, 6p, 8q, 17q, 20q a celého chromozomu 7. Na základě těchto studií byla vytvořena kombinovaná sonda Vysis LSI RREB1/LSI MYB/LSI CCND1/CEP 6 (Abbott,

USA), pomocí níž je možno detekovat numerické aberace asociované s diagnózou maligního melanomu na parafínových řezech tkání, fixovaných formalínem. Bylo vyšetřeno 42 vzorků tkání se stanovenou histologickou diagnózou maligního melanomu (10), névu (12) a diagnosticky obtížných lézí, které za-

hrnovaly dysplastické névy, Spitzové névy, epiteloidně vřetenobuněčné névy, modré névy (20). Kombinovaná sonda Vysis LSI RREB1/LSI MYB/LSI CCND1/CEP 6 (Abbott, USA) se jeví jako užitečný nástroj pro upřesnění diagnózy obtížně diagnostikovatelných kožních lézí.

poznámky:



JEDINĚ S NÁMI OSLOVÍTE NEJŠIRŠÍ ODBORNOU ZDRAVOTNICKOU VEŘEJNOST!

Zdravotnické noviny

Výjimečný týdeník pro odborníky ve zdravotnictví a farmacii

Aktuální domácí a zahraniční
zdravotnicko - politické zpravodajství

- Novinky z profesních a oborových organizací
- Legislativní novinky, léková politika
- Odborné a vzdělávací akce, trh práce
- Rozsáhlé diskusní fórum
- Portréty osobností z oboru medicíny
- Právní a ekonomické poradenství



Sestra

Odborný měsíčník pro sestry a ostatní nelékařské zdravotnické pracovníky

- INFORMAČNÍ SERVIS – aktuální zprávy z konferencí a seminářů
- FÓRUM názorů a zkušeností v ošetrovatelství
- AKTUÁLNĚ z českého zdravotnictví
- Příspěvky ZE ZAHRANIČÍ
- Novinky ve VZDĚLÁVÁNÍ a VÝZKUMU
- Užitečné profesní INFO MZ ČR, NCO NZO, ČAS
- Oborově zaměřené přílohy, tradiční přílohy Sestra roku a Kalendář vzdělávacích akcí



www.sestra.cz

domovská stránka moderní sestry

- Aktuální zprávy každý den, výběr ze zahraničních agentur
- Možnost zaslání zpravodajství e-mailem
- Právní a legislativní poradenství, databáze léčiv, Kalendář akcí

Předplacením
tištěné podoby
časopisu
získáte navíc
i přístup
do on-line archivu
článků titulu
SESTRA!



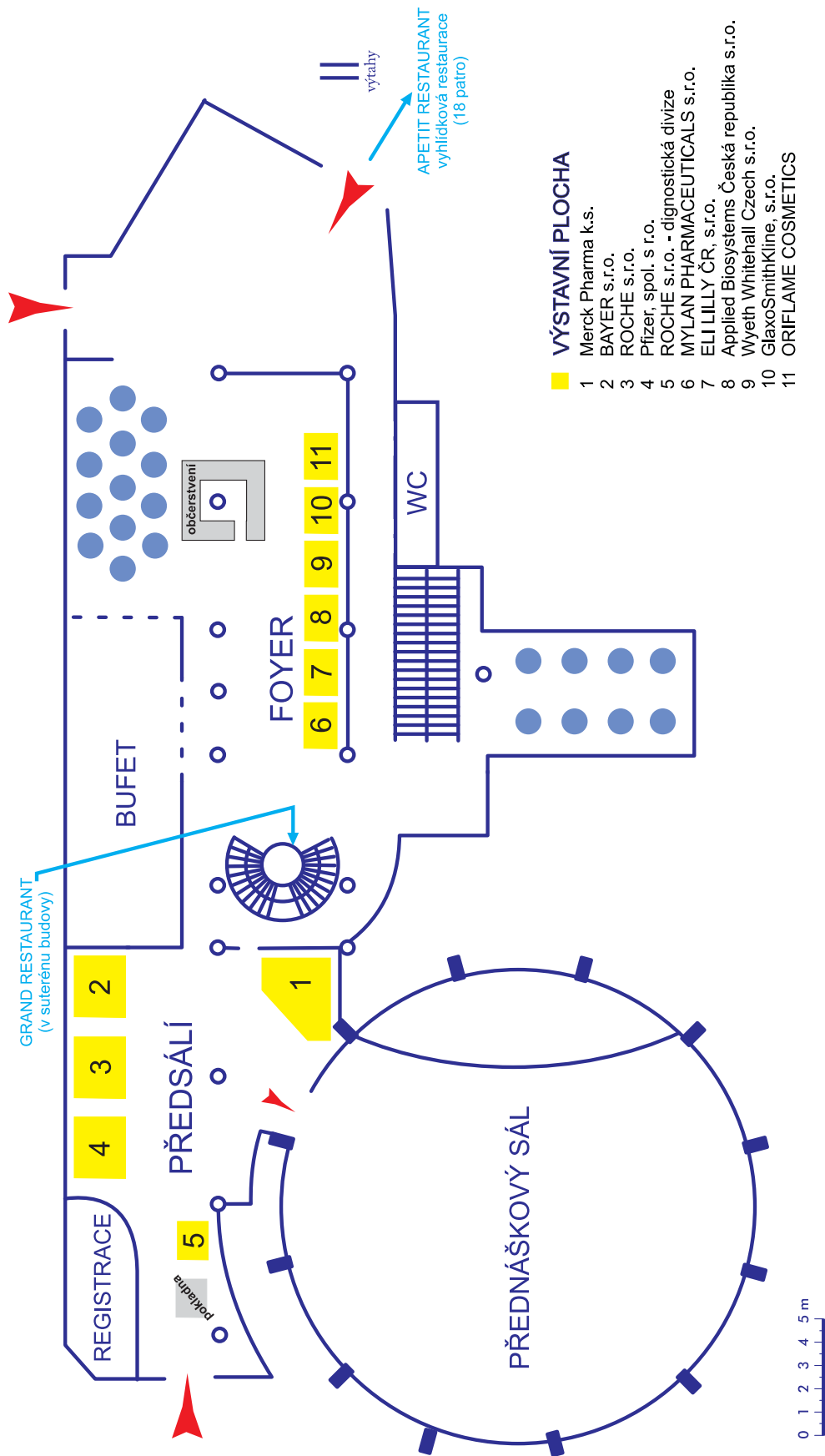
www.zdn.cz

- aktuální zprávy z domova i ze zahraničí, forum
- zaslání newsletteru, on-line databáze léčiv, e-shop s 10% slevou
- profesní novinky, akce, kariéra, soukromá inzerce zdarma
- oborové speciály – ručně tříděné články podle medicínských oborů

Předplacením
tištěné podoby
časopisu získáte
navíc i přístup
do on-line archivu
článků titulů ZDN
a LL od roku 2000!



**Rozmístění vystavovatelů na vzdělávací akci
IV. dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie
I. sympozium o cílené biologické léčbě
26. – 28. 11. 2008 / REGIONÁLNÍ CENTRUM OLOMOUC**



HERCEPTIN® 150 mg

Základní informace o přípravku

- **Účinná látka:** trastuzumabum
- **Držitel registračního rozhodnutí:** Roche Registration Ltd., Welwyn Garden City, Velká Británie
- **Registrační číslo:** EU/1/00/145/001
- **Indikace:** Léčba metastazujícího karcinomu prsu u pacientek, jejichž nádory ve zvýšené míře exprimují HER2 (human epidermal receptor 2): **a)** v monoterapii u pacientek, které byly pro své metastazující nádorové onemocnění již léčeny nejméně 2 chemoterapeutickými režimy; **b)** v kombinaci s paklitaxelem k léčbě pacientek, které nedostávaly předchozí chemoterapii k léčbě metastatického nádorového onemocnění a pro něž léčba antracyklinem není vhodná; **c)** v kombinaci s docetaxelem k léčbě pacientek, které nedostávaly předchozí chemoterapii k léčbě metastatického nádorového onemocnění; **d)** v kombinaci s inhibítorem aromatázy k léčbě postmenopauzálních pacientek s metastatickým karcinomem prsu s pozitivitou hormonálních receptorů, dosud neléčených trastuzumabem. Léčba pacientek s HER2 pozitivním časným karcinomem prsu po chirurgickém zákroku, chemoterapii (neoadjuvantní nebo adjuvantní) a radioterapii (pokud je to relevantní)
- **Kontraindikace:** Pacienti se známou přecitlivělostí na trastuzumab, myší proteiny nebo na některou z pomocných látek. Pacienti, kteří z důvodu komplikací spojených s pokročilým onkologickým onemocněním trpí klidovou dušností nebo vyžadují podpůrnou kyslíkovou terapii.
- **Upozornění:** Stanovení HER2 musí být provedeno ve specializované laboratoři při zajištění dostatečné validace testovacích postupů. Užití samotného Herceptinu je spojeno s určitým rizikem kardiotoxicity, současně podávání přípravku v kombinaci s antracykliny toto riziko zvyšuje. U pacientek, kterým byly antracykliny podávány v minulosti, je riziko kardiotoxicity nižší než při současném podávání. Bezpečnost pokračování léčby nebo opětovného zahájení léčby přípravkem u pacientů s projevy kardiotoxicity nebyla prospektivně hodnocena. Nicméně u většiny pacientů, u kterých došlo v pilotních studiích s přípravkem k rozvoji srdečního selhání, se klinický stav zlepšil po podání standardní léčby. U většiny pacientů se srdečními příznaky a prokázaným prospěchem z léčby se pokračovalo v týdenní terapii přípravkem Herceptin bez dalších klinických srdečních příhod.
- **Klinicky významné interakce:** Studie lékových interakcí u lidí nebyly s přípravkem Herceptin prováděny. Riziko vzniku interakcí se současně užívanými přípravky proto nemůže být vyloučeno.
- **Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky** při léčbě Herceptinem v monoterapii nebo v kombinaci s paklitaxelem byly příznaky spojené s podáním infuzí (obvykle po první infuzi přípravku) - hlavně horečka a/nebo třesavka, méně často nauzea, zvracení, bolest, ztuhlost, bolest hlavy, kašel, závratě, vyrážka, astenie, dušnost; zřídka hypotenze, hypertenze, bronchospasmus, tachykardie, dechová tíseň, angioedém; alergické a hypersenzitivní reakce. Některé z těchto reakcí mohou být závažné. Dalšími častějšími nežádoucími účinky byly bolesti břicha, astenie, bolest na hrudi, třesavka, horečka, bolest hlavy, nespecifikovaná bolest; průjem, nauzea, zvracení, artralgie, myalgie, vyrážka, vypadávání vlasů. Byly zaznamenány izolované případy závažných plicních příhod, které v několika případech vedly k úmrtí pacienta. Tyto příhody mohou být součástí reakcí spojených s podáním infuze nebo k jejich výskytu může dojít později po podání přípravku. U pacientek léčených přípravkem Herceptin byly zaznamenány některé projevy srdeční toxicity jako snížení ejekční frakce a příznaky srdečního selhání, např. dušnost, ortopnoe, zvýšený kašel, plicní edém a třetí srdeční ozva.
- **Dávkování a způsob podání:** Herceptin by měl být podáván pouze pacientkám s nádory se zvýšenou HER2 expresí, nebo pacientkám, jejichž nádory vykazují amplifikaci genu HER2 zjištěnou a vyhodnocenou odpovídající metodou. Léčba přípravkem Herceptin by měla být zahájena pouze lékařem, který má dostatečné zkušenosti s podáváním cytotoxické chemoterapie. Příslušné informace o dávkování a způsobu podání Herceptinu v monoterapii a v kombinaci s paklitaxelem nebo docetaxelem a v adjuvantní léčbě v nasyčovacích a následujících dávkách viz platný Souhrn údajů o přípravku Herceptin.
- **Dostupná balení přípravku:** Herceptin 150 mg, prášek pro koncentrát pro přípravu infuzního roztoku v injekční lahvičce.
- **Podmínky uchovávání:** Při teplotě 2 °C až 8 °C. Po rekonstituci se sterilní vodou na injekce je rekonstituovaný roztok fyzikálně a chemicky stabilní po dobu 48 hodin při teplotě 2 °C až 8 °C.
- **Datum poslední revize textu:** 24.04.2007

Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Léčivý přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění.



Herceptin®

trastuzumab

Precision • Power • Promise



Herceptin je základem péče pro ženy s HER2 pozitivním časným i metastatickým karcinomem prsu

- 1/ Herceptin dává ženám s časným HER2 pozitivním karcinomem prsu **nejlepší šance na vyléčení**
- 2/ Herceptin **prodlužuje přežití** napříč všemi stádii HER2 pozitivního karcinomu prsu.
- 3/ Herceptin **změnil prognózu** žen s HER2 pozitivním karcinomem prsu



KONGRES

s vlídnou tváří

26.-28. LISTOPADU
2008
OLOMOUC

IV. dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie

I. sympozium o cílené biologické léčbě

GENERÁLNÍ PARTNER



HLAVNÍ PARTNER



Bayer HealthCare
Bayer Schering Pharma



PARTNEŘI

Applied Biosystems Česká republika s.r.o.
EGIS Praha, spol. s r.o.
ELI LILLY ČR, s.r.o.
GlaxoSmithKline, s.r.o.

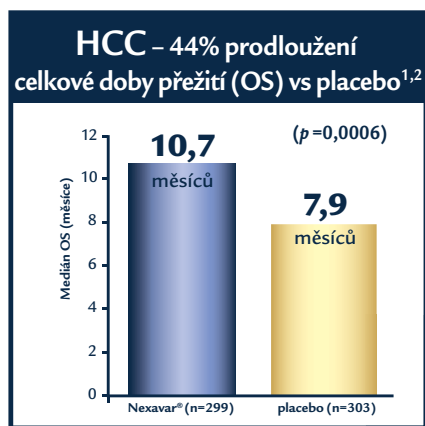
HERO CZECH s.r.o.
MYLAN PHARMACEUTICALS s.r.o.
Swedish Orphan International s.r.o.
Wyeth Whitehall Czech s.r.o.

MEDIÁLNÍ PARTNEŘI

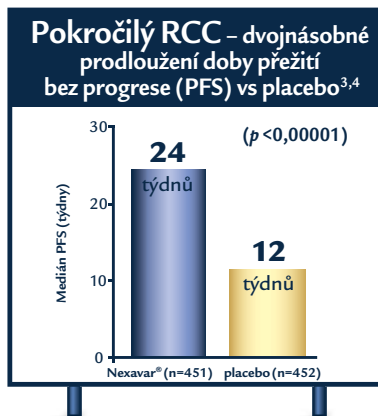


POŘADATELÉ DĚKUJÍ UVEDENÝM FIRMÁM ZA SPOLUÚČAST
NA FINANČNÍM ZAJIŠTĚNÍ A MEDIALIZACI KONFERENCE

Účinnost prokázána u dvou těžko léčitelných nádorů: HCC a pokročilého RCC



HCC – hepatocelulární karcinom



RCC – karcinom ledviny

Kráčejte životem dále



Nexavar®
sorafenib (tablety)

Zkrácený souhrn údajů o přípravku Nexavar 200 mg potahované tablety

Složení: Sorafenibum 200 mg (ve formě tosylátu) v jedné potahované tabletě. **Indikace:** Hepatocelulární karcinom. Pokročilý zhoubný nádor ledvin, u kterého léčba založená na interferonu- α nebo interleukinu-2 nebyla úspěšná nebo je pro něj nevhodná. **Dávkování a způsob podání:** Doporučená denní dávka je 800 mg (dvě tablety po 200 mg 2x denně p.o.). **Kontraindikace:** hypersenzitivita na léčivou nebo pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Po zahájení léčby sorafenibem byla pozorována zvýšená incidence kožních reakcí na dlaních a chodidlech a kožní vyrážka, arteriální hypertenze mírného až středně závažného charakteru, ischemie/infarkt myokardu a krvácivé příhody. Sorafenib by neměli užívat pacienti s těžkým poškozením funkce jater. U pacientů s mírnou, středně těžkou nebo těžkou poruchou funkce ledvin není třeba dávku upravovat. Zvýšené opatrnosti je třeba dbát při současné léčbě warfarinem. Přerušeni léčby se doporučuje u pacientů, kteří podstupují závažný chirurgický zákrok a nebo pokud by došlo k výskytu gastrointestinální perforace, která byla hlášena u < 1% pacientů užívajících sorafenib. **Interakce:** Přípravky snižující aciditu, induktory CYP3A4 a/nebo glukuronizace, inhibitory CYP3A4, substráty CYP2C9, CYP2B6, CYP2C8, UGT1A1, UGT1A9, P-gp, doxorubicin, irinotekan, docetaxel. **Těhotenství a kojení:** Přípravek by neměl být během těhotenství a kojení podáván. **Účinky na schopnost řídit a obsluhovat stroje:** O tom, že by přípravek Nexavar ovlivňoval schopnost řídit a obsluhovat stroje není zatím nic známo. **Nežádoucí účinky:** Nejčastějšími NÚ byly průjem, vyrážka, alopecie a palmoplantární syndrom. Zaznamenané abnormality laboratorních testů: hypofosfatémie, zvýšené hladiny lipáz a amyláz, lymfopenie, neutropenie, anémie a trombocytopenie. **Předávkování:** Není žádná specifická terapie, v případě potřeby je doporučeno zahájit standardní podpůrnou léčbu. **Skladování:** Při teplotě do 25°C. **Balení:** 112 (4x28) tablet v průhledných (PP/Aluminium) blistrech. **Registrační číslo:** EU/1/06/342/001. **Datum registrace:** červen 2006. **Datum revize textu:** duben 2008. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Bayer HealthCare AG, D-51368 Leverkusen, Německo. **Přípravek je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Před předepsáním léku si pečlivě přečtěte úplnou informaci o přípravku.** Další informace získáte na adrese: Bayer Schering Pharma, BAYER s.r.o., Šafaříkova 17, 120 00 Praha 2, tel.: 271 730 661, fax: 271 730 657, www.bayerscheringpharma.cz

*Všimněte si, prosím, změny v informacích o léčivém přípravku.

Reference: 1. Llovet JM et al. Sorafenib improves survival in advanced hepatocellular carcinoma (HCC): Results of a Phase III randomized, placebo-controlled trial (SHARP). Journal of Clinical Oncology, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part 1. Vol. 25, No. 18S (June 20 Supplement), 2007: LBA1. 2. Llovet JM et al. Sorafenib in Advanced Hepatocellular Carcinoma. N Engl J Med 2008;359:378-90. 3. Escudier B et al. Randomized Phase III trial of the Raf kinase and VEGFR inhibitor sorafenib (BAY 43-9006) in patients with advanced renal cell carcinoma (RCC). Journal of Clinical Oncology, 2005 ASCO Annual Meeting Proceedings. Vol 23, No. 16S, Part I of II (June 1 Supplement), 2005: 4510. 4. Escudier B et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. N Engl J Med. 2007;356(2):125-134.



Bayer HealthCare
Bayer Schering Pharma

Nová éra v cílené terapii metastazujícího kolorektálního karcinomu

ERBITUX – nyní registrován v první linii léčby

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 je možné použít v kombinaci s chemoterapií 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. **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 progresse 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: mukositida, radiační dermatitida a dysfagie nebo leukopenie, převážně ve formě lymfocytopenie. **Kožní reakce:** Zahrnují zejména akneformní vyrážku a/nebo poruchy nehtů (paronychium). **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:** 07/2008. 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 mCRC zatím nebylo rozhodnuto.