

**Zpráva o řešení výzkumného záměru
Masarykova onkologického ústavu v Brně
s názvem
Funkční diagnostika zhoubných nádorů
v roce 2005**

Výzkumný záměr MOÚ s názvem FUNKční Diagnostika zhoubných Nádorů (v ústavem používané zkratce FUNDIN) byl na počátku roku 2005 po projednání ve Vědecké radě MOÚ strukturován do tří vzájemně provázaných programů a v jejich rámci do celé řady projektů. Pro každý projekt byl stanoven zodpovědný řešitel. V letních měsících 2005 proběhla dílčí kontrola projektů vedením se zaměřením na specifické technologické podmínky a investiční požadavky, v prosinci 2005 pak obsahová kontrola ve VR MOÚ s referátem o každém jednotlivém projektu.

Při organizaci práce na záměru do programů jsme vycházeli z relativní samostatnosti vývoje laboratorních metodik (*program technologické podpory - PTP*), informační podpory (*program informační podpory - PIP*) a následných klinických aplikací (*program aplikovaných studií - PAS*). Klinické aplikace představují cíl našeho záměru, jehož ideovým základem je ústavní koncepce TRANSIT (Translational Research And New Strategy Implementation Trust), která klade důraz na takové metody, postupy a výzkumná témata, které mohou být průběžně převáděny do praxe. Klinické aplikace jsou organizovány na bázi kooperativních skupin členěných podle diagnostických skupin - mamární (MAKOS - mamární kooperativní skupina), digestivní (DIKOS), gynekologická (GYKOS), urologická (UKOS), melanomová (MEKOS), sarkomová (SAKOS).

Pro každý dílčí projekt výzkumného záměru je vytvořeno samostatné nákladové středisko, což umožňuje velmi transparentní sledování vynakládaných prostředků.

Prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc.
ředitel

Prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.
zástupce ředitele pro rozvoj vědu a výuku

V Brně 9.1.2006

I . Program technologické podpory

Nové metody a nové geny v diagnostice nádorových syndromů (projekt 5711)

Řešitel : MUDr. L.Foretová, PhD

a) Zavedení metody MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification)

V laboratoři OEGN byla v průběhu letošního roku optimalizována metoda MLPA, která umožňuje detekci intragenových přeskupení, zahrnujících celé exony genu. Tato metoda je prováděna na ALF express II automatickém DNA sekvenátoru (Pharmacia). Vzhledem k počátečním problémům při interpretaci fragmentační analýzy na gelovém typu sekvenátoru, byla MLPA analýza, pro ověření výsledků, zavedena také na kapilárním sekvenátoru ABI310 (Applied Biosystems) ve spolupráci s Centrem molekulární biologie a genové terapie v dětské nemocnici Brno. Pro MLPA testování byly vybrány pacientky/pacienti z vysoce rizikových rodin (kriterium I.), u kterých v rámci našeho standardního screeningu nebyla nalezena patogenní mutace v BRCA1 a BRCA2 genech. Doposud bylo pomocí Salsa P002 BRCA1 MLPA kitu (M.R.C. Holland) otestováno 150 vzorků DNA, z toho 9 bylo pozitivních.

Byly nalezeny následující přestavby BRCA1 genu:

- 1) delece exonů 1A+1B+2
- 2) delece části exonu 11+exonu 12,
- 3) delece exonů 21+22 u dvou rizikových rodin,
- 4) delece exonů 18+19 a
- 5) delece exonu 20 v jednom případě,
- 6) delece exonů 5-14 u tří rizikových rodin

Velké delece byly zachyceny u 5,9% původně BRCA1 a BRCA2 negativních případů, což svědčí o významu testování intragenových přeskupení v BRCA1 genu i v budoucnu. V průběhu roku 2006 budou detekované intragenové delece blíže charakterizovány na úrovni DNA a RNA a bude zaveden jednoduchý screeningový PCR test pro testování příbuzných postižených pacientů.

b) Rozšíření spektra vyšetření v laboratoři OEGN

Gen CHEK2

Produkt genu CHEK2 (alternativně CHK2, homolog Cds1 a RAD53) je významnou protein kinázou, která se podílí na regulaci buněčného cyklu. Při poškození DNA je CHEK2 protein kináza významná pro aktivaci celé řady proteinů (mimo jiné také p53, BRCA1), které se podílejí na řízení DNA reparační a apoptózy. V současné době jsou některé mutace v CHEK2 genu popisovány jako nízko penetrantní alely způsobující genetickou predispozici ke vzniku nádoru prsu. Některé studie popisují zvýšenou predispozici ke vzniku nádoru prostaty, plic, ovaria, mozkových nádorů a osteosarkomů.

Výzkumná studie ve spolupráci s Department of Genom Science and Medicine, University of Washington:

V laboratoři OEGN byla provedena PCR analýza přítomnosti delece exonu 9 a 10 CHEK2 genu u 392 nepříbuzných pacientů diagnostikovaných s nádorem prsu nebo ovaria z rizikových rodin s pozitivní rodinnou anamnézou nebo diagnostikovaných v mladém věku (pod 40 let) nebo s duplexním nádorem bez pozitivní rodinné anamnézy.

Delece exonu 9 a 10 CHEK2 genu byla nalezena ve dvou případech:

- i) u pacientky s nádorem prsu diagnostikovaném v 54 letech s pozitivní rodinnou anamnézou
- ii) u pacientky s nádorem prsu diagnostikovaném v 32 letech bez pozitivní rodinné anamnézy

V obou případech se jednalo o pacientky, u kterých nebyla dříve detekována BRCA1 ani BRCA2 mutace. Výše rizika, pro pacientky, kterou jsou přenašečkami delece exonu 9 a 10 CHEK2 genu je v současné době odhadována na 2-4 násobek rizika běžné populace.

Výsledky budou publikovány ve spolupráci s prof. Mary-Claire King (American Cancer Society Professor, University of Washington), kde byla delece exonu 9 a 10 u CHEK2 genu poprvé nalezena u nepříbuzných rodin česko-amerického původu s genetickou predispozicí ke vzniku nádoru prsu.

Výzkumná studie ve spolupráci s Oddělením biochemie a experimentální onkologie 1.LF UK v Praze

Byly poskytnuty vzorky DNA vysoce rizikových pacientů pro výzkumnou studii přítomnosti nízko-penetrantní 1100delC varianty v CHEK2 genu, u kterých nebyla zachycena mutace v BRCA1 nebo v BRCA2 genu. 1100delC varianta CHEK2 genu byla nalezena ve dvou případech:

- i) u pacientky s nádorem prsu z anamnesticky vysoce rizikové rodiny
- ii) u muže s diagnózou karcinomu prsu

Gen DSS1

Gen DSS1 se nachází v komplexu s BRCA2-RAD51 proteinem a pravděpodobně hraje významnou roli v průběhu homologní rekombinace a v reparačních procesech spřažených s rekombinací. V současné době se spekuluje, zda by ztrátové mutace v DSS1 genu mohly vést k nádorové predispozici obdobně jako mutace v BRCA2 genu. Výsledky mutační analýzy DSS1 genu zatím nebyly nikde v zahraničí publikovány.

Výzkumná studie ve spolupráci s Centrem molekulární biologie a genové terapie FN Brno.

Na spolupracujícím pracovišti pod vedením RNDr. Libora Kozáka je prováděno přímé sekvenování genu DSS1 u 100 nepříbuzných pacientek s diagnózou karcinomu prsu a s vysoce rizikovou rodinnou anamnézou karcinomu prsu (bez anamnézy nádoru ovaria) a u 9 pacientů diagnostikovaných s nádorem prsu, u kterých nebyla v laboratoři OEGN nalezena mutace v BRCA1 nebo BRCA2 genu. Výzkumná studie v současné době probíhá, byly optimalizovány 3 PCR a sekvenační reakce, které pokrývají kódující sekvence DSS1 genu. Výsledky by měly být prezentovány na mezinárodní konferenci a publikovány v průběhu příštího roku.

Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC, Lynchův syndrom)

Je nejčastější formou dědičné formy kolorektálního karcinomu. HNPCC syndrom je autozomálně dominantní a příčinou jsou mutace v některém z „mismatch“ reparačních (MMR) genů, které se účastní opravy drobných delecí, inzercí a nukleotidových záměn v DNA sekvenci. Z celkového počtu detekovaných mutací u HNPCC syndromu byly u téměř 90% rodin detekovány zárodečné mutace v MLH1 a MSH2 genu. Dalších téměř 9% zárodečných mutací bylo detekováno u MSH6 genu. Účast jiných genů na vznik HNPCC je pravděpodobně minoritní.

V letošním roce jsme v laboratoři OEGN zvolili PCR primery ke kompletní analýze kódující sekvence MLH1 (19 exonů) a MSH2 (16 exonů) genů, které budou použity k optimalizaci PCR podmínek pro heteroduplexní analýzu a v budoucnu je plánováno převedení na vyhodnocení pomocí senzitivnější DHPLC. Během příštího roku plánujeme také zavedení analýzy MSH6 genu, která se v ČR v současné době neprovádí.

Ve spolupráci s oddělením patologie MOU byla testována imunohistochemická diagnostika proteinů MLH1, MSH2, PMS1 a MSH6 v nádorových blocích, aby bylo možné toto vyšetření zavést jako rutinní screeningovou diagnostiku suspektních HNPCC v tumorové tkáni pacientů s ca kolorekta ve věku pod 50 let.

Publikace:

Lukesova M., Machackova E., Pavlu H., Urbankova V., Kuklova J., Navratilova M., Foretova L.: Results of BRCA1 and BRCA2 mutation analysis in the Czech breast/ovarian cancer patients, European Journal of Human Genetics, Vol 13, Suppl. 1, 2005, p. 198. Abstrakt.

Lukešová M., Foltánková V., Macháčková E., Navrátilová M., Pavlů H., Urbánková V., Kuklová J., Foretová L.: Frekvence výskytu vzácných sekvenčních variant v BRCA1 a BRCA2 genu ve skupině pacientek s rodinnou anamnézou karcinomu prsu/ovária a v kontrolní skupině, XXIX. Brněnské onkologické dny, Brno 26.-28.5.2005. Poster. Edukační sborník str. 63.

Lukesova M., Machackova E., Foltankova V., Navratilova M., Vasickova P., Pavlu H., Urbankova V., Kuklova J., Claes K., Messiaen L., Foretova L.: Differentiating pathogenic mutations from polymorphic alterations in BRCA1 and BRCA2 gene, 2nd Functional Genomics Conference - Functional Genomics and Disease, Oslo 6.-10.9.2005. Poster. Abstract book p. 137.

L Foretova, M Lukesova, P Vasickova, M Navratilova, H Pavlu, J Kuklova, V Urbankova, D Hanouskova, B Dvorackova, E Machackova. Hereditary breast cancer- a spectrum of pathogenic mutations and unknown variants of BRCA1 and BRCA2 genes in the Czech Republic: efficiency of testing and clinical follow-up. Breast Cancer Research 2005, Vol 7, Suppl 2. P. S18-19. Abstrakt.

Kleibl Z, Novotný J, Malík R, Bezdíčková D, Kleiblová P, Foretová L, Krutílková V, Cínek M, Ilenčíková D, Petruželka L, Matouš B, Pohlreich P. Výskyt a význam mutace CHEK2 1100delC u pacientek s karcinomem prsu a v kontrolní skupině zdravých žen v České republice. Klinická onkologie 18, 3, 2005, s. 98-101.

Farmakogenetika (projekt 5712)

Řešitelé : MUDr. D. Valík, MUDr. R. Demlová, MUDr. M. Gálová

Projekt „Farmakogenetika“ se rozvíjel v třech dílčích projektech :

- 1) farmakogenetické aspekty terapie antifoláty
- 2) farmakogenetické aspekty terapie thiopuriny
- 3) farmakogenetické aspekty terapie fluoropyrimidiny

U prvních dvou projektů jsme ve spolupráci s Klinikou dětské onkologie FN Brno vyvinuli „farmakogenetický algoritmus“ v současnosti ověřovaný v klinické praxi – viz publikace. U třetího projektu, který je hlavním projektem tohoto programu v MOÚ, jsme v roce 2005 dosáhli následujících výsledků:

i) stanovení eliminačního fenotypu pacienta po podání 5-FU

Vyvinuli jsme metodu na bázi HPLC pro měření plasmatických hladin 5-FU a jeho dceřinného metabolitu 5-DHFU. Touto metodou jsme v roce 2005 analyzovali plasmatické profily u 68 pacientů léčených protokolem „FUFA/Mayo“ nebo kontinuálním fluorouracilem.

ii) stanovení preterapeutické exkrece přirozených pyrimidinů

Validovali jsme metodu na bázi GC/MS (prováděno ve FNB). Po pořízení příslušné instrumentace (LC/MS/MS) bude lze metodu transferovat do laboratoří MOÚ). Při stanovení přirozených pyrimidinů po analýze několika set normálních profilů v moči jsme nepozorovali významnější interference se stanovením thyminu. K tomuto profilu bude ještě přidána analýza dihydrothyminu, který je markerem deficience enzymu DHP (dihydropyrimidiny), který se dnes také považuje za možnou genetickou příčinu intolerance fluoropyrimidinů

iii) genotypizace genu DHPD

Provedli jsme v laboratořích Onkologickém centru JGM Nový Jičín sekvenaci u 5 pacientů, kde jsme v tomto souboru zjistili mutace v exonech 2,11,18, a 23. Zatím jsme dostupnými metodami nepozorovali shodu mezi genotypem a farmakofenotypem a neidentifikovali pacienta s geneticky podmíněnou intolerancí fluoropyrimidinů

Plán dílčího projektu na rok 2006:

- i) provádět další nábor pacientů,
- ii) finalizovat metody pro rameno II studie a optimalizovat identifikaci pacientů k sekvenaci DHPD podle klinických dat a farmakofenotypizace.

Upřesnění investičního záměru dílčího projektu (viz přiložená žádost o změnu) :

Plánovaný hmotnostní spektrometr „single quadrupole“ pro HPLC bude nahrazen systémem „triple quadrupole“ (v ceně 5 mil Kč, kde 3 mil jsou plánovány ve VVZ a 2 mil jsou žádány z investic MOÚ). Tato instrumentace významně umožní rozšířit detekci molekul o farmakogenetickém významu nejen u fluoropyrimidinů ale i dalších používaných cytostatik (taxany, irinotecan)

Publikace:

Sterba J, Valik D, Bajciova V, Kadlecova V, Gregorova V, Mendelova D.: High-dose methotrexate and/or leucovorin rescue for the treatment of children with lymphoblastic malignancies: do we really know why, when and how? *Neoplasma*. 2005;52(6):456-463.

- Valik D, Sterba J, Bajciova V, Demlova R. Severe encephalopathy induced by the first but not the second course of high-dose methotrexate mirrored by plasma homocysteine elevations and preceded by extreme differences in pretreatment plasma folate. *Oncology*. 2005;69(3):269-72. Epub 2005 Sep 15.

Buněčné kultury (projekt 5713)

Řešitelé : RNDr. L. Hanák, MUDr.V. Foltinová, Mgr. A. Kostečka, I. Němečková

MTT cytotoxický test

(L. Hanák, A. Kostečka, I. Němečková)

MTT testem chemoresistance je v MOÚ již rutinně testován veškerý vhodný resekovaný nádorový materiál. Vhodností je míněn potenciální dostatek vitálních nádorových buněk v nádoru a již realizovaná nebo plánovaná protinádorová chemoterapie. Výsledky MTT testů rozdělené podle nádorových diagnóz jsou tabulkově k dispozici v NIS MOÚ. V současnosti jde již o několik stovek testovaný případů.

V rámci odd. mol. exp. patologie probíhá paralelní testování na materiál bohatých vzorků, v současnosti u 8 vzorků patrné jisté rozdíly v rezistenci/citlivosti a shoda ve výtěžnosti, hodnocení statisticky významného souboru odhadováno na počátek r. 2006.

Ve spolupráci s Klinikou kompletní onkologické péče (odd. B) upravovány tabulky výsledků MTT testů chemoresistance. Pro nesourodost klinických dat bude relevantnost závěrů statisticky hodnocena pouze u výsledků rezistence v MTT testu (nikoliv citlivosti), u každého vzorku podložená mírou reprezentativnosti na základě cytospinové kontroly reprezentativnosti vzorku, nutná konzultace se statistikem. Závěry hodnocení plánovány před koncem r. 2005.

Protinádorové vakcíny na bázi TIL (tumor infiltrating lymphocytes) u melanomu

(L. Hanák, I. Němečková, J. Michálek, J. Smejkalová, P. Vidláková, A. Stejskalová)

V tomto projektu jde před dalším výzkumem klinické účinnosti nejprve o registraci protinádorové vakcíny proti malignímu melanomu u SÚKL. Na základě rozšířených požadavků SÚKL podle harmonizace s normami EU proběhly odběry vzorků maligního melanomu a kultivace jejich TIL u dalších 3 pacientů. Bylo doplněno vyšetření cytogenetické a onkocytogenetické. Rozšířené mikrobiologické vyšetření se v době závěrečné zprávy realizuje. Zároveň byla vyžádána a mikrobiologicky testována plazma alogenních dárců krve pro potřeby kultivace. Termín dalšího jednání se SÚKL je plánován v závěru roku 2005 nebo počátkem roku 2006.

Primokultura a testování nového platinového protinádorového preparátu LA-12

(V. Foltinová, I. Němečková)

V první etapě byly optimalizovány metodiky pro kultivaci buněčných linií explantátů primárních nádorů, hledány různé pracovní režimy a výběr vhodných typů nádorů - kolorektum, mamma, ovárium. Po testovací sérii pěstování primokultur za hodnocení reprezentativnosti vzorků imunohistochemicky v cytospinu byly pro další kultivace shledány jako nejvitálnější nádory ovariální, ať už primární či ascity, s následující bilancí: počet kultivací – 60, přežilo déle než 1 měsíc – 15, pasážováno – 9, zamraženo a hodnoceno cytospinem – 1. Pro získání dalších výsledků je třeba pokračujících kultivací ovariálních karcinomů, počítá se ovšem i s maligním melanomem.

Krátkodobé kultivace primokultur a testování chemorezistence na vybraná cytostatika – cisplatina, oxaliplatina, LA-12 - na stabilní linii HT-29.

Výsledky konzultovány v laboratoři dr. Hajdúcha ve FN Olomouci, jsou dosud nekonzistentní. Další testy plánovány na BFÚ AVČR v Brně.

Prezentace:

Foltinová V. : PLATINOVÝ DERIVÁT LA-12 PŘEKONÁVÁ REZISTENCI BUNĚK HT-29 K CISPLATINĚ , Seminář Biofyzikálního ústavu AV ČR Brno, 2006

Foltinová V : PLATINOVÝ DERIVÁT LA-12 ZPŮSOBUJE APOPTÓZU U BUNĚK KOLOREKTÁLNÍHO KARCINOMU HT-29
XVIII. Dny lékařské biofyziky, Valtice 2006 - poster

Foltinová V : Primokultury a jejich zpracování - rostoucí populace
XXIX. Brněnské onkologické dny, květen 2006 - poster

Foltinová V. : Platinum derivative LA-12 can overcome resistance of HT-29 cells to CDDP
Cell IV, XVIII Biologické dny, České Budějovice 2006 – přednáška

Detekce transkriptů genů vybraných enzymů ve vztahu k léčbě cytostatiky

(projekt 5714)

Řešitelé : RNDr. M. Svoboda, Mgr. Klocová, Mgr. Hrstka

Fluoropyrimidiny

Zjišťovali jsme vztah hladin transkriptů TS,TP, DPD k patologické regresí adenokarcinomu rekta během preoperativní konkomitantní chemoradioterapie s kapecitabinem. Ze souboru 81 pacientů se nám podařilo stanovit hladiny uvedených markerů u 63 pacientů kompletně, tj před zahájením terapie a cca 14 dní po zahájení, a to jak v tumoru tak v kontrolní sliznici. Z těchto pacientů bylo 19 s kompletní remisí nebo s mikroskopickou reziduální chorobou. U ostatních pacientů nejsou výsledky kompletní v důsledku degradace, nízkého výtěžku RNA, nebo v důsledku chybění druhého odběru . Podle výsledků vícerozměrné statistické analýzy PCA (analýza hlavních komponent) byl potvrzen předpoklad, že všechny tři markery by měly být přibližně stejně významné pro predikci. Analýza pomocí ROC křivek ukazuje (v souladu s PCA), že operační body všech tří uvedených markerů mají přibližně stejné hodnoty.

DPD: senzitivita 66% při specificitě 77%

TS: senzitivita 66% při specificitě 77%

TP: senzitivita 66% při specificitě 63%.

S využitím analýzy pomocí klasifikačních stromů bylo dosaženo nejvyšší shody predikce odpovědi s realitou (pro otestování byla použita krosvalidace): celk. přesnost 67,30%, responders přesnost 68,50%, nonresponders spolehlivost 66,70%.

Závěr: uvedené markery fluoropyrimidinového metabolismu by měly být použity pro predikci chemorezistence všechny současně, s využitím klasifikačních stromů. Ani kombinace všech tří markerů nemá však patrně sama o sobě dostatečnou prediktivní sílu. Měly by být použity jako součást panelu dalších markerů. Nové markery v současné době hledáme pomocí oligonukleotidových arrays (viz níže). Důležitou roli v navození chemorezistence hrají i některé microRNA, které by mohly být rovněž zahrnuty do panelu. Hotov článek na dané téma pro JCO, v současnosti předán k anglické korektuře.

Topoizomeráza

(Mgr. Klocová)

Irinotekan se v organismu přeměňuje na aktivní formu SN-38, která je v procesu detoxikace přeměňována na beta-glukuronid pomocí UDP-glukuronosyltransferasy. Polymorfismy (UGT) 1A1, zejména promoterová varianta UGT1A1*28 je odpovědná za ADR vůči

irinotekanu. Mgr. Klocová v současné době stanovuje RFLP polymorfismy UGT1A1*7,*6,*27,*29 s možnou asociací k přecitlivělosti a rezistenci na irinotekan. Testovala retrospektivně 27 pacientů na přítomnost alely *27 pomocí RFLP. Připravuje si podmínky pro sekvenování *28.

MicroArrays

(Mgr. Hrstka, RNDr. Svoboda)

Existují rozdíly v genové expresi mezi respondery a nonrespondery u konkomitantní chemoradioterapie s Kapecitabinem. Byly nalezeny rozdíly např. u PPARD, RB1, CCT5, což je v souladu s literaturou. Jedná se o geny asociované s několika metabolickými dráhami. V současné době ověřujeme výsledky získané pomocí arrayí metodou RealTime RT PCR. Pokud budou konzistentní, rádi bychom některé markery zařadili do panelu prediktivních faktorů dle záměru Fundin-TS,TP,DPD. Předběžné výsledky byly prezentovány na mezinárodní konferenci o tumor. metabolismu v Janově:

Publikace :

Svoboda M., Kocakova I., Smerdova T., Penka I, Seř R., Svoboda M.,Vyzula R., Zaloudik J., Nenutil R. : Pathway Specific Gene Expression Profiles of Rectal Adenocarcinomas before and after Starting Preoperative Chemoradiotherapy. 2nd Annual International Tumor Metabolism Summit, Genova, October 7-8, 2005, Italy.

Patologie nádorů (projekt 5715)

Řešitel :MUDr.R.Nenutil,PhD

Banka biologického materiálu

Pokračuje sběr vzorků již jako rutinní součinnost operačních oborů a oddělení patologie. V roce 2005 získáno dalších zhruba 700 tkáňových vzorků nádorů a 550 sér onkologických pacientů (cca 120% 2004). Realizovány výběry a příprava materiálu: SELDI studie (ledviny), sestava 100 ca mammy s normální tkání (pro IGA – dr. Vojtěšek), včetně přípravy arraye z parafinového materiálu.

Probíhají úpravy modulu BBM v NIS GreyFox, je zavedena lepší vazba na klinické parametry a evidence sekundárních materiálů (lyzáty)

Zvládnuta technologie „tissue arrays“, aplikace u projektu z programu aplikovaných studií MAKOS, UKOS, DIKOS a další.

Provedeno výběrové řízení na dodavatele dusíkového skladu, realizace dodávky t.č. v gesci obchodního oddělení MOÚ s problémy (není dosud schváleno MZ, ohrožena realizace dodávky před koncem roku)

Laserová mikrodisekce

Testovány dostupné systémy a provedena veřejná soutěž na dodavatele. Realizace dodávky t.č. v gesci obchodního oddělení MOÚ. Ve spolupráci s brněnským pracovištěm AV běží pilotní studie s pokusem o mikrodisekci RS buněk z materiálu m. Hodgkin a metodické pokusy s izolací mRNA a genomové DNA.

Program MMR u HNPPC

Pomocí tissue arrays vypracována a verifikována imunohistologická metodika screeningu mutací MMR u HNPPC. Je připravena k rutinnímu i výzkumnému nasazení.

Detekce receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR)

Bylo zavedeno imunohistologické stanovení overexprese EGFR se standardizovaným semikvantitativním vyhodnocením. Vyšetřeno celkem 68 nádorů s převahou kolorektálních karcinomů, kde se overexprese pohybuje kolem 25%. Další diagnózy vyšetřovány pilotně, jako potenciálně zajímavé se z tohoto hlediska jeví karcinomy plicní, renální (viz rovněž urologický program) a pankreatobiliární. Vytvořena testovací tissue array CRC a RCC. Amplifikace EFGR genu stanovovaná pomocí FISH je otestována a připravena k nasazení do rutinního bioptického i výzkumného provozu. Pilotní vyšetření ve vybraných bioptických případech již běží.

Detekce proteinu p16 u cervikální intrapiteliální neoplasie (CIN)

Validována možnost efektivního průkazu p16 a izolace DNA z kartáčkových stěrů, probíhá nabírání materiálu.

Detekce nádorové neoangiogeneze

Metodicky zvládnuto, realizace v programu aplikovaných studií (viz DIKOS a GYKOS)

Průtoková cytometrie (projekt 5716)

Řešitelé : Mgr. L. Dubská, PhD, MUDr. Dalibor Valík, MUDr. Tomáš Frgala

Využití flow cytometrie pro

/i/ analýzu stavu imunitního systému (IS) onkologických pacientů na základě imunofenotypizace leukocytů periferní krve (PK) a pro analýzu tělních tekutin a z hlediska

/ii/ reakce IS na nádorovou populaci a

/iii/ detekce cirkulujících nádorových buněk.

- Technicky byla vyřešena *analýza tělních tekutin*, jmenovitě bronchoalveolární a peritoneální laváže.
- *Pro sledování parametrů angiogeneze* doprovázejících onkologické onemocnění se analyzují endoteliální buňky a jejich prekurzory v periferní krvi. Cirkulující endoteliální buňky se hodnotí čtyřbarevnou imunochemickou analýzou na základě exprese endoglinu, adhezivního glykoproteinu S-Endo, negativity na panleukocytární znak a v případě prekurzorů také exprese CD34.
- *V reakci buněk imunitního systému* se sledují NK-T buňky, což je subtyp T-lymfocytů, které exprimují specifický typ TCR receptoru a některé znaky NK-buněk. Sledováním zastoupení těchto lymfocytů se ukázalo, že NK-T buňky jsou ve vyšší míře zastoupeny v periferní krvi pacientů s aktivním onkologickým onemocněním. Dále se blíže sleduje jejich imunofenotyp; převážná většina těchto buněk nese také znak CD8 (cca 60%) v korelaci s celkovým vyšším počtem NK-T buněk, což naznačuje, že právě CD8+NK-T buňky jsou zmnoženy u onkologických pacientů.

Publikace :

- Dubská L, Valík D. NK-T buňky u zhoubných onemocnění: dvě strany téže mince. XXIX BOD, Brno 2005.
- Dubská L., Anděra L., Sheard M.A. HER2 signaling downregulation by trastuzumab and suppression of the PI3K/Akt pathway: An unexpected effect on TRAIL-induced apoptosis. FEBS Letters 579 (2005):4149-4158.
- Cesková P, Dubská L, Hrstka R, Vojtesek B: Isoforms of p73 protein in the regulation of apoptosis: the p53 connection. International Symposium on Translational Research: Apoptosis & Cancer 2005, Trivandrum, India.
- Dubská L, Frgala T, Valík D: NK-T cells are expanded in cancer patients. International Symposium on Translational Research: Apoptosis & Cancer 2005, Trivandrum, India.

Cirkulující VEGF jako potenciální marker anti-angiogenní terapie

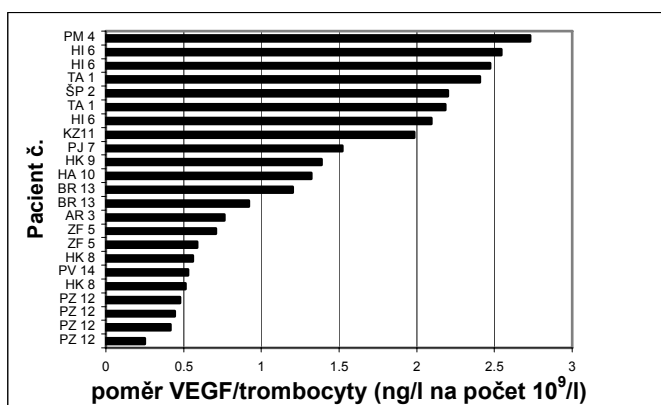
Řešitelé : RNDr.M.Šimíčková, CSc., MUDr.I.Kocáková, MUDr.M.Nekulová, CSc.,
M.Šebelová, L.Andrlová

- Vyšetřování sérového VEGF, důležitého iniciátoru angiogeneze, na souboru nemocných léčených Avastinem bylo provedeno ELISA mikrodestičkovou soupravou převážně z retrospektivního materiálu uloženého v sérové bance. Ověřili jsme, že přídavek Avastinu v koncentraci odpovídající hodnotám v cirkulaci během terapie interferuje při stanovení VEGF – v jeho přítomnosti je cirkulující VEGF blokován. Je tedy možno analyzovat pouze odběry před nasazením léčby. Byla vyšetřena předterapeutické hodnoty sérového VEGF u 14 nemocných zařazených do studie, u 5 nemocných bylo možno analyzovat odběry opakovaně v rozmezí do 12 týdnů před terapií.
- Koncentrace VEGF v séru před terapií se pohybovala v rozmezí 101 – 1008 ng/l, zvýšená hladina (cut-off 500 ng/l) byla prokázána u 4/11 nemocných (36%). Přestože je známo, že sérové hladiny jsou oproti plasmě výrazně zvýšeny o VEGF uvolněné z trombocytů v procesu koagulace, nebyl v našem souboru vztah mezi sérovým VEGF a počtem trombocytů nalezen

U opakovaných předterapeutických vzorků se hladina VEGF v séru, počet trombocytů i jejich vzájemný poměr vykazoval individuální konstantní hodnotu (obr.1).

- Dosud nelze pro velikost souboru i krátký časový interval statisticky hodnotit vzájemný vztah mezi sérovým VEGF a optimální dosaženou odpovědí na terapii při prvním restagingu, nicméně nižší hodnota sérového VEGF (a poměru k počtu trombocytů) v tomto dosud omezeném souboru naznačuje možnost predikce lepší odpovědi. Definitivní závěry může přinést podložené statistické hodnocení na větším souboru. Otevřená zůstává otázka optimálního odběrového materiálu pro analýzu VEGF v cirkulaci..

Obr.1. Poměr koncentrace VEGF v séru a počtu trombocytů v krvi u předterapeutických odběrů jednotlivých nemocných



Proteomika - SELDI (projekt 5717)

Mgr. Š. Helánová-Bořilová

Vývoj nových proteinových „arrays“ umožňujících sledování časných patologických změn orgánů reflektovaných proteomickou mapou séra, popřípadě umožňující odlišení maligního nebo benigního průběhu onemocnění logicky doprovází rozšířené genomické studie. Jednou z nadějných technologií pro hledání nových biomarkerů onemocnění popřípadě budoucí diagnostiku vytypovaných biomarkerů je patentově chráněná metodologie Ciphergen ProteinChip® založená na principu SELDI/TOF hmotnostní spektrometrie.

Metodika odběru vzorků pro SELDI - zkumavky

Řešitelé : Dr. P.Češková, Mgr. Š. Bořilová, Dr. P.Bouchal, Mgr. K. Brožková, Mgr. J. Faitová, Mgr. R. Pilný, MUDr. D.Valík, RNDr. Bořek Vojtěšek, DrSc

Již v počátcích protomických analýz metodou SELI se ukázalo, že typ odběrové zkumavky může mít vliv na výsledky a být zdrojem artefaktů. Tato skutečnost nebyla dosud podrobněji rozpracována ani na ni nebylo upozorněno firmou dodávající aparaturu.

Již v roce 2004 v projektu detekce Her2/neu byly zjištěny rozdíly ve spektrech u odebraného materiálu, mezi zkumavkou Sarstedt Neutrál (bez gelu a aktivátoru) a zkumavkou Sarstedt Sérum-gel-aktivátor (obsahující gel a aktivátor). Měření 20 zdravých pacientek prokázalo rozdíly ve spektrech sér odebraných do různých zkumavek. Spektrum séra ze zkumavky Sérum-gel-aktivátor je prokazatelně o dva vrcholy bohatší než spektrum vzorku ze zkumavky Neutrál. Jedná se o vrcholy 3956,5 a 4282,8 m/z Na základě tohoto zjištění bylo rozhodnuto o změně odběrového systému na MOÚ, provedené k 1.9.2005. V rámci projektu byla navíc zavedena a ověřena metodika statistického vyhodnocování velkého množství SELDI spekter. V současné době se výsledky připravují k publikaci v mezinárodním časopise.

Srovnání proteomických profilů karcinomů ledvin resistantních a senzitivních k chemoterapii in vitro (pilotní metodicko-aplikační projekt)

Mgr. J. Faitová, Mgr. Š. Bořilová, MUDr. I. Čapák, prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.

1. optimalizace lýzy tkáně, použití lyzačního pufru, reprodukovatelnost lýzy na vzorku zdravé tkáně
2. optimalizace pH pro 2 typy proteinových chipů CM-10 (katex) a Q-10 (anex), z použitých pufrů s hodnotami pH 3,4,6,8,9,10 vybráno pH 4 pro CM-10 chip a pH 9 pro Q-10 chip
3. analýza 14 vzorků na obou typech chipů

Získány následující prioritní výsledky:

a) při porovnání skupin rozdělených na zdravou (4 vzorky) a nádorovou tkáň (10 vzorků) nalezeno při

pH 4

9 odlišných píků v proteinovém spektru se statistickou významností $p < 0.01$

při pH 9

14 odlišností v proteinovém spektru se statistickou významností $p < 0.01$.

b) při porovnání skupin chemosenzitivní (5 vzorků) a chemorezistentní (5 vzorků) nádorové tkáně (rozděleno podle výsledků MTT testů)

při pH 4

5 odlišných píků v proteinovém spektru se statistickou významností $p < 0.01$

při pH 9

19 odlišností v proteinovém spektru se statistickou významností $p < 0.01$

Vizuálně nejvýraznější rozdíl při pH 4 v oblasti 12 491 Da a při pH 9 v oblastech 9 625 a 10 630 Da.

4. opakování analýzy zdravá (2 vzorky) versus nádorová (2 vzorky) tkáň s novými vzorky.

Rozdíl v těchto 3 oblastech nalezeny i u těchto vzorků.

5. Analýza přítomnosti proteinů p53, MDM-2 a p21 u těchto vzorků metodou western blot. Žádný z proteinů nebyl detekován.

..

Proteomická SELDI analýza buněčných linií

Rešitelé : Mgr. K.Brožková, MUDr. D. Valík, RNDr. B. Vojtěšek, DrSc.

Analýza lyzátů buněčných linií pomocí SELDI-TOF nebyla dosud vyzkoušena. Proto byla v prvním kroku provedena rozsáhlá optimalizace měření lyzátů buněčných linií (na modelu MCF7) zahrnující výběr lyzačního pufru, postup lýzy, výběr typu čipu a jeho následného měření. Výsledkem je univerzální protokol pro měření lyzátů buněčných linií (lyze v 9M urea, 2% CHAPS; katex CM10, pH4), který bude v krátké době aplikován na připravené lyzáty buněčných linií karcinomu prsu po působení doxorubicinu.

Proteomické SELDI analýzy mammárního karcinomu

Řešitel : Mgr. K.Brožková

Byla provedena optimalizace lýzy tkáně a následného měření. Bude vybrán standardní protokol, podle kterého budou analyzovány vzorky zdravých a nádorových tkání na souboru cca 110 vzorků. Tyto výsledky doplní analýzu exprese některých proteinů (western-blot), stanovení MDM2 a p53 polymorfismů, RNA arrays a další.

Publikace:

Češková P., Brožková, K., Hernychová L., Štěrbá, J, Valík, D , Vojtěšek, B : Hmotnostní spektrometrie v kvantitativní a diagnostické proteomice: možnosti a limitace.
Odesláno do Chemických listů, 11/2005

S. Helanova, P.Ceskova, J.Zaloudik, D.Valík, B.Vojtesek: Using of PS20 and RS100 matrices for analysis of p53 tumor suppressor protein in cell lysates. CIPHERGEN 4th annual ProteinChip Symposium & User Meeting, Berlin, 9-10.5.2005, poster.

P. Ceskova, S.Helanova, J.Sterba, R. Vyzula, P.Bouchal, D.Valik, B.Vojtesek:
Application of CIPHERGEN technology for serum and plasma proteomic profiling: analysis of breast cancer patient sera and time profiles of sera of children with acute lymphoblastic leukaemia. CIPHERGEN 4th annual ProteinChip Symposium & User Meeting, Berlin, 9-10.5.2005, poster.

S. Helanova, P.Ceskova, R.Vyzula, B.Vojtesek: Aplikace technologie CIPHERGEN v klinické onkologii. 5. Konference mladých chemiků, biochemiků a biologů, Milovy, 15-18.5.2005, přednáška, abstrakt v Chemických listech 5,2005-11-24

B. Vojtesek: Potenciální aplikace technologie CIPHERGEN v klinické onkologii. XXIX.Brněnské onkologické dny, Brno,26.-28.5.2005, přednáška

P.Ceskova, S. Helanova, J.Sterba, P. Bouchal, D.Valik, B.Vojtesek: Aplikace technologie CIPHERGEN pro proteomickou profilaci krevního séra a plazmy onkologických diagnóz. XXIX.Brněnské onkologické dny, Brno,26.-28.5.2005, poster

cDNA GEArray (projekt 5718)

Řešitel : Mgr. Hrstka

Cílem projektu je využít metodu "cDNA GEArray" k analýze exprese genů v přesně definovaném klinickém materiálu, který již byl zpracováván v rámci jiných studií prováděných na MOÚ.

Vlastní experimentální činnost sestává ze dvou bloků. V rámci prvního byla prováděna analýza exprese p53 dependentních genů v naivních blastech u dětí s akutní lymfoblastickou leukémií, kdy lékem první volby jsou antifoláty, především pak methotrexát (4-amino, 10-methylpterin). Celkem byly zpracovány lymfoblasty od 11 pacientů, z nichž 10 trpělo B-ALL a 1 T-ALL.

Bylo identifikováno asi 6 genů, u kterých docházelo k významným změnám v expresi u všech sledovaných pacientů (ARF, HIPK2, SIRT1, NDRG, SP1 a CSNK1A1).

V druhém bloku byla analyzována exprese p53 regulovaných a regulujících genů u souboru karcinomů prsu. Byly vybrány nádory, u kterých byly prokazatelně zjištěny disproporcionální hladiny proteinů wt p53 a mdm2. Vzhledem k tomu, že se jedná o proteiny, které spolu mohou vzájemně interagovat a jenž hrají klíčovou roli při neoplastické transformaci buňky, právě expresní profily dalších dependentních genů u takto vybraných nádorů by mohly leccos napovědět o jejich etiologii.

Vzhledem k finančním možnostem bylo prozatím analyzováno pouze 9 nádorů. U všech bylo možno pozorovat relativně stejnou, a to poměrně *vysokou expresi některých genů* (např. *REF-1, ARF, HIPK2, JNKK2, RTP*, aj.). Bylo však detekováno i několik genů jejichž *exprese korelovala s hladinami proteinů p53 a mdm2. Jedná se především o ATM, GADD45, HIF1A, C-MYC, TBP* a některé další.

Publikace :

Hrstka R., Muller P., Vojtěšek B., Nenutil R., Štěrba J., Valík D. : Analýza změn exprese p53-signálních genů v buňkách akutní lymfoblastické leukémie v závislosti na působení methotrexátu. *Klinická onkologie*, 18, 2005, 64-68.

Signální dráhy (projekt VZ 5719) –

Řešitelé : prof.RNDr.PhMr. J.Kovařík, DrSc, RNDr.Boudný,CSc., Dr.L.Adámková,
Dr.L.Lauerová,Csc.

1. Metodiky:

- a) Zavedeny a standardizovány metodiky pro detekci exprese proteinu STAT 5 včetně jeho izoform a pro detekci jeho fosforylovaných-aktivovaných variant na úrovni proteinu a mRNA.
- b) Vypracována metodika detekce exprese SOCS 1 proteinu, jako dalšího ze serie inhibitorů STAT-dependentních cytokinových signálních dráh.
- c) Přípravné práce pro studium úlohy STAT signálních dráh v antiproliferativní aktivitě antiestrogenů na normální a maligní ER⁺ respektive ER⁻ mamární buňku.
- d) Statisticky a publikačně zpracovány výsledky korelací STAT1 alterací s průběhem onemocnění 44 nemocných maligním melanomem.
- e) Zpracovány výsledky analýzy indukce exprese SOCS3 inhibitoru interferony α/γ v buňkách maligního melanomu a melanocytech.

2. Charakteristika významných výsledků:

- a) Převážná většina nemocných s maligním melanomem (75%) má defekt v aktivaci STAT1 proteinu na Ser 727 po interferonech α/γ , který však neovlivňuje průběh onemocnění ani léčebnou odpověď. Významným výsledkem je průkaz, že absence STAT1 fosforylace (aktivace) na Tyr 701 po IFN- γ pozitivně koreluje s průběhem onemocnění, celkovým přežitím a léčebnou odpovědí a že tento parametr může reprezentovat nezávislý prognostický marker pro maligní melanom.
- b) Pro pochopení regulačních mechanismů interferony indukované STAT1 signální dráhy byla analyzována exprese SOCS3 inhibitoru na úrovni proteinu a mRNA po IFN- α/γ v buňkách maligního melanomu a v kontrolních melanocytech. Studie ukázala, že exprese SOCS3 je indukována výlučně IFN- γ a nikoliv IFN- α jak v maligní populaci tak i v melanocytech. SOCS 3 působí jako významný regulační mechanismus biologických účinků IFN- γ . Práce rovněž ukázala, že STAT1 není jediným induktorem exprese SOCS3 inhibitoru. U některých melanomových linií IFN- γ indukovaná aktivace STAT1 na Tyr 701 byla paralelní s expresí SOCS3 zatímco u některých linií došlo k indukci SOCS3

aniž by byla detekovatelná aktivace STAT1. Práce naznačila, že SOCS3 exprese se může podílet na nádorově supresorické aktivitě STAT1 proteinu.

c) Prokázali jsme, že STAT1 fosforylace a p53 status neovlivňují pro-apoptotickou aktivitu interferonů.

Publikace :

Boudný V., Dušek L., Adámková L., Chumchalová J., Kocák I., Fait V., Lauerová L., Krejčí E., Kovařík J.: " Lack of STAT 1 phosphorylation at TYR 701 by IFN γ correlates with disease outcome in melanoma patients".
Neoplasma 2005, 52: 330-337.

Kovarík A., Fojtova M., Boudny V., Adamkova L., Lauerova L., Kovarik J.: " Interferon- γ but not interferon- α , induces SOCS 3 expression in human melanoma cell lines".
Melanoma Research 2005, 15: 000-000 – v tisku

Adámková L., Boudný V., Kovařík A., Fojtová M., Kovařík J. Inducibility of STAT1/SOCS3 transcripts and proteins by interferon alpha/gamma in human melanoma cell lines. 9th Meeting of biochemists and molecular biologists, Brno, 9 – 10 February 2005. ISBN 80-210-3635-4.

Adámková L., Boudný V., Kovařík A., Fojtová M., Kovařík J. Inducibility of STAT1/SOCS3 transcripts and proteins by interferon alpha/gamma in human melanoma cell lines. Molecules involved in carcinogenesis, Workshop, British Council, Prague, 27 February – 1 March 2005.

Adámková L., Skalická K., Kovařík A., Fojtová M., Boudný V., Lauerová L., Kovařík J. Funkční a expresní změny STAT/SOCS proteinů související s působením interferonů v buňkách lidského maligního melanomu. XXIX. Brněnské onkologické dny (BOD XXIX). Brno, 26. – 28. května 2005. Edukační sborník, str. 92-94.

Adámková L. Funkční a expresní změny STAT/SOCS proteinů související s působením interferonů v buňkách lidského maligního melanomu. Ústavní seminář MOÚ, Brno, 1. června 2005.

Adámková L., Kovařík A., Fojtová M., Boudný V., Lauerová L., Kovařík J. Interferon gamma induces STAT 1 activation and SOCS 3 expression in spite of reduced STAT 1 RNA levels in human malignant melanoma cells. The 30th FEBS Congress and 9th IUBMB Conference. The Protein World. Budapest, Hungary, 2 – 7 July 2005. FEBS Journal, 272, Supplement 1, p. 25, July 2005. ISSN 1474-3833.

Boudný V., Adámková L., Kovařík A., Fojtová M., Lauerová L., Kovařík J. Malignant melanoma exhibits reduced STAT 1 RNA levels but enhanced STAT 1 phosphorylation and SOCS 3 expression after interferon gamma treatment. The 2nd ESF Functional Genomics Conference. Functional Genomics and Disease. Oslo, Norway, 6 – 10 September 2005.

Lauerová L., Boudný V., Šmardová J., Adámková L., Skalická K., Kovařík J. STAT 1 phosphorylation and p53 status do not affect sensitivity of melanoma cells to interferons. The 2005 Annual Meeting of International Society for Interferon and Cytokine Research, Shanghai, China, 20 – 24 October 2005. Cell Research, 15, Supplement, p. 199, October 2005. ISSN 1001-0602

Kurzy :

Skalická K. The Cellular and Molecular Biology of Cancer, Wolfson Conference Centre, Faculty of Medicine, Imperial College London, Great Britain, 28 February – 4 March 2005.

Radiologické zobrazovací metody (projekt 5720)

Řešitelé : MUDr. H. Bartoňková, MUDr. M.Schneiderová, MUDr. Opletal

1. Komparace klasické (filmové) a digitální mammografie

Cíl: Zhodnocení výsledků digitální mammografie (záchyt Ca) za dobu provozu (cca 3 roky) a zhodnocení přibližně 1,5 tisíce mammografií provedených klasickým postupem na film a současně digitální mamograf. Současně bude do projektu zařazeno vyhodnocení MG digitalizovaných pomocí CR.

Cílem témat částí projektu 2. – 4.spolu je komplexněji posoudit metodu MR vyšetřování prsů. Sběr dat od srpna 2005, t.č. soubor cca 50 žen

2. Magnetická resonance prsu v primodiagnostice

Pro analýzu plánováno asi 100 žen s hereditární zátěží.

3. Magnetická resonance prsu a hormodependence

Hodnoceny změny enhancement prsu v průběhu menstruačního cyklu – 20 žen

4. Magnetická resonance prsu ve vztahu k angiogeneze, multicentricitě a multifokalitě

V rámci předoperační diagnostiky k hodnocení plánováno asi 100 žen

5. Značení nehmavných lézí a ROLL

Zhodnocení vhodnosti předoperačního označování nehmavných lézí do tkáně prsu barvou. K označování lézí metodou ROLL (instalace radionuklidu) nutno propracovat dále metodiku ve spolupráci s odd. nukleární medicíny

6. Virtuální CT kolonoskopie

Zvládnuta metodika vyšetření. Od začátku projektu bylo CT kolonografií vyšetřeno 10 pacientů většinou z indikace neproveditelné konvenční kolonoskopie při současném zvýšení genetického rizika kolorektálního karcinomu. Vyšetření bylo dosud vždy hodnotitelné, menší těžkosti jsou občas s hodnocením lumen při dolichosigmatu.

7. Zhodnocení DOBI (digital optical breast imaging)

Zhodnocení výsledků z první studie 100 žen vyšetřených 5/04-12/04 (viz publikace) .

V současnosti probíhá druhá studie, která počítá s vyšetřením dalšího souboru minimálně 100 žen při použití zdokonaleného analytického software. .

Publikace:

Bartoňková H., Standara M., Schneiderová M. : Výsledky DOBI vyšetření v Masarykově onkologickém ústavu

Klinická onkologie, roč. 18, 4/2005

Bartoňková H., Skovajsová M., Fait. V., Schneiderová M. et al : Označování nehmatných maligních lézí v prsu tetovací barvou. Klinická onkologie, roč. 18, 1/2005

Schneiderová M., Bartoňková H. : Porovnání filmové MG a digitální MG

Slovenský radiologický sjezd, 2005

Schneiderová M., Bartoňková H. : Digitalizace v mamografii

Mamo 2005, sympozium, 13.10.2005 Praha

Kardiotoxicita při léčbě antracykliny (projekt 5722)

Řešitel : MUDr.J.Umlauf,PhD, RNDr. M. Šimíčková,CSc., MUDr. M. Nekulová,CSc., MUDr. S. Dobeš.

V roce 2005 bylo v rámci VVZ vyšetřeno 37 pacientek léčených herceptinem předléčených antracykliny, u kterých bylo provedeno 88 vyšetření na NT-proBNP. Získané hodnoty byly srovnány s ECHO vyšetřením. Do skupiny A byly zařazeny nemocné, u kterých byly zjištěny klinické známky kardiotoxicity (4). Bylo u nich provedeno 17 vyšetření. Ve skupině B byly nemocné bez známek kardiotoxicity (23). Zbylé nemocné nakonec nebyly hodnotitelné pro ECHO provedené s velkým odstupem od stanovení NT-proBNP.

Byla prokázána korelace mezi NT-proBNP a echokardiografií ve skupině A (kardiotoxicita): Ve skupině A (s příznaky kardiotoxicity) koncentrace NT-proBNP korelovala s hodnotou ejekční frakce se Spearmanovým pořadovým korelačním koeficientem $r = -0.53$ při $p\text{-value} = 0.0334$. Tj. negativní korelace NT-proBNP s ejekční frakcí je ve skupině A statisticky významná.

Byla prokázána korelace nálezů echokardiografie a proBNP i ve skupině B (bez kardiotoxicity): Ve skupině B (bez příznaků kardiotoxicity) koncentrace NT-proBNP korelovala s hodnotou ejekční frakce se Spearmanovým pořadovým korelačním koeficientem $r = -0.48369$ při $p\text{-value} < 0.0001$.

Při doporučené referenční hodnotě 17,7 (pro ženy) NT-proBNP prokázal sensitivitu 64,7% při 60,6% specifčnosti. Je však nutno nastavit referenční hodnotu tak, aby byla co nejvyšší sensitivita, protože NT-proBNP by měl fungovat jako síto, které upozorní na nemocné ohrožené kardiotoxicitou (podobně jako u PSA vzhledem ke karcinomu prostaty).

Referenční hodnota 12.1pmol/l zajišťovala 94% sensitivitu s 57% specifčností při pozitivní prediktivní hodnotě (PPV) 89,26% a negativní prediktivní hodnotě (NPV) 71,7%. Tato referenční hodnota pro účely časně detekce kardiotoxicity se jeví být optimální.

Publikace :

Umlauf J. ,Horky M : Pathogenesis of Doxorubicin Induced Cardiomyopathy".

Austral - Asian Journal of Cancer, Vol.3, No. 4, October 2004 239 - 243

J. Umlauf, L. Pecen, M. Šimíčková, M. Nekulová – cTn u nemocných při terapii antracykliny /cTn in patients treated by anhracycline therapy / VII.Celostátní sjezd České společnosti klinické biochemie 11.- 13. 9. 2005 Olomouc

II. Program informační podpory

PET : fúze zobrazovacích metod a kvalita systému (projekt 5731)

Řešitelé : Ing. Bartl, MUDr. K.Bolčák, MUDr. .Staniček, MUDr. T. Novotný, V.Petláková, M.Havlíček

Fúze obrazů NM s CT-PET

Zdrojem rekonstruovaných tomografických dat ve formátu DICOM 3.0 je gama kamera PICKER PRISM 2000XP. Pro vlastní fúzi jsou tato data nepoužitelná – neobsahují, v rozporu ze standardem DICOM 3.0, informaci o vzdálenosti mezi řezy a navíc mají chybnou orientaci v souřadném systému. Původní výrobce SW již neexistuje a jeho nástupce, firma PHILIPS, se nápravou nezabývá. V praxi se chyba projevuje zobrazením vzhůru nohama při současné záměně pravé a levé strany – pouhé otočení řezů ve fúzovacím SW tak problém neřeší.

Po analýze hlavičky obrazových dat byl vytvořen skript, který během odesílání dat na PACS archív výše uvedené chyby opravuje. V odesílaných datech jsou automaticky detekovány soubory s rekonstruovanými tomografickými daty, kterým se dynamicky generuje chybějící údaj o vzdálenosti mezi řezy a současně se přidává informace o jejich správné orientaci v souřadném systému. Takto opravená data pak skript odesílá na PACS archív. Testovací provoz funkčního skriptu probíhá od poloviny září 2005. Během testování byla zjištěna další chyba v originálním SW – při použití speciálních filtrů během akvizice nebo rekonstrukce tomografických dat se do hlavičky obrazových dat zapisuje datum o vytvoření záznamu v nesmyslném formátu. Tato chyba pak znemožňuje jejich uložení na PACS archív. Uvedený problém je odstraňován individuálně, skript pro automatickou detekci a opravu je v současné době ve stádiu vývoje.

Fúze PET s CT-MR pro RT

Pro zpřesnění plánování ozařování na ORO se používá kromě CT i obraz PT. Vzhledem k tomu, že pro vlastní popis vyšetření PT na ONM je vhodné provést jeho fúzi s

modalitou CT nebo MR, nabízí se její výsledek využít přímo pro zakreslení ozařovacího plánu. Fúzi CT a PT je sice možné provést přímo na pláno-vacím pracovišti ORO, ale pouze ručně, neboť plánovací SW nedisponuje takovými možnostmi jako poloautomatický fúzovací SW na ONM.

Vlastní sérii fúzovaných řezů z ONM však nelze použít, i když se zdá, že by tomu nemělo vůbec nic bránit – jde také o sérii řezů, na první pohled stejnou jako u CT nebo MR. Její záměna za CT nebo MR při zakreslování ozařovacího plánu se přímo nabízí.

Po analýze hlavičky fúzovaných dat bylo zjištěno, že se nejedná o rekonstruované tomografické řezy, ale o data typu lightbox, kterým chybí informace o vzdálenosti mezi řezy, poloze a orientaci v souřadném systému, dále obsahují nepoužitelný rozměr obrazové matice a navíc s informací o barevné hloubce ve formátu RGB, který sice dovoluje ukládat barevná obrazová data podle standardu DICOM 3.0, ale nepoužitelném pro plánovací SW, který nezakresluje plán do podkladové vrstvy přímo, ale do průhledných vrstev nad ní.

Po konzultaci problematiky s aplikačními specialisty SIEMENS byla zvolena metoda, pomocí které se hotový fúzovaný obraz rozřeže a takto získané fúzované řezy se uloží jednou jako modalita CT nebo MR a podruhé jako PT. Tyto dvě nové skupiny řezů jsou tomografické, s informací o vzdálenosti mezi řezy, poloze a orientaci v souřadném systému, s identickým rozměrem obrazové matice a správnou informací o barevné hloubce. Vzhledem k tomu, že výše uvedený použitelný postup byl odzkoušen s jiným fúzovacím SW (SIEMENS e.soft@LEONARDO), než který používá ONM (SIEMENS e.soft), probíhá v současné době jeho testování.

Měření kvality PET systému

Pro zkoušky dlouhodobé stálosti PET systému není v současné době v ČR přijata závazná metodika hodnocení kvality zobrazení. Pro dodavatele technologie, v našem případě SIEMENS Ecat Accel, jsou při akceptačním testu závazná měření citlivosti a homogenity. Test homogenity je navíc doporučen jako jediný pe-riodický test kvality. Jiné důležité informace, jako jsou prostorová rozlišovací schopnost, rozptylová frakce, registrovaná četnost a mrtvá doba, nejsou měřeny vůbec.

Měření, zpracování hodnot a vyhodnocení výsledků výše uvedených testů kvality bylo realizováno ja-ko praktická součást bakalářské práce, která doporučila pro hodnocení kvality PET zobrazení vycházet z do-kumentů společnosti NEMA: NU2-1994 a NU2-2001. Z důvodu maximální objektivity měření byly použity vlastní nebo modifikované firemní akviziční protokoly tak, aby respektovaly doporučení uváděná dokumenty NEMA. Porovnáním naměřených hodnot s odpovídajícími dostupnými firemními údaji bylo zjištěno, že PET systém SIEMENS Ecat Accel splňuje parametry uváděné výrobcem. Výhodou všech navržených a realizova-ných testů kvality (vyjma mrtvé doby) je krátký čas měření a malá použitá aktivita radiofarmaka ^{18}F -FDG. Proto je možné provádět zmíněné testy po každé normalizaci PET skeneru, v rámci zkoušek dlouhodobé stá-losti však minimálně jednou ročně.

Pro vlastní zpracování rekonstruovaných dat (tabulkové hodnoty a grafy), která se získala z naměře-ných (raw data), byl oficiálně použit licencovaný SW MathWorks z programového prostředí Matlab. Pro rych-lejší zpracování naměřených dat a hlavně možnost použít nekomerční SW probíhá v současné době převod po-užitých matema-tických postupů do prostředí s licenci volně šiřitelného SW.

SUV (standardized uptake values) v PET – intranetová aplikace

Z medicínského hlediska je zkoumána možnost použití SUV k určení biologické povahy vyšetřované léze, možnost příspěvku SUV analýzy k ozřejmění její benigní nebo maligní povahy a to před léčbou jako vstupní vyšetření a po léčbě, kde se předpokládá postupné snižování až vymizení nádorové buněčné komponenty v lézi.

Výsledky jsou slibné i přes semikvantitativní povahu ukazatele. Jako problematické se zatím jeví získání dostatečného počtu skenů ke zvolené diagnóze, v našem případě ke karcinomu děložního čípku, pro tzv. dual time exam (dynamika aktivity ^{18}F -FDG kumulované v lézi) a zajištění standardních podmínek k získání hodnot SUV, i v odstupu času, ke zjištění efektu léčby (shodný čas akumulace ^{18}F -FDG po aplikaci a u jednotlivých skenů čas emise a transmise).

Po technické stránce je v současné době otestováno generování grafických průběhů on-line v intranetové aplikaci z dat ukládaných do databáze.

Publikace :

K. Bolčák, J. Bartl, T. Novotný :

Fúze obrazů PT s CT/MR a její využití při plánování ozařování pacientů

1. Seminář sekce pro fyziku, elektroniku a výpočetní techniku ČSNM ČLS JEP – Brno 29.-30.4. 2005
2. XLII. Dny nukleární medicíny – Liberec 14.-16.9. 2005

M. Havlíček :Metrologie pozitronové emisní tomografie – bakalářská práce, Brno 2005

M. Havlíček¹, J. Bartl², V. Petláková : Quality Control Measurements of PET System Siemens Ecat Accel

1. Dny nukleární medicíny – Liberec 14.-16.9. 2005- poster
2. Annual Conference EANM - Istanbul, Turecko 15.-19.10. 2005

Rozvoj PACS (provozní, výukový, komunikační) (projekt 5732)

Řešitel: MUDr. P. Andres

V rámci rozvoje PACS na MOÚ byl projekt v rámci FUNDIN – PIP navázán na další projekty s tematikou telemedicíny :

- 1/projekt AV ČR – komunikace mezi zdravotnickými zařízeními,
- 2/projekt LF MU – vytváření výukových anonymizovaných atlasů PASC,
- 3/projekt MZ ČR – rozvoj rutinního PACS

V rámci projektu došlo ke specifikaci jednotlivých modalit, které byly pilotně připojeny na archiv PACS na ÚVT, u kterých se bude realizovat elektronický podpis – první řešení v ČR. Současně byl do pilotního provozu nasazen vzdálený přístup mimo prostor MOÚ tak, aby bylo výhledově možno využívat spojení v ÚPS lékařů. V návaznosti na projekt s LF MU byl vytvořen systém klíčových slov pro archivaci v databázi PACS archivu určeného pro pre a post graduální výuku.

O celém řešení bylo referováno na 4 tuzemských odborných sjezdech a 3 zahraničních sjezdech.

Tvorba a inovace SW – gynekologický SW pro FIGO Annual Report (projekt 5734)

Řešitelé : Ing. Brož, MUDr. Kozák

Statistické zhodnocení záchytu, léčby a následného „follow-up“ gynekologických neoplázií v jednotlivých pracovištích po celém světě, je stěžejním materiálem pro sestavení Annual reportu z daného období. Následné publikace FIGO opírající se o tato pečlivě, a podle poměrně přísných kritérií, sesbíraná data, jsou základem pro vytváření jednotlivých Guide lines, pro porovnání různých způsobů řešení stejné problematiky v závislosti na té či oné škole a v neposlední řadě i pro celkové zhodnocení výsledků boje proti gynekologickým malignitám.

FIGO pravidelně zasílá své programy pro platformu DOS/Windows, které slouží jako elektronické formuláře a umožňují parametrizaci a různé způsoby zpracovávání dat. Velkou nevýhodou je absolutní nekompatibilita s běžnými nemocničními informačními systémy a nemožnost jiného vkládání dat než vlastním přepisem. Toto řešení je nejenom zdoluhavé, ale i poměrně náchylné k řadě neúmyslných chyb, které způsobují významné nepřesnosti v závěrečné statistice..

Strategickým krokem pro kompletní Annual reportu za období 1999 – 2001 OGYN MOÚ bylo nalezení vhodných výstupů z NIS Grey Fox podle jednotlivých diagnóz a následná kompletace dat v původním SW FIGO 5.1. Jednotlivé zadávané parametry byly pomocí programu a dostupných číselníků vyhledány v elektronické dokumentaci a následně již cíleně dohledány pro konkrétní vyplnění.

Účelem našeho projektu, je tudíž nalézt nejschůdnější cestu parametrizace potřebných dat pro jejich budoucí sběr i s ohledem na postupně probíhající parametrizaci onkologické péče v NIS.

III. Program aplikovaných studií

Mammární karcinomy (projekt 5751)

Mammární kooperativní skupina MAKOS

Řešitelé : MUDr. K.Petráková, MUDr. M.Schneiderová, MUDr. R. Nenutil, PhD, MUDr. V.Fait, CSc., MUDr. V.Chrenko, CSc., MUDr.M.Nekulová, CSc.

Srovnání UZ a MG u pacientek BRCA 1/2 pozitivních

U dvou souborů vysoce rizikových žen s diagnózou C 50 byla provedena retrospektivní charakteristika již diagnostikovaných karcinomů a zhodnocení výtěžnosti použitých diagnostických metod – mamografie a ultrazvuk..Soubor A - 95 žen s dg C50, nosiček BRCA 1/2 mutace (60 žen BRCA 1, 35 žen BRCA 2).Soubor B - 97 žen s dg C50, z vysoce rizikových rodin, negativně testovaných(43 žen kriterium I: 3 a více příbuzných s nádorem prsu/ovaria v jakémkoli věku, nebo alespoň 2 příbuzní, jeden z nich s C50 bilat. nebo nádorem prsu a ovaria, 54 žen kriterium II: 2 příbuzní s nádorem prsu/ovaria, alespoň jeden diagnostikován pod 50 let).Soubor C - 106 sporadických (screeningových) karcinomů prsu, byl použit pro srovnání.Vyhodnocení ukázalo zřetelné rozdíly v charakteru sporadických nádorů a nádorů vysoce rizikových žen, patrné byly i rozdíly mezi nádory nosiček mutace a negativně testovaných žen i mezi BRCA1 a BRCA2 nádory. Zřetelně vyplynula i snížená diagnostická výtěžnost.vyšetřovacích metod, především mamografie. Rozbor výsledků může sloužit jako podklad pro nastavení optimálního (více výtěžného) diagnostického algoritmu - které metody a kdy (v závislosti na věku), jejich kombinace, vyšetřovací interval. Práce byla ve zkrácené formě prezentována na BOD 2005 - Prevence (screening) vysoce rizikových žen - východiska, limitace, vyšetřovací protokol MOÚ (Schneiderová, Bartoňková, Standara, Petráková, Foretová). Kompletní znění bude zpracováno pro supplementum Klinické onkologie věnované této problematice.Další soubor pro srovnání MR, UZ, MG a DOBI – probíhá sbírání dat- vyhodnocení do dvou let

Rozdíly v imunohistochemických parametrech u pacientek s hereditárními karcinomy .

BRCA1 a 2 pacientky s Ca mammae vs.pacientky s C 50 bez mutace- soubor BRCA1 pozitivních pacientek a pacientek bez mutace je sestaven - zatím není provedeno došetření všech IHC parametrů.

Dosavadní výsledky: Soubor čítá celkem 95 pacientek s BRCA1/2 mutací: 60 BRCA 1 mutace a 35 BRCA 2 mutace a 97 pacientek s karcinomem prsu, vysokým rizikem u kterých ale mutace nebyla prokázána.Ve skupině pacientek s prokázanou genetickou mutací se vyskytují nádory vyššího gradingu.

Nejčastější výskyt mucinozních karcinomů je u pacientek s prokázanou mutací (16% u pacientek s mutací a 8% u rizikových pacientek bez mutace). Doplnění dalších IHC parametrů plánováno do konce příštího roku.

Sentinelová biopsie u karcinomu prsu.

Vyšetření sentinelové uzliny u karcinomu prsu se poměrně rychle stává téměř standardním vyšetřením u časných nálezů. Její skutečně efektivní využívání však vyžaduje nejen rutinu a dostatečnou erudici, ale i uváženou indikaci. Nadále existuje několik kontroverzí v indikacích, které vyžadují značnou pozornost. Jedná se především o možnosti předoperačního zjištění makroskopického postižení axillárních uzlin, které při pomnutí mohou znamenat i kompletní minulé přítomné metastázy. Dalším z problémů je použití sentinelové biopsie při v kombinaci s neoadjuvancí, dalším problémem je i nasazení metody u multicentrických lezí.Náš soubor má v současné době 677 pacientek s úspěšností nálezu 99,1%, Procento pozitivních nálezů je 27,5%. Zhodnocení mikrometastatických nálezů v korelaci s nálezem při disekci i v našich podmínkách dávají zapravdu požadavku doplňovat disekci i u mikrometastatického postižení axillární uzliny.Vzhledem k tomu, že relativně nejdostupnější, ale současně nejpřesnější předoperační vyšetření je monografie axilly, byl zhodnocen soubor 196 žen operovaných s karcinomem prsu v letech 2001-2003 a srovnán nález předoperační monografie a pooperační histologický nález, senzitivita vyšetření se pohybovala kolem 60%. Skupina

110 pacientek s pozitivní sentinelovou uzlinou a negativní monografií byla využita k posouzení skutečných mezí metody, která se na našem pracovišti ukazuje jako přibližně 8mm velikosti metastázy.

Hodnocení dopadu mammárního screeningu na skladbu chirurgických výkonů

Po zavedení mammárního screeningu dochází k pozvolnému posunu ve velikostech operovaných tumorů. Cílem srovnání je tento empirický dojem objektivizovat a zmapovat případně i další posuny v závažnosti případů, případně potřebné změny v operativě.

Ke srovnání jsme použili soubory všech primárně operovaných pacientek v letech 2001 (před zavedením screeningu) a v roce 2004 (již po zavedení screeningu). V roce 2001 bylo u nás primárně operováno pro mammární karcinom 316 pacientek, v roce 2004 pak 341 pacientek. V uvedených letech byly retrospektivně analyzovány všechny primárně operované pacientky, se zaměřením na pTpN klasifikaci a na typ operace, současně byly sledovány i další prognostické faktory.

Analýza potvrzuje víceméně stejné rozložení histologických typů nádorů. V samotné velikosti nejsou zásadní rozdíly u pokročilejších stádií, pacientek se symptomatickými nádory s pT3 a pT4 byl operován podobný podíl. Zásadní rozdíly jsou však u drobných symptomatických tumorů, pT1 a pT2. Podíl pacientek s pT1 narostl z 48,7% v roce 2001 na 63,0% v roce 2004, podíl pT2 pacientek poklesl z 43,0% na 30,2%. Ještě výraznější je posun u pT1pN0 pacientek, z 33,5% na 45,7%. I přes větší podíl multicentrických tumorů se nadále mírně snižuje podíl ablačních výkonů, z 35,4% na 28,2%. K výraznému posunu došlo i v počtu sentinelových biopsií a následně pacientek bez nutnosti disekce axilly, tento posun je však značně ovlivněn širším přijímáním konceptu sentinelové biopsie a tedy nelze jej přičítat jen efektu screeningu.

Přesto, že i v roce 2001 již existoval tzv. skrytý screening, zavedení systematického screeningu se v našich souborech jednoznačně projevuje podílu velmi drobných karcinomů, naše zkušenosti tedy záměr screeningového programu potvrzují.

Analyza retrospektivního souboru pacientek s lokální recidivou při terapii tamoxifenem

Dopracována metodika vyšetření Akt kinázy a cyklinů D1,E,B. Mammární karcinomy (t.č. cca 500) průběžně zpracovávají do tissue arrays, průběžný zápis strukturovaných histopatologických parametrů. Dosud provedena pilotní studie shlukovací analýzy z rutinních bioptických dat.

Sérový N-terminální propeptid kolagenu typu I (P1NP) a kostní metastázy karcinomu prsu

Pro monitorování procesu osteoformace je v současnosti doporučován N-terminální propeptid kolagenu typu I (P1NP). Cílem naší práce bylo vyhodnotit sérovou hladinu P1NP v souboru nemocných karcinomem prsu bez kostního rozsevu ve srovnání se souborem s kostními metastázami a korelovat s výsledky scintigrafie kostí, ev. dalších zobrazovacích vyšetření. Hladiny P1NP byly hodnoceny ve vztahu ke klinickým údajům o typu terapie (radioterapie a chemoterapii). Speciální zaměření patřilo terapii bisfosfonáty, které se podílejí na inhibici maligní osteolýzy.

V souboru 83 nemocných průměrného věku 63 let (rozsah 40-86 let) léčených pro karcinom prsu v MOÚ Brno (celkem 186 vzorků krve) jsme vyšetřili P1NP metodou elektrochemiluminiscence (na imunoanalyzátoru Elecsys 2010, firma ROCHE) a srovnali s výsledky scintigrafického vyšetření kostí.

Byly hodnoceny parametry validity (senzitivita, specifičnost, pozitivní a negativní prediktivní hodnota, relativní riziko a ROC křivka). Bodové odhady parametrů validity byly doprovázeny výpočtem 95% konfidenčních intervalů. Ke statistickému hodnocení jednotlivých proměnných byl užit neparametrický Wilcoxonův test.

Koncentrace P1NP ve skupině nemocných s prokázanými kostními metastázami se signifikantně lišila od skupin s jinými typy metastáz nebo s neprokázanými metastázami. Stanovení vykazuje senzitivitu 46 % při 90 % specifčnosti. Metoda rovněž vykazuje dynamické změny při monitorování efektu léčby bisfosfonáty, proto nemocné s kostními

metastázami léčené Bonefosem dle protokolu byly opakovaně vyšetřovány vzhledem k posouzení efektu terapie. U 10 z nich nedošlo po 6 měsících k efektu terapie, nález progredoval a také u poloviny z nich došlo ke zvýšení hodnoty P1NP i při terapii. U 12 nemocných naopak došlo ke stabilizaci či parciální remisi a hladina P1NP klesala. K definitivnímu zhodnocení významu sérového P1NP pro monitorování vývoje onemocnění a sledování účinku specifické terapie bude třeba rozšíření studie o další nemocné.

Publikace :

Fait, V., Chrenko, V., Gatěk, J.: Sentinelová biopsie u karcinomu prsu a neoadjuvantní chemoterapie. *Klinická onkologie*, 18, 2005, č. 3, s. 77–79.

Fait, V., Schneiderová, M., Chrenko, V.: Pomůcka pro výběr materiálu pro orientaci preparátu v mammární chirurgii. *Klinická onkologie*, 18, 2005, č. 4, s. 152–154.

Gatěk, J., Fait, V., Chrenko, V., Žaloudík, J., Bakala, J., Petruželka, L.: Doporučený postup při biopsii sentinelové uzliny u karcinomu prsu., Přednáška, XXIX Brněnské onkologické dny, 26. -28. května 2005. Edukační sborník, s. 227–229.

Fait, V., Chrenko, V., Krejčí, E., Žaloudík, J.: Mikrometastáza v sentinelové uzlině u karcinomu prsu – obligátní nebo fakultativní indikace k disekci axilly? Přednáška, XXIX Brněnské onkologické dny, 26.-28. května 2005. Edukační sborník, s.229-230.

..

Fait, V. Chrenko, V.: Sentinelová biopsie u karcinomu prsu. Přednáška, VIII. Setkání českých a slovenských chirurgů na Moravě. 12.-13. května 2005, Nové město na Moravě, Skalský dvůr. Sborník přednášek, s. 4.

Fait, V. Chrenko, V.: Konzervativní výkony u karcinomu prsu. Přednáška, VIII. Setkání českých a slovenských chirurgů na Moravě. 12.-13.května 2005, Nové město na Moravě, Skalský dvůr. Sborník přednášek, s. 10.

Fait, V., Chrenko, V.: Sentinelová biopsie po neoadjuvantní chemoterapii? Přednáška, *Onkologie v gynekologii a mammologii*, leden 2005, sborník přednášek, s.57–60.

Bartoňková H., Schneiderová M., Standara, M., Fait V., Fabian P.:Citlivost předoperačního ultrazvukového vyšetření axillárních uzlin u karcinomu prsu, Česká radiologie, přijato do tisku.

R. Nenutil: Analýza velkých sestav karcinomu prsu a shlukovací přístupy k datům. Úvod do problematiky a vlastní zkušenosti. Meziregionální seminář patologů Opava 7.10.2005

Zhoubné nádory trávicího traktu (projekt 5752)

Digestivní kooperativní skupina DIKOS

Řešitelé : MUDr. R.Šefr,PhD, MUDr. I.Penka,CSc., MUDr. Z.Kaplan, MUDr. M.Šachlová, CSc., MUDr.R.Nenutil,PhD, MUDr. Fabian, prof. MUDr. R. Vyzula, CSc.

Program VEGF, vaskulární densita a AngGenArray u kolorektálních karcinomů

Provedena rešerše možných metodik a zajištěn materiál pro příslušná imunohistologická stanovení. Zavedena metodika poloautomatického morfometrického stanovení mikrovaskulární denzity (MVD) dle Chalkleye, která rutinně nasazena také v programu GYKOS u cervikálního karcinomu, jinak vyšetření dostupné na vyžádání v rámci rutinního bioptického provozu.

Program korelace PET a CT vyšetření s peroperačním a histologickým nálezem u karcinomů kolorekta a pankreatu.

Probíhá úspěšně nábor i sledování pacientů, k dispozici jsou první předběžné výsledky. Publikace plánována na rok 2006 po jejich statistickém zhodnocení.

Program detekce mikrometastatického postižení u karcinomů kolorekta v periferní krvi a sentinelové uzlině

Proběhla příprava metodiky pro provedení laboratorních vyšetření. Probíhá náběr pacientů včetně kontrolní skupiny, vyhodnocování prvních vzorků s následnými korekčními kroky.

Program chromogranin A u karcinoidů

Proběhla příprava metodiky pro zpracování biologického materiálu, probíhá náběr pacientů.

Publikace :

Šefr R, Fabian P, Kaplan Z, Ondrák M, Penka I, Žaloudík J. : Mapování lymfatik a sentinelová biopsie u kolorektálního karcinomu – možnosti a limity metody. Prakt lékař, přijato do tisku.

Šimíčková M., Šachlová M., Nekulová M., Pecen L., Hložková P.: Chromogranin A jako cirkulující marker pro monitorování nemocných s neuroendokrinními nádory. Přednáška BOD 2005, abstrakt

Šimíčková M., Nekulová M., Pecen L., Petráková K., Šachlová M., Kocák I: Prognostický a prediktivní význam nových sérových nádorových markerů (TM2,pyruvátkináza, chromogranion, HER2) / Prognostic and predictive value of new tumor markers in serum. Přednáška. Sjezd Klinické biochemie v Olomouci (11-13.9. 05)

Gynekologické zhoubné nádory (projekt 5753)

Gynekologická kooperativní skupina GYKOS

Řešitelé : MUDr. A.Dorr,CS., MUDr. Mouková,MUDr. Otevřel, MUDr. Feranec, MUDr.K.Bolčák, MUDr. D. Valík, MUDr. M. Nekulová, CSc., MUDr. R.Nenutil,PhD

Nové prognostické faktory u karcinomu cervixu

Hodnocení prognostických faktorů u karcinomu děložního čípku za účelem predikce šíření mimo jeho lokální hranice. Vypracovaná metodologie sledování stanovených parametrů a postup při výběru pacientek. Do souboru splňujícího stanovená kritéria bylo již možno zařadit 7 pacientek

MTT test chemoresistence u karcinomů ovaria

Zhodnocení možností provedení MTT u recidivujících ovariálních tumorů s cílem výběru a hodnocení léčebné odpovědi na druhou a další linie chemoterapie u karcinomů vaječnicků. Retrospektivní zhodnocení 88 pacientek podle stanovených kritérií, nyní ve stádiu statistického zpracování celého souboru. Zpracování metodiky miniinvazivního odběru vzorku k MTT hodnocení.

Rekurence nádorů vaječnicků v PET a sérových markerech

Sledování korelace nálezů PET a sérových nádorových markerů při sledování recidivy onemocnění žen léčených pro ovariální karcinom. Vypracovaná metodika sledování a náběr pacientů.

Detekce sentinelových uzlin u cervikálního karcinomu

Detekce sentinelových uzlin při radikální operační léčbě karcinomu děložního čípku. Porovnání a zhodnocení metod značení pomocí radionuklidu Nannocol a Sentiscint. Zhodnoceny údaje od 98 pacientek značených radionuklidem Nanocol a vypracovaná metodika použití Sentiscintu s různým časováním.

Sentinelové uzliny a jejich značení pomocí hysteroskopie u karcinomu endometria

Vypracována metodika předoperační vizualizace endometriálního tumoru hysteroskopem, jeho označení radionuklidem a barvivem. Hodnocení označených sentinelových uzlin a mapping pánevních uzlin při karcinomu endometria. Vypracována metodika a technické detaily postupu značení tumoru, kompletizace instrumentária.

Publikace :

Dörr,A., Bolčák, K., Staniček, J., Bartoňková, H., Čechovský, P., Bláha, M., Sedlačková, K., Otevřel, P., Kolářová , H., Feranec, R.: Pelvic nodes detection – crucial importance for management of cervical cancer treatment and accuracy of surgical radicality In: International Journal of gynecological cancer, vol. 14, suppl. 1, 2004, p.186

Economopoulou K, Simon I, Wolfert RL, Valik D, Nekulova M, Simickova M, Frgala T, Diamandis EP:Evaluation of human kallikreins 5, 6, 7, 8, 10 and 11 as prognostic markers in serum of ovarian cancer patients (poster 4877)
American Association for Cancer Research 96th Annual Meeting, April 16-20, 2005, Anaheim/Orange County, California, USA (poster)

Simon I, Kim NW, Diamandis EP, Valik D, Nekulova M, Simickova M, Frgala T, Sarno MJ, Wolfert RL: Evaluation of B7-H4 (DD-O110) as a prognostic marker in tissue and serum of ovarian cancer patients (poster 4882)
American Association for Cancer Research 96th Annual Meeting, April 16-20, 2005, Anaheim/Orange County, California, USA

Simon I, Diamandis EP, Valik D, Nekulova M, Simickova M, Frgala T, Kim NW, Wolfert RL: Characterization of three novel serum biomarkers for the early detection and monitoring of ovarian cancer 5th International Conference on Ovarian Cancer, December 1-4, 2004, Houston, Texas, USA- poster

Otevřel.P.: MTT test, možnosti využití v léčbě pokročilého ovariálního karcinomu, Regionální seminář gynekologů, MOÚ Brno, 9.6.2005

Urologické zhoubné nádory (projekt 5754)

Urologická kooperativní skupina UKOS

Řešitelé : MUDr.I. Čapák, MUDr.Z Řehák, MUDr.J Staníček, MUDr. K. Bolčák, MUDr. D. Papírková, MUDr. I. Černochová, Ing. J Bartl,MUDr.M.Nekulová,CSc., MUDr. M. Šimíčková,CSc., MUDr.I Kocák, MUDr. D. Miklánek, prof. MUDr. J. Žaloudík,CSc., RNDr. L. Hanák, Mgr. A. Kostečka, MUDr. E.Krejčí, doc.MUDr. P. Šlampa,CSc., MUDr. P. Čoupek, MUDr. L. Hynková

FDG-PET – možnosti využití v diagnostice a léčbě testikulárních nádorů.

V MOÚ je v současné době vyšetřeno cca 300 pacientů s diagnózou germinativního tumoru varlete . V přímém vztahu k zadání projektu je soubor 79 pacientů se stagingem provedeným jak konvenčně, tak PETem. Definitivní statistické zhodnocení počítá se souborem 90 pacientů počátkem r. 2006. Hodnocení viability residuálního tumoru v retroperitoneu počítá s rozšířením stávajícího 20-ti členného souboru minimálně na 30 potřebných k bližšímu hodnocení. Počet nemocných u nichž byl v MOÚ proveden PET staging, zde pak operačně a histologicky ověřen, je zatím nízký.

Stanovení exprese EGFR u renocelulárního karcinomu

Imunohistochemickou analýzou s využitím protilátky EGFR pharmDxKit byla stanovena exprese EGFR u 43 vzorků metastazujících konvenčních renálních karcinomů (RCC) a to jak z primárního tumoru, tak z metastáz. Výsledky byly srovnány s 19 vzorky RCC pacientů v kompletní remisi. U 30 ze 42 případů byla stanovena vysoká exprese EGFR u RCC (2+, 3+). Bylo zjištěno, že exprese EGFR není prediktorem metastazování, častější exprese EGFR 3+ u metastazujících tumorů není statisticky významnou. Exprese EGFR zůstává zachována i v metastáze. Nejlepším prediktorem metastazování je grading. V daném souboru metastazovaly všechny G3,G4 karcinomy. Vysoká exprese EGFR u RCC by mohla v následujících letech iniciovat vznik studie léčby cetuximabem.

Stanovení osteomarkerů N-(amino)propeptidu (P1NP) a beta Cross laps (beta CRS) u nemocných s kostními metastázami karcinomu prostaty

Kostní markery, zejména beta CRS a P1N jsou nejnovějšími doporučeními EGTM navrženy k hodnocení efektu Th kostních metastáz. Beta CRS je markerem kostní resorbce, Je doporučován v souvislosti s monitorováním účinnosti antiresorbční terapie. PINP je definován jako marker novotvorby kostí. V roce 2005 bylo vyšetřeno 52 pacientů s diagnózou karcinomu prostaty s prokázanou nebo suspektní kostní diseminací. Pro beta CRS byla předběžně stanovena sensitivita 50% při normě do 65 ug/l, pro P1NP 60% při normě do 300 ug/l. Nález koreluje s vyšším procentem výskytu osteoplastických procesů. Stávající soubor je připraven pro statistické zhodnocení.

Karcinom ledviny a MTT test chemoresistence

Úkol si klade za cíl stanovit vlastnosti tkáňových primokultur renálního karcinomu vystavených účinku cytostatik in vitro, stanovení jejich chemoresistence a selekci vhodných kultur pro klinický a základní výzkum v korelaci s dalšími biologickými parametry karcinomu ledviny. Bylo provedeno 44 testů chemoresistence u RCC (prim. nádor, metastáza, lok. recidiva). V 10 případech (23%) byla tkáňová kultura citlivá na jedno nebo více testovaných cytostatik. V 17 případech (38,5%) byla kompletně resistantní. V 17 případech (38,5%) se z nejrůznějších důvodů kultivace kultury nezdařila nebo vzorek nebyl ke kultivaci vhodný. V dalším období je třeba se zaměřit na zvýšení počtu úspěšných kultivací tkáňové kultury a dosažení jisté míry klinického výstupu v paliativní CHT disseminovaného onemocnění.

Pět zcela polychemoresistentních a pět polychemosenzitivních nádorů ledvin z MTT testu bylo analyzováno metodou SELDI ke srovnání proteomových profilů (viz PTP). Byly zjištěny statisticky významné rozdíly těchto dvou skupin nádorů s odlišnou chemosenzitivitou v analyzované části proteomu

Funkční modifikace radioterapie oblasti uroonkologie

Zavedení standardního využití techniky IMRT (radioterapie s modulovanou intenzitou svazku) při kurativní léčbě lokalizovaného karcinomu prostaty s možnou eskalací aplikované dávky a s využitím fuze CT/MR při plánování, jehož cílem je vyšší senzitivita zakreslení cílových objemů – prostaty a semenných váčků), vyhodnocení akutní a pozdní toxicity. Proběhla příprava standardů radioterapie u nádorů prostaty pro MZ ČR

Publikace :

Z Řehák, J Staníček, K. Bolčák, D. Papírková, I. Černochová, J Bartl
FDG-PET možnosti využití v diagnostice a léčbě testikulárních nádorů, BOD 2004,
Předn. 115, str. 201 sborník.

Z Řehák, J Staníček, K. Bolčák, D. Papírková, I. Černochová, J Bartl. Naše zkušenosti s využitím FDG-PET u germinativních tumorů varlat. XLI. Dny nukleární mediciny ,
Hradec nad Moravicí 2004, přednáška č. 18, sborník str. 11

Kocák I. et al. Výskyt kontralaterálního karcinomu varlete v souboru pacientů MOÚ. BOD 2004

E. Krejčí, Z Hanzelková, H. Bursová. Expres c-kit v papilárním renálním karcinomu.
Expres EGFR v konvenčním renálním karcinomu. XIX. BOD 2005, Brno. Předn. 112,
sborník str.194.

I.Čapák, D. Miklánek, I. Kocák, J. Žaloudík, L. Hanák, A. Kostečka : Karcinom ledviny a MTT test chemoresistence – první zkušenosti, XIX BOD, Brno 2005, předn. 111, sborník str. 193

Maligní melanom (projekt 5755)

Melanomová kooperativní skupina MEKOS

Řešitel : MUDr.V.Fait,CSc., doc.MUDr.J.Michálek, CSc., MUDr.R.Nenužil, PhD, RNDr.
Hanák, MUDr.I.Kocák

Využití tumor infiltrujících lymfocytů u pacientů s metastazujícím melanomem

Přípravná fáze pro klinickou studii využívající tumor infiltrující lymfocyty (TIL) pro buněčnou terapii maligního melanomu. Prospektivně byly validovány mononukleáry periferní krve 5 zdravých dárců a poté 7 pacientů s metastazujícím melanomem. Nejprve byly mononukleáry zdravých dárců stimulovány in vitro nádorovým antigenem (buněčnou linií ARH 77 mnohočetného myelomu – jednalo se o průkaz expanze nádorově specifických T lymfocytů s cílem simulovat expanzi TIL in vitro).

Stimulované aktivované klony T lymfocytů exprimují celou řadu aktivačních markerů, včetně interferonu gama a lze je tudíž separovat pomocí imunomagnetických interferon gamma pozitivních kuliček (Miltenyi Biotech). Takto separované aktivované T lymfocyty byly stimulovány vysokými dávkami IL-2 (1000U/ml) 23x týdně a jednorázově phytohemaglutininem (10 μ g/ml) in vitro za přítomnosti tzv. „feeder cells“, což jsou ozářené alogenní mononukleáry jiného zdravého dárce. Kultivace probíhala in vitro ve stejném médiu a za stejných podmínek, jako jsou navrženy v této studii po dobu 4 týdnů.

Úvodní počet separovaných T buněk činil $0,56 \pm 0,13 \times 10^6$ a po 4týdenní expanzi dosáhl počtu $214,00 \times 10^6 \pm 103,46 \times 10^6$. Expandované T lymfocyty byly zastoupeny po expanzi z $99,5 \pm 0,8\%$ a vykazovaly vysokou specifickou cytotoxicitu vůči původní nádorové linii ARH77 (dosud nepublikovaná data, publikace v přípravě).

Na základě těchto úspěšných experimentů, které ukazují možnost rychlé expanze protinádorových T lymfocytů, bylo přistoupeno k expanzi TIL u 7 pacientů s metastazujícím melanomem podle postupů navržených v této studii. V šesti případech se jednalo o lymfatickou uzlinu, postiženou nádorovým procesem a v jednom případě se

jednalo o primární ložisko kožního melanomu. Přítomnost nádorových buněk byla prokázána histopatologicky bezprostředně po chirurgickém vyjmutí tkáně. V případě všech tří nádorových uzlin byla expanze TIL zahajována s počtem buněk $2,9 \times 10^6$ – $15,8 \times 10^6$ a po 5–7 týdenní kultivaci podle postupů navržených v této studii došlo k nárůstu na $27,0 \times 10^9$, $56,0 \times 10^9$, $3,4 \times 10^9$, 45×10^9 , 28×10^9 a 22×10^9 TIL buněk. V případě kultivace TIL z primárního ložiska nádoru došlo pouze k minimálnímu nárůstu z $2,2 \times 10^6$ na $12,1 \times 10^6$ TIL po 8týdenní kultivaci. Z tohoto důvodu je rovněž v protokolu klinické studie navrhováno využívat pouze lymfatických uzlin postižených nádorovým procesem a nikoliv primárních ložisek nádoru, která jsou zpravidla fibrózní a neumožňují požadovanou expanzi TIL. Ve všech 7 případech bylo prováděno vyšetření sterility v průběhu kultivace a bezprostředně před hlubokým zmrazením preparátu TIL. Nedošlo k žádné mikrobiální kontaminaci a rovněž endotoxinový test nepřekročil stanovené limity ani v jednom případě.

Závěrem lze k této prospektivní validační fázi říci, že kultivace TIL in vitro je v naší laboratoři proveditelná za sterilních podmínek a bez kontaminace. Expanze TIL z lymfatických uzlin postižených metastázami maligního melanomu je reálná na hodnoty použitelné v klinické praxi.

Hledání markerů nepříznivé prognózy u pacientů s maligním melanomem

Na základě zkušeností z klinické praxe je zřejmé, že prognóza pacientů s diseminovaným maligním melanomem je velmi vážná, onemocnění je obecně považováno za chemo, a radiorezistentní. I multimodální přístup zahrnující kombinovanou chemo(imuno)terapii, RT a paliativní chirurgické výkony špatnou prognózu pacientů většinou významně neovlivní.

Přesto se mezi nemocnými s diseminovaným maligním melanomem objeví jedinci s relativně lepší prognózou, bez tendence k časně multiorgánové diseminaci, onemocnění relativně chemosenzitivní, u kterých systémová CHT(imuno)terapie může prodloužit DFS i celkové přežití. Na druhé straně jsou naopak jedinci s evidentně chemorezistentním. onemocněním, progredující i přes intenzivní kombinovanou systémovou léčbu a umírající na rychlou progresi během několika měsíců.

Podle klinických průběhů onemocnění je evidentní, že podstata rozdílné odpovědi k systémové léčbě (chemoterapie, imunoterapie) nesouvisí s léčbou samotnou, ale naopak je podmíněna rozdílným biologickým chováním vlastního nádorového onemocnění a složitými vztahy mezi hostitelem a nádorem.

Cílem práce je jednak sledování známých prognostických faktorů, dále nalezení nových na základě vyš. exprese sérových proteinů a nalezení diferencí ve skupinách s relativně dobrou a špatnou prognózou, zjištění korelací mezi stupněm exprese vytipovaných proteinů s odpovědí na I. linii CHT – predikce léčebné odpovědi, a zjištění korelace mezi stupněm exprese vytipovaných proteinů, TTP a celkovým přežitím – prognóza pacientů.

U pacientů s nově diagnostikovaným diseminovaným maligním melanomem jsou sledovány prognostické faktory:

- 1) v době dg. (pohlaví, věk, lokalizace, přítomnost ulcerace, invaze podle Breslawa, pozitivita SNB, podání adjuvance. INF alfa)
- 2) v době prokázané diseminace onemocnění – a) klinické faktory (PS, váhový úbytek, rozsah a lokalizace MTS), b) laboratorní parametry (FW, CRP, LD, flowcytometrie – CD4/CD8lymf., NK bb, protein S100B), c) hodnocení SELDI-exprese sérových proteinů s cílem zachycení diskrepance mezi pacienty s relativně příznivým průběhem onemocnění a naopak (např. protein S100B, survivin - antiapoptotický protein produkovaný ve fázi G2/M buněčného cyklu, 5-S-cysteinyldopa - prekurzor melaninu)
- 3) zhodnocení parametrů jako v bodě 2 po 3 sériích I. linie paliativní chemoterapie.CHT

Probíhá nábor prvních 10 pacientů, zařazeno 8 pacientů s nově diagnostikovaným diseminovaným maligním melanomem, kteří podstupují I. linii paliativní chemoterapie. Po absolvování 3 cyklů nebo dříve (při evidentní progresi) bude vytipováno 5 pacientů s relativně příznivým průběhem onemocnění (chemosenzitivní) a 5 chemoresistentních onemocnění. Standardně před chemoterapií a po 3 sériích probíhá odběr na SELDI (k zamražení), protein S100B, flowcytometrii. Retrospektivně dle léčebné odpovědi se Seldi vyhodnotí (5 chemoresistentních onemocnění X 5 chemosenzitivních nemoc. X 5 zdravých kontrol), budou hledány rozdílné exprese proteinů včetně zaměření na známé proteiny – protein S100B, 5S-cysteinyldopa, Survivin. Poté na základě těchto diferencí budou již sledovány konkrétní proteiny se záměrem predikovat léčebnou odpověď a

prognózu pacienta a hledat vztah k běžným klinickým a laboratorním prognostickým faktorům. Dále půjde o vyšetření exprese sérových proteinů u pacientů s nově diagnostikovaným nepředléčeným diseminovaným maligním melanomem (5 pacientů relativně chemosenzitivních, 5 pacientů chemoresistentních versus 5 zdravých kontrol) a identifikaci odlišných proteinů

Analýza falešné negativity bioptovaných sentinelových uzlin (SNB)

Sentinelová biopsie u maligního melanomu je v současnosti standardem při invazi nádoru podle Breslowa nad 1mm, v současné době dochází k postupnému snižování indikační hranice i pod 1mm. Účelem sentinelové biopsie u maligního melanomu je časný nález uzlinového postižení, především pro indikaci časně disekce regionální lymfatické oblasti, která v indikovaných případech významně přispívá k zlepšení prognózy pacienta. Současně je nález v sentinelové uzlině považován za významné kritérium pro indikaci systémové terapie.

Jedním ze zásadních kritérií metody je její spolehlivost. Vzhledem k tomu, že u melanomu nikdy nebyl přijat koncept profylaktických disekcí, respektive nikdy nebyl prokázán jejich benefit, není možná validace metody pomocí následných disekcí. Falešnou negativitu je možno tedy hodnotit pouze z množství relapsů, k hodnocení je nutné několikaleté, minimálně však dvouleté sledování.

Soubor pacientů, kteří podstoupili sentinelovou biopsii v našem ústavu má nyní 893 pacientů, s celkovou úspěšností nálezu 95,4%, od roku 2002 je úspěšnost 100%, s 21,4% pozitivních nálezů.

Minimální doba sledování 2 let je splněna u 630 pacientů, z nichž u 589 pacientů byla sentinelová uzlina nalezena, u 454 (77,1%) byla histologicky negativní. Relabovalo celkem 64 pacientů (14,1%), celkem u 13 pacientů došlo k relapsu přímo v oblasti regionálních lymfatických uzlin (falešná negativita tedy 2,8%). 26 pacientů zrelabovalo vzdáleně a u zbytku došlo k lokální recidivě, výskytu intransitních metastáz nebo lokální recidivě s novým regionálním metastazováním. Výrazně vyšší podíl regionálních relapsů je u pacientů, u nichž byla sentinelová uzlina detekována pouze pomocí barvení patentní modří, což podporuje současný trend používat zásadně kombinaci barvení a

radionavigované chirurgie. Do příštího roku plánujeme revizi původních histologií u regionálních relapsů a publikaci výsledků

Biomonitoring izolované hypertermické perfuze končetin

Izolovaná hypertermická perfuze končetiny cytostatikem je účinná metoda paliace u končetinových lokoregionálních relapsů, nejčastěji u maligního melanomu, méně často jako salvage metoda u končetinových sarkomů. Metoda má poměrně přísné indikace, je indikována pouze u vícečetného nebo primárně inoperabilního končetinového postižení, u pacientů bez známek vzdálené diseminace, v případech, kdy je izolace postižené oblasti technicky možná a pochopitelně u pacienta bez závažných interkurencí. Z toho vyplývá, že se jedná o poměrně málo četný výkon, v našich podmínkách je to do 5 pacientů ročně.

Tento výkon je při své nejtypičtější indikaci, tedy výskytu mnohotných kožních metastáz, ideálním stavem pro sledování odpovědi nádoru na chemoterapii, neboť stav umožňuje poměrně jednoduchým způsobem sekvenční biopsie před a po chemoterapii. Je plánováno podrobné imunohistochemické zhodnocení, proteomická a genomická analýza.

V letošním roce byla hypertermická izolovaná perfuze indikována celkem pětkrát, čtyřikrát u maligního melanomu a jednou u velmi rychle rostoucího sarkomu měkkých tkání. U pacientů s melanomem se však nejednalo o klasický typ postižení, jednalo se buď o postižení především hlubokých tkání – ve 3 případech, tedy sekvenční biopsie nebyly v těchto případech únosné, jednou se jednalo o poměrně diskrétní mnohotné postižení kůže amelanotickými metastázami, tedy odběry tkáně nebyly možné technicky. Z technického chirurgického hlediska považujeme za úspěch zvládnutí metody hypertermické izolované perfuze na horní končetině.

Sarkomy měkkých tkání (projekt 5756)

Sarkomová kooperativní skupina SAKOS

Řešitelé : prof. MUDr. J.Žaloudík,CSc., MUDr.M.Ondrák, MUDr.M.Bláha,
MUDr.R.Nenužil,PhD, MUDr.K.Bolčák, MUDr.H.Bartoňková

Byla sjednocena fenotypická klasifikace sarkomů. V terapii lze individualizovat kombinací metod, které jsou MOÚ nadstandardně zavedeny . Jde o předoperační intraarteriální chemoterapii, postresekční intersticiální brachyterapii a hypertermickou končetinovou perfuzi. Jde také o validaci testů MTT chemoresistence in vitro. Sledována je také funkční diagnostika na PET s využitím diferenciacce podle SUV. V přípravě na benchmarking těchto rozšířených a individualizovaných postupů by v prvním roce řešení nejprve provedena retrospektivní analýza případů sarkomů měkkých tkání léčených v MOÚ s využitím databáze NOR s sw SVOD, výsledky jsou k dispozici spolu s dalšími diagnózami také na www.mou.cz. Hodnocení provedeno zvlášť v kategorii C48 - sarkomy retroperitonea a dutiny peritoneální a C49 - sarkomy měkkých tkání.

S diagnózou C48 bylo za celé hodnocené období 25 let hodnocené období léčeno výhradně v MOÚ 57 případů, to je 4,1% případů ČR a 12,1% Jm kraje. Nicméně v poslední hodnocené periodě 1995-2002 je to již 6% případů ČR a plných 57% Jm kraje. Výsledky MOÚ jsou ve dvouletém přežití lepší o více než 30%, v pětiletém přežití o 10-15% lepší. Nicméně nedochází dosud ke zlepšení léčebných výsledků, které dosud stojí jen na chirurgické léčbě, při srovnání oktád 1979-1986, 1987-1994 a 1995-2002.

S diagnózou C49 lze za celé období analyzovat 177 případů léčených v MOÚ, což je 4,5% případů ČR a 40% Jm kraje jak za celé sledované období, tak za poslední oktádu. Výsledky léčby jsou v MOÚ o 5-10% procent lepší, při srovnání oktád se dosud nemění.

Analýza ukázala, že problém neuspokojivých výsledků léčby sarkomů v celorepublikovém měřítku je komplexní, spočívá v nedostatečné aplikaci individualizovaných postupů a jednotné klasifikace, nedostatečných poznatků o biologických vlastnostech těchto nádorů, ovšem i chybějící organizaci léčby těchto nádorů.

Komplexní řešení hereditárních malignit (projekt 5757)

Řešitelé: MUDr.L.Foretová,PhD., MUDr. V.Vítová

Vliv genetického poradenství a testování na životní styl, preventivní péči a kvalitu života

Ve studii byly vytvořeny dotazníky, které studují vliv genetického poradenství a testování na různé oblasti života testovaných osob. Vytvořené dotazníky (Deprese, Obava z rakoviny, Sociální podpora, Motivace a postoj k testování, Životní styl, Preventivní péče, Preventivní operace), byly distribuovány testovaným osobám po telefonické informaci a dohodě.

V první fázi dotazníkové akce bylo osloveno 129 osob před testováním, odpověď jsme získali od 82 osob, tj. 63,57%. Po určité době po testování bylo dotázáno 98 osob s novými dotazníky po testování, dosud jsme dostali zpět 62 dotazníků tj. 63,27%.

Dále bylo osloveno 106 osob, kde jsme žádný dotazník neposílali před testováním, od 52 osob (49%) jsme získali zpět dotazník s dotazy po testování. Dále bylo osloveno 23 osob před testováním, 19 (82%) odeslalo zpět vyplněné dotazníky. Rozsáhlá studie bude pokračovat v dalším roce. Testovaným osobám budou předávány dotazníky před testováním, po ukončení testování po 1-3 měsících.

Multiplicitní malignity a jejich genetické testování

Dle mezinárodně uznávaných indikačních kritérií již bylo dokončeno genetické testování BRCA 1 a BRCA 2 genů u 127 pacientů a skupiny genů pro Lynchův syndrom u 7 onkologických pacientů s vícečetnými malignitami (VM). (U zbývajících cca 30 pacientů není zatím testování dokončeno). Šlo o pacienty s datem narození v období 1921 – 1976, převážně ženského pohlaví. V první uvedené skupině bylo zjištěno následující rozložení zhoubných nádorů (ZN): duplex 107 (84,2%), triplex 18 (14,2%), quadruplex 2 (1,6%) pacientů. Na onkologické diagnóze vždy participoval ZN prsu (C 50) nebo ovaria (C 56), často jako nádory bilaterální. Další velmi časté participující ZN byly nádory ostatních gynekologických topik (C 53, C 54, C 57) – 15 (11,8%), ZN kolorekta (C18 – C 20) – 9 (7,1%), štítné žlázy C 73 – 4 (3,1%). Pozitivita BRCA 1 nebo BRCA 2 byla zjištěna u 75 (59%) pacientů. U 34 pacientů se podařilo získat informace o rodinné zátěži pouze z rodokmenu (genetická konzultace mimo MOÚ). U 93 (73,2%) nemocných

byly získány detailnější informace o některých rizicích životního stylu, zejména pak vyčerpávající rodinná anamnéza. Negativní rodinná onkologická zátěž byla zatím zjištěna pouze u 5 (3,9%) testovaných.

Za účelem srovnání výsledků, případně navázání další spolupráce zařazujeme do dotazníků nově soubor otázek týkajících se podrobné gynekologické anamnézy, kojení a užívání hormonálních preparátů. (V současnosti je používán výzkumnou skupinou IARC).

Onkologičtí pacienti s VM (nejčastější kombinace ZN prsu a orgánů gynekologických) představují cca 12% lymfologických pacientů MOÚ Brno. Přítomnost sekundárního lymfedému získaného v souvislosti s onkologickou léčbou hodnotí více než polovina pacientů jako fenomén významně snižující kvalitu života. Cca 5 – 10% z nich odmítá současně uznávaný léčebný postup, vnímá ho jako zbytečně časově zatěžující nebo jinak nesnesitelný. Ve skupině lymfologických pacientů se aktivně snažíme o záchyt syndromu Stewart – Tréves (primární ZN prsu s následným lymfangiosarkomem), jehož výskyt je dle literatury poměrně vzácný.

Publikace :

Vítová V., Vítová H., Foretová L., Navrátilová M. : Lymfedém a následná malignita. Edukační sborník. XXIX. Brněnské onkologické dny 26. – 28. 5. 2005, (ISBN 80-86793-05-2), s. 239 – 241.

Vítová V., Vítová H., Foretová L., Navrátilová M. : Lymfedém a následná malignita. Brněnské onkologické dny 26. - 28. 5. 2005. Poster.

Vítová V., Vítová H., Pecen L., Navrátilová M., Foretová L. : Novotvary štítné žlázy u pacientů s vícečetnými malignitami. XII. Jihočeské onkologické dny 13. – 15. 10. 2005. Sborník přednášek (ISBN 80-239-5607-8), s. 65 – 68.

Vítová V., Vítová H., Pecen L., Navrátilová M., Foretová L. : Novotvary štítné žlázy u pacientů s vícečetnými malignitami. XII. Jihočeské onkologické dny 13. – 15. 10. 2005. Poster.

L Foretova, M Navratilova, D Hanouskova, B Dvorackova, M Lukesova, M Palacova, R Kalabova, K Petrakova. Clinical Follow up of BRCA1 and BRCA2 carriers in the Czech Republic. European Journal of Human Genetics Vol. 13, Suppl 1, May 2005 p.196.
Abstrakt.