

Zpráva o řešení výzkumného záměru Masarykova onkologického ústavu v Brně s názvem Funkční diagnostika zhoubných nádorů v roce 2008 uděleným Ministerstvem zdravotnictví ČR jako výzkumný záměr FUNDIN MZ0MOU2005

1. ÚVOD

Vědecko-výzkumná práce je statutárně zakotvenou a je strategicky významnou součástí práce Masarykova onkologického ústavu. Tento statutární závazek i přirozený zájem našich odborných týmů se dařilo udržovat i rozvíjet také v roce 2008.

1.1. Organizační aspekty činnosti MOÚ v roce 2008

Významným faktorem s reflexí v celém spektru činností MOÚ v roce 2008 byla změna na pozici ředitele MOÚ. Tato skutečnost znamenala vytvoření řady dalších odborně-organizačních příležitostí k rozvoji MOÚ jako genuinně komplexního onkologického klinicko-výzkumného centra s nadregionální působností. Důsledkem této změny byla i personální změna na postu náměstka ředitele pro rozvoj, vědu a výuku, kde MUDr. Dalibor Valík, Ph.D. převzal jako hlavní řešitel odpovědnost za další průběh řešení VZ MOÚ s názvem FUNDIN 2008. Zde je třeba zdůraznit, že provedené změny se neprojeví na plnění dlouhodobých vědeckovýzkumných úkolech a závazcích MOÚ.

1.2. Akademické aspekty práce MOÚ

V rámci dlouhodobé strategie posilování akademického vlivu a vzdělávacích kompetencí ústavu se v roce 2008 podařilo dále posílit chod univerzitních pracovišť MOÚ – Kliniky komplexní onkologické péče a Kliniky radiační onkologie. Zaměstnanci ústavu bylo obhájeno několik disertačních prací, na habilitaci se připravují další kandidáti, kteří již naplňují odborné požadavky kladené na docenta lékařské fakulty. Jelikož o odborné stáže v MOÚ mají zájem nejen tuzemští, ale také zahraniční specialisté, pokračoval v roce 2008 program udělování grantů pro zahraniční stážisty k podpoře jejich, zpravidla měsíčních, pracovních pobytů.

1.3. Mezinárodní aspekty práce MOÚ

Podobně důležitá je pro upevňování odborné kompetence a autonomie ústavu také mezinárodní kooperace. V OECI (Organisation of European Cancer Institutes) je MOÚ již po mnoho let jediným členem z České republiky, neboť naplňuje náročná mezinárodní kritéria komplexity pracoviště v diagnosticko-léčebné péči, v onkologickém výzkumu, v prevenci i v informačních službách veřejnosti. Zástupce ústavu se také zúčastnil říjnového jednání o OECI akreditaci onkologických ústavů. MOÚ navštívilo několik skupin zahraničních

odborníků, z nichž lze jmenovat renomované zástupce britské Cancer Research Campaign, americké Mayo Clinic, rakouských onkogynekologů z Vídně. Specialisté ústavu také pracovali formou dlouhodobějších stáží na výzkumných projektech ve Velké Británii, v Německu a v Singapuru.

1.4. Edukační a prezentační aspekty práce MOÚ

MOÚ byl již po dvaatřicáté organizátorem tří denních Brněnských onkologických dnů, které jsou největší celostátní onkologickou konferencí s více než tisícovkou lékařů, sester a výzkumných pracovníků a cca 260 odbornými pracemi publikovanými v Edukačním sborníku XXXII. BOD 2008.

1.5. Vědecké a výzkumné aspekty činnosti MOÚ

Výzkumná práce Masarykova onkologického ústavu stojí dlouhodobě na čtyřech základních pilířích:

- 1) dlouhodobém - institucionálním výzkumném záměru MZ ČR,
- 2) dílčích grantových projektech podporovaných z účelového financování výzkumu grantovými agenturami,
- 3) kontraktovaném výzkumu formou kontrolovaných klinických studií, které jsou vedeny jednotně v gesci samostatného Oddělení klinických hodnocení,
- 4) vědeckých pracích doktorandských a habilitačních, jež jsou produktem individuálního kvalifikačního růstu zaměstnanců ústavu a jsou přirozenou součástí dílčích výzkumných celků a projektů

Výzkumná práce těží z výhod úzké provozní provázanosti mezi klinikami a odděleními ústavu, čerpá však také ze širší spolupráce tuzemské a mezinárodní. MOÚ připravil v roce 2008 několik náročných projektů pro operační programy EU. Podmínky pro stabilitu a kontinuitu onkologického výzkumu byly nepříznivě ovlivněny absencí grantové soutěže IGA v roce 2008 a zčásti také opožděnými dotacemi výzkumného záměru až v květnu loňského roku, což vyžadovalo dlouhodobé zálohování výzkumných týmů z jiných zdrojů. Ústavu se zatím daří udržovat celistvé výzkumné týmy i hlavní programy kombinací vícezdrojového financování výzkumu a provázaností s aplikací výsledků do praxe. Maximální snahou ústavu je získávat a podporovat zejména mladé výzkumníky, což se daří také v propojení na univerzitní doktorandské studijní programy. Přehled výzkumných projektů MOÚ k prosinci roku 2008 je uveden na adrese http://www.mou.cz/mou/section_show.jsp?s=918|1028. Základní kostru výzkumného záměru

s názvem Funkční diagnostika zhoubných nádorů, FUNDIN No. 0002080501 MZ0MOU2005 přijatého na léta 2005-2011, tvořily i v roce 2008 program technologické podpory (PTP) pro vývoj a validaci nových diagnostických metodik a technologií, program informační podpory (PIP) zaměřený na archivaci a analýzu dat a digitalizaci obrazu, program aplikovaných studií (PAS) sledující aplikace inovací a jejich výsledky u jednotlivých diagnostických skupin v klinické praxi. Do každého z programů je zařazena řada projektů jako samostatných fungujících nákladových středisek s vlastními dílčími úkoly. Základní struktura FUNDIN zůstala zachována také během celého roku 2008 včetně stanovených řešitelů nebo koordinátorů odpovědných za každý dílčí program i projekt. V roce 2008 jsme do výzkumného záměru FUNDIN zařadili 4 nové výzkumné projekty. Účetnictví jednotlivých projektů je nadále vedeno v samostatných nákladových střediscích, což umožňuje vysokou transparentci při posuzování nákladů a efektivitu práce jednotlivých výzkumných skupin. V programech technologické i informační podpory bylo při řešení výzkumného záměru MOÚ FUNDIN v roce 2008 dosaženo nových prakticky aplikovatelných řešení v oblastech genomické, proteomické i buněčné diagnostiky a bioinformatiky. Dílčí výsledky a výstupy zde specificky nekomentujeme, jelikož jsou uvedeny v kapitole 2 této zprávy a popsány in extenso v příložených publikacích.

Jako po všechna předcházející léta předkládáme roční zprávu také veřejné kontrole na webových stránkách MOÚ www.mou.cz v sekci věda a výzkum, kde je tak patrný nejen pokrok v řešení výzkumného záměru dosažený v uplynulém roce, ale i celá kontinuita výzkumu MOÚ podporovaných institucionálním grantem Ministerstva zdravotnictví ČR jako výzkumný záměr FUNDIN MZ0MOU2005.

Prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.

ředitel MOÚ

předseda České onkologické společnosti ČLS JEP

MUDr. Dalibor Valík, Ph.D., DABCC, FACB, EurClinChem

náměstek ředitele pro rozvoj, vědu a výuku

hlavní řešitel FUNDIN MZ0MOU2005

v Brně, dne 7.1.2009

2. PŘEHLED AKTIVIT V JEDNOTLIVÝCH VÝZKUMNÝCH PROGRAMECH FUNDIN

2.1. PROGRAM TECHNOLOGICKÉ PODPORY /PTP/

NS 5711 - Hereditární malignity: hlavní řešitel MUDr. L. Foretová, ???

Nové metody a nové geny v molekulárně genetické diagnostice nádorových chorob

1) HRM – High Resolution Melting: *HRM – High Resolution Melting (Vysokorozlišovací analýza křivek tání)*

Vzhledem k vysoké senzitivitě a specifitě HRM analýzy, jsme v roce 2008 optimalizovali podmínky pro vyšetření genu *BRCA1*: exonu 11 (úsek 3422 bází) a genu *BRCA2*: exonu 10 (1115 bází) a exonu 11 (4931 bází). Tyto velké úseky kódující sekvence se dříve analyzovaly metodou Protein truncation testem (*in vitro* transkripce/translace), který umožňoval detekci patogenních mutací způsobujících předčasnou terminaci translace. Přejít na HRM nám umožnil detekovat všechny „missense“ záměny a drobné „in frame“ delece/inzerce, které se v analyzovaných úsecích v naší populaci nacházejí. U některých z těchto detekovaných variant bude dále studován jejich efekt na funkci BRCA1/BRCA2 proteinu.

2) Rozšíření spektra vyšetření v laboratoři OEGN (Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů)

Gen *CDH1* (E-cadherin). V roce 2008 bylo nově zavedeno a optimalizováno vyšetření kompletní kódující sekvence a míst setřihu genu *CDH1* u pacientů s podezřením na hereditární formu difúzního karcinomu žaludku. Vyšetření bude prováděno metodou HRM a přímým sekvenováním. Bylo zahájeno vyšetření prvních 5 indikovaných pacientů.

Gen *CHEK2*

V současné době je prováděn screening na přítomnost 2 mutací v *CHEK2* genu u vysoce rizikových pacientů s nádorem prsu, u kterých nebyla detekována mutace v *BRCA1* nebo *BRCA2*.

- 1) delece exonu 9 a 10 v *CHEK2* genu – specifická pro Českou populaci: byly zachyceny 4 rodiny s delecí exonu 9 a 10 v *CHEK2* genu (zachyceno u 6 rodin).
- 2) Mutace 1100delC v *CHEK2* genu, která je nejčastější mutací popsanou v Evropské populaci (zachyceno u 8 rodin).

V současné době bylo ukončeno 1500 analýz. Mutace v *CHEK2* genu se vyskytuje frekvencí 1% v rizikových rodinách s nádorem prsu. Publikace je plánována na rok 2009.

Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC, Lynchův syndrom): Vyšetření genů *MLH1*; *MSH2* a *MSH6* Metodou HRM je vyšetřována přítomnost drobných delecí, inzercí a záměn v kompletní kódující sekvenci a místech setřihu genů *MLH1*, *MSH2* a *MSH6*. Metodou MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) je vyšetřována přítomnost velkých intragenových delecí nebo inzercí, které zahrnují celé exony genů *MLH1*, *MSH2* a *MSH6*. V současné době je ukončeno vyšetření u 57 indikovaných rodin, z toho u 7 rodin byla detekována patogenní mutace způsobující dědičnou predispozici ke vzniku nepolypózního kolorektálního karcinomu. V roce 2008 jsme se zúčastnili mezinárodní kontroly kvality (EMQN) pro molekulárně-genetické vyšetření HNPCC.

Gen *TP53*: Metodou přímého sekvenování jednotlivých exonů (2-11) a míst sestřihu z genomické DNA genu *TP53* bylo v roce 2008 vyšetřeno 7 pacientů s podezřením na Li-Fraumeni syndrom. Na našem pracovišti je prováděno jak prediktivní tak i kompletní vyšetření genu *TP53* u nově indikovaných případů.

Hereditární melanom – gen *CDKN2A*

Vyšetření probíhá přímým sekvenováním jednotlivých exonů *CDKN2A* genu a to 2 sestřihových variant genu.

- 1) p16/INK4a - inhibitor cyklin dependentní kinázy CDK4 a CDK6
- 2) p14/ARF – který interakcí s MDM1 brání degradaci p53 proteinu

Jedná se o poměrně vzácný hereditární nádorový syndrom. Během roku 2008 bylo indikováno k vyšetření 9 rizikových rodin. Vyšetření probíhá přímým sekvenováním jednotlivých exonů *CDKN2A* genu.

Klinické studie hereditárních maligních onemocnění: Další rok probíhala longitudinální studie (The International BRCA1/2 Carrier Cohort (IBCCS)). Tato studie provádí dlouhodobé sledování nosičů a nosiček mutace, sleduje životní styl, osobní anamnézu, výskyt maligních onemocnění. Jednou ročně je vypsán podrobný dotazník, data jsou vkládána do databáze. Dosud bylo zařazeno 120 nosičů mutací.

V rámci klinické genetiky je připravováno supplementum čeopisu Klinické onkologie s názvem "Dispenzarizace nádorových syndromů". Jedná se o kolektivní práci onkologů a genetiků. Návrhy dispenzarizačních schémat by měly standardizovat a zlepšit klinickou péči o osoby s dědičným rizikem nádorů. Supplementum bude publikováno začátkem roku 2009.

Publikace:

Machackova E, Foretova L, Lukesova M, Vasickova P, Navratilova M, Coene I, Pavlu H, Kosinova V, Kuklova J, Claes K. Spectrum and characterisation of BRCA1 and BRCA2

deleterious mutations in high-risk Czech patients with breast and/or ovarian cancer. *BMC Cancer*. 2008, 8:140. IF – 2,71

Foretova L. Genetika nádorů prsu. *Onkologie* 2008; 1:39-43.

Připravované supplementum KO „Dispenzarizace nádorových syndromů“

Machackova E, Hazova J, Tavandzis S, Lukesova M, Foretova L. Occurrence of BRCA1 cryptic splice site mutation: IVS5-12A>G in hereditary breast cancer families in the Czech Republic. *European Journal of Human Genetics* 2008, Supplement 1, 16:199-200. IF – 4,0

Foretova L, Lukesova M, Hazova J, Navratilova M, Machackova E. CHE2 c.1100delC and exon 9-10 deletion in Czech High risk families and a case of double heterozygote of BRCA1 and CHEK2 mutation. 3rd Familial Cancer Conference. Madrid 2008. Book of Abstracts. P. 86

NS: 5766 – Farmakogenetika cytostatik: hlavní řešitel MUDr. D.Valík, Ph.D.

Farmakogenetické a metabolické biomarkery terapie antifoláty

Řešitelé: MUDr. D. Valík, Ph.D., prof. MUDr. J. Štěrbá, CSc., MUDr. R. Demlová,

V průběhu roku 2006 pokračovala akvizice vzorků pacientů Kliniky dětské onkologie léčených protokolem obsahujícím 2 g/m² i.v. methotrexát až do jeho ukončení v klinické praxi v listopadu 2007. V průběhu roku 2008 jsme provedli první analýzy vzorků pacientů s ALL léčených na klinice dětské onkologie tzv. Capizzioho methorexatem, v současnosti je analyzováno 8 pacientů.

Farmakogenetické aspekty terapie fluoropyrimidiny

Řešitelé: MUDr. D. Valík, Ph.D., MUDr. R. Demlová, MUDr. M. Bednaříková-Gálová

V průběhu roku pokračovaly práce na tomto projektu ve všech jeho třech ramenech:

i) v rameni „stanovení eliminačního fenotypu fluoropyrimidinů“ probíhala další akvizice pacientů léčených 5-FU dle protokolů „de Gramont“ a „FUFA Mayo“. V současnosti je zpracováno jak klinicky tak farmakokineticky 65 pacientů z celkově 83 zařazených do tohoto projektu. Akvizice bude dále pokračovat v roce 2009.

ii) v rameni „stanovení preterapeutické exkrece přirozených pyrimidinů“ jsme pokračovali v akvizici materiálu od pacientů zařazených do ramene (i);

v tomto rameni budeme v r. 2007 dále pracovat na metodě stanovení thyminu pomocí plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií metodou stabilní izotopové diluce.

iii) v rameni „genotypizace genu pro DPYD“ jsme provedli ve spolupráci s laboratořemi Mendelova onkologického centra v Novém Jičíně pilotní sekvenaci vzorků u 20 pacientů; tento materiál byl vyhodnocen v průběhu roku 2009. Dosavadní data byla statisticky zpracována multivariační analýzou

Farmakogenetické aspekty terapie inhibitory topoisomerázy

Řešitelé: MUDr. D. Valík, Ph.D., MUDr. R. Demlová, RNDr. E. Macháčková, MUDr. M. Bednaříková, doc. RNDr. L. Dušek, Ph.D.

V roce 2007 byl zahájen nový projekt zaměřený na identifikaci jedinců v riziku toxické reakce po podání irinotecanu. Tato reakce bývá podmíněna zpomalenou eliminací aktivního metabolitu irinotecanu nazývaného SN-38. Tato látka je eliminována z organismu po konjugaci s glukuronovou kyselinou. U lidí s porušenou glukuronidací dochází ke zvyšování plasmatické koncentrace SN-38 s doprovodnými projevy toxicity – typicky jde o jedince, u nichž se vyskytuje jinak benigní hyperbilirubinemie, Provádíme vyšetření inserce TA sekvence v TATA boxu v promotorové oblasti *UGT1A1* genu (UDP-glukuronosyltransferáza 1), která je nejčastější příčinou Gilbertova syndromu v Evropské populaci (90%). U normální „wild type“ alely se vyskytuje repetice 6TA, mutovaná alela s insercí je tvořena repeticí 7TA. Klinické příznaky Gilbertova syndromu se projeví u homozygotů 7TA/7TA, kdy dochází snížení exprese *UGT1A1* genu na 20-30%. Snížená exprese *UGT1A1* genu může způsobit komplikace u metabolizace některých léčiv podávaných onkologickým pacientům.

NS: 5713 - Provádění MTT testů citlivosti nádorových buněk k chemoterapeutikům ex vivo.: hlavní řešitel Mgr. E Michalová

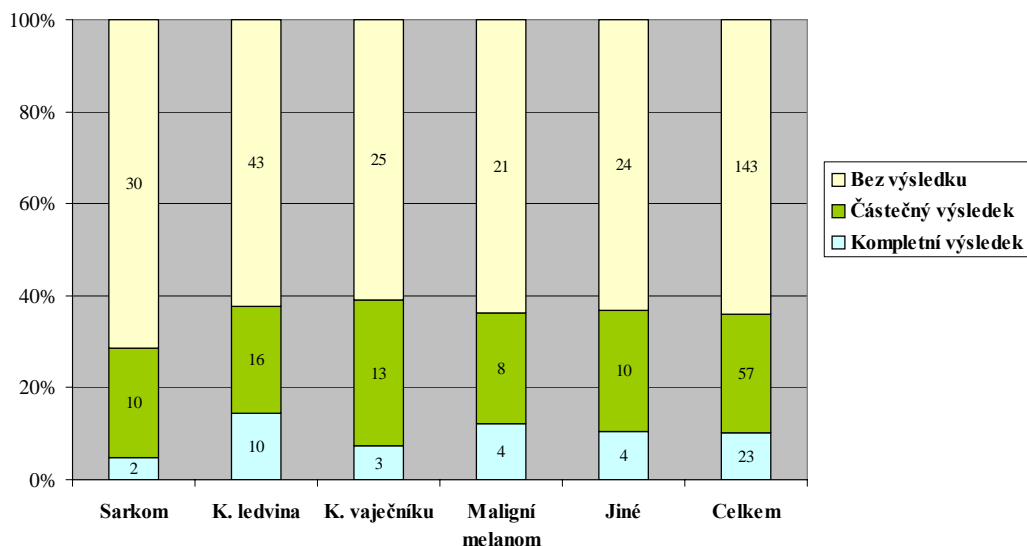
Úvod

V dnešní době představuje chemoterapie součást standardních léčebných postupů protinádorové terapie a je rovnocennou léčbě chirurgické a radioterapii. Volba chemoterapeutik, jejich kombinace a dávkovací schémata v případě jednotlivých diagnóz jsou založena na empirických zkušenostech a výsledcích bezpočtu multicentrických studií. V systémové chemoterapii nádorových onemocnění se standardně využívají v klinických studiích ověřené režimy a statisticky nejúspěšnější terapie je vnímána jako nejlepší léčebný postup. Teprve při selhání léčby první, druhé, nebo vyšší řady je výběr chemoterapie omezen a volba léčby není standardně určena. Nicméně ani statisticky nejefektivnější způsob terapie není zárukou úspěšné léčby a vždy existuje podíl případů dané diagnózy, u nichž není dosaženo očekávaného výsledku chemoterapie. Účinek chemoterapeutik není přísně specifický a cytostatika nepůsobí selektivně na nádorové buňky, nýbrž svými toxickými účinky postihuje více či méně i buňky normální. Respektování faktorů individuality a zavádění „personalizované medicíny“ je směr, jehož cílem je co nejvíce zvýšit účinnost terapie s minimálním vedlejším zatížením pacienta. Jedním z přístupů individualizované chemoterapie je snaha o výběr cytostatik s maximální účinností pro daný nádor za současné eliminace těch, k nimž je nádor vysoce rezistentní, a to na základě hodnocení citlivosti nádorové populace k chemoterapeutikům v *ex vivo* podmínkách. *Ex vivo* testy představují naději, s níž by predikce citlivosti nádoru k vybraným chemoterapeutikům umožnila výběr co nejefektivnější léčby nádorových onemocnění za současné minimální zátěže pacienta. Možnost vytipování účinné látky na základě jednoduchého *ex vivo* testu by navíc jednoznačně zvýšila úspěšnost léčby při selhání standardní chemoterapie či v případě léčby primárně chemorezistentních nádorů. Nejrozšířenější metodou *ex vivo* stanovení citlivosti k chemoterapeutikům je tetrazoliový test (MTT test) (Black a kol., 1954, Mosmann, 1983, Carmichael a kol., 1987). Metoda MTT testu je založena na izolaci buněk vzorku nádorové tkáně a jejich následné kultivaci *ex vivo* s vybranými cytostatiky o různých koncentracích.

	Sarkom	Metastazující maligní melanom	Karcinom ledvin	Karcinom vaječníku
1.	Doxorubicin	Dacarbazin	5-fluorouracil	Paklitaxel
2.	Cisplatina	Cisplatina	Gemcitabin	Cisplatina
3.	Etoposid	Karmustin	Vinblastin	Karboplatina
4.	Docetaxel	Bleomycin	Karboplatina	Topotekan
5.	Vinkristin	Vinblastine	-	Gemcitabin
6.	Dakarbazin	Melfalan	-	Doxorubicin
7.	-	Karboplatina	-	-

Metodika testu byla na pracovišti Masarykova onkologického ústavu (MOÚ) zavedena v průběhu roku 2003 za účelem využití jejích výsledků v klinické praxi. Plně rutinní podoby pak test nabyl od počátku roku 2004. Zpočátku byla testována citlivost všech dostupných vzorků bez omezení diagnózy. V průběhu roku 2006 však bylo spektrum testovaných diagnóz zúženo a v současnosti je standardně testována citlivost k chemoterapeutikům u vzorků sarkomu měkkých tkání, karcinomu ledvin, metastazujícího maligního melanomu a karcinomu vaječníku ke spektru cytostatik dle tabulky. Vzorky jiných diagnóz jsou testovány na vyžádání. Zejména na konci roku 2006 a začátku 2007 byla metoda testu obměněna v některých krocích. Tato optimalizace byla zásadní ke správnému provádění testu a měla napomoci ke zvýšení úspěšnosti vlastní metody. V průběhu let 2007 a 2008 již byly všechny vzorky zpracovány dle optimalizovaného standardního operačního protokolu. V roce 2008 bylo v Laboratoři chemorezistence MOÚ zpracováno 123 vzorků nádorové tkáně získané v MOÚ s cílem určit citlivost jejich buněk ke spektru cytostatik dle diagnózy. Vzorky byly zpracovány dle standardního operačního protokolu optimalizovaného v předchozích letech řešení projektu (viz zpráva FUNDIN 2007). Počet vzorků zpracovaných již maximálně optimalizovaným standardním protokolem v období 09/2006-12/2008 již představuje dostatečně reprezentativní soubor a získané výsledky za celé toto období lépe odrážejí vlastní stav a úspěšnost metodiky. Celkem bylo zpracováno 223 vzorků nádorové tkáně. Bylo mezi nimi 42 vzorků sarkomu měkkých tkání, 69 vzorků karcinomu ledvin, 41 vzorků karcinomu vaječníku, 33 vzorků metastazujícího melanomu a 38 vzorků nádorů jiných diagnóz. Avšak pouze ze 103 vzorků (46 %) byl získán dostatek živých buněk pro následnou kultivaci alespoň s jedním požadovaným cytostatikem. Převaha mrtvých buněk ve vzorku nemusí být nutně dána malým objemem zpracovaného materiálu, ale spíše individuálními charakteristikami nádorové tkáně a citlivostí jejich buněk ke stresovým podmínkám izolačního kroku. U 103 vzorků bylo provedeno 460 kultivací s cytostatiky, pouze však 260 (56 %) z nich vedlo k úspěšnému hodnocení citlivosti vzorku. V některých případech došlo k úhynu buněk v podmínkách ex vivo, jindy nebyla získána dostatečně kvalitní data pro

úspěšné hodnocení. Převážná většina hodnotitelných kultivací poukazovala na rezistenci vzorku (221 kultivací), pouze 39 kultivací poukazovalo na potenciální citlivost vzorku k testovaným cytostatikům. Lze tedy shrnout, že v rámci souboru 223 zpracovaných vzorků byl kompletní výsledek (tj. citlivost stanovená u všech požadovaných cytostatik dle diagnózy) získán pouze u 23 vzorků (10 %), částečný výsledek (tj. citlivost stanovené u omezeného počtu požadovaných cytostatik dle diagnózy) získán u 57 vzorků (26 %), u 143 vzorků (64 %)



nebyl získán žádný výsledek informující citlivosti či rezistenci vzorku (viz graf).

Závěr

Nádorová tkáň představuje velmi heterogenní materiál, pro něhož je typické zastoupení normálních a nádorových buněk v různém poměru. V porovnání s provedením testu u homogenní kultury buněčné linie je právě kvůli tomuto faktu provádění testu u vzorků nádorové tkáně značně kontroverzní. V opačném případě lze na nádor pohlížet jako na heterogenní tkáň tvořenou maligními buňkami a řadou podpůrných buněk, bez nichž by samotné nádorové buňky nemohly existovat. Pak je možno oprostít se od faktu, že je citlivost stanovována v blíže neurčené heterogenní populaci a výsledek jednoznačně neodráží vlastnosti nádorových buněk. Každý vzorek byť se stejnou diagnózou představuje jedinečnou tkáň odrážející individuální spektrum poškození normálních buněk vedoucích k maligní transformaci a individuální vývoj nádoru. Nízká úspěšnost testu je předurčena zejména vzorkem samotným, tedy množstvím živých buněk a jejich schopností odolat stresovým podmínkám při zpracování vzorku a chováním v podmínkách *ex vivo*. Metodika stanovení citlivost nádorových buněk *ex vivo* byla maximálně optimalizována, nicméně ani zásadní

změny v jejím provedení nepomohly zvýšit celkovou úspěšnost testu a získání kvalitnějších výsledků.

Závěrem je nutno poznamenat, že *ex vivo* testy nemohou dostatečně napodobit podmínky lidského těla. Konečné vyhodnocení vzorku jako citlivého k určitému cytostatiku na základě *ex vivo* testu proto ještě nemusí nutně znamenat citlivost buněk *in vivo* a pozitivní léčebný efekt nasazené léčby.

Reference:

1. Mosmann, T. (1983): Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*, 65: 55-63.
2. Black, M.M., Speer, F.D. (1954): Further observation on the effects of cancer chemotherapeutic agents on the *in vitro* dehydrogenase activity of cancer tissue. *J Natl Cancer Inst*, 14: 1147-1158.
3. Carmichael, J., De Graff, W., Gazdar, A., Minna, J., Mitchell, J. (1987): Evaluation of a tetrazolium-based semi-automatic colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Research*, 47: 936-942.

Publikace:

MICHALOVÁ, E., POPRACH, A., NĚMEČKOVÁ, I., NENUTIL, R., VALÍK, D., ŽALOUĐÍK, J., VYZULA, R., VOJTĚŠEK, B. Predikce citlivosti nádorových buněk k chemoterapeutikům *ex vivo* – úskalí a limitace vlastní metody. *Klinická onkologie*, 2008, vol. 21, no. 3, 93-97. ISSN: 0862-495 X.

POPRACH, A., MICHALOVÁ, E., PAVLÍK, T., LAKOMÝ, R., VYSKOČIL, J., NĚMEČEK, R., ŽALOUĐÍK, J., VYZULA, R., KOCÁK, I., KOCÁKOVÁ, I. Současný stav testování chemorezistence nádorů *ex vivo* v Masarykově onkologickém ústavu v Brně. *Klinická onkologie*, 2008, vol. 21, no. 3, p. 116-121. ISSN: 0862-495X.

MICHALOVÁ, E., NĚMEČKOVÁ, I. Stanovení chemorezistence k chemoterapeutikům u buněk izolovaných z nádorů. *Laboratorní diagnostika v MOÚ, Brno*, 14.5.2008.

MICHALOVÁ, E. Stanovení citlivosti k chemoterapeutikům *ex vivo* u buněk izolovaných z nádorů. *Den onkologických technologií*, Brno, 23.10.2008. (bez sborníku)

NS 5715 – Banka biologického materiálu: hlavní řešitel MUDr. R. Nenutil, CSc.

Banka biologického materiálu je v plném provozu. Během roku 2008 byly uloženy hluboce zamrazené vzorky nádorů od 682 pacientů (2573 tkáňových alikvotů), vzorky sér od 502 pacientů (1506 alikvotů). Nejvíce zastoupené diagnózy: mamární karcinomy 289 (45%), karcinomy střeva 72 (10%), nádory gynekologické 62 (9%), nádory ledvin 55 (8%). Bylo vydáno 14 alikvotů sérových vzorků pro 1 studii intramurálního žadatele a 326 alikvotů tkáňových vzorků pro 8 studií intramurálních žadatelů a dva žadatele extramurální. Bylo provedeno celkem 472 izolací nukleových kyselin.

Publikace s dedikací:

Knoflíčková D., Šmerdová T., Nenutil R., Žaloudík J.: Banka biologického materiálu v Masarykově onkologickém ústavu. Změna archivace vzorků – zkušenosti s ročním provozem. XXXII. Brněnské onkologické dny. Brno 2008. Edukační sborník s. 100-101 ISBN 978-9780-86793-11-5

NS 5716 - Cirkulující biomarkery: hlavní řešitel: RNDr. L. Dubská, Ph.D.

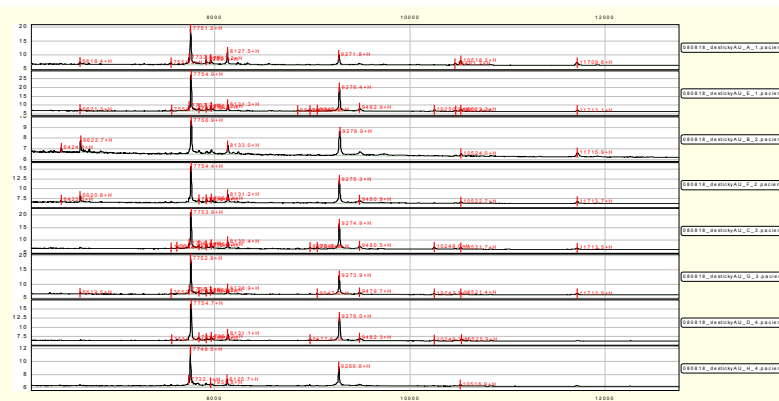
ANGIOGENEZE:

Stanovení množství cirkulujících endoteliálních buněk (subpopulací) u vybraných onkologických onemocnění (kolorektální karcinom, pediatrické tumory): sledování v průběhu terapie.

Hodnocení angiogenezi-regulujících a adhezivních molekul v plazmě (ELISA, bead-based multiplex).

Laserová mikrodisekce ve spojení s průtokovou cytometrií (detekce extra + intracelulárních znaků na vydefinovaných populacích, detekce apoptózy).

Pilotní data: SELDI-TOF analýza suspenze krevních destiček. Příprava trombocytárních suspenzí pro zhodnocení obsahu molekul spojených s angiogenezí.



IMUNOLOGIE:

- Zavedení a rutinní použití kvantifikace exprese CD64 na neutrofilech jako markeru sepse.
- Analýza buněčných subpulací a kvantifikace cytokinů při reakci dětských onkologických pacientů na podání amphotericinu B.
- Přirozené protilátky proti alfa-galaktosylovému epitopu u pacientů se solidními nádory

DETEKCE a ANALÝZA NÁDOROVÝCH BUNĚK/ SOLUBILNÍCH NÁDOROVÝCH MARKERŮ

- Detekce buněk neuroblastomu v kostní dřeni, sběrech před transplantací
- Analýza DNA ploidie (neuroblastomy, karcinomy ledvin)
- Kostní markery, marker CA242

Publikace:

Greplová K., Pilný R., Dubská L., Brožková K., Michalová E., Vojtěšek B., Žaloudík J., Vyzula R., Nenutil R., Valík D. (2008) *SELDI TOF hmotnostní spektrometrie v onkologickém výzkumu – pilotní metodická data a potenciální klinické aplikace*. Klin. Biochem. Metab., 16: 189–193.

Nekulová M., Dubská L., Petráková K., Šimíčková M., Brančíková D., Pecen L., Pilný R., Valík D. (2008) *Kostní markery u nemocných s karcinomem prsu: C -Telopeptid kolagenu typu I (ICTP) jako marker monitorování kostních metastáz a efektu terapie bisfosfonáty*. Klin. Biochem. Metab., 16: 183–188.

...when one chip is not enough: augmenting validity of SELDI-TOF proteomic profiles of clinical specimens. Greplova Kristina, Pilny Radomir, Budinska Eva, Dubska Lenka, Lakomy Radek, Vyzula Rostislav, Vojtesek Borivoj and Valik Dalibor (*Lab on a chip – přijato k publikaci*), IF = 5,8

Greplová K., Valík D., Dubská L., Nekulová M. *Frekvence HLA-B7 u pacientek s karcinomem prsu a nádorem děložního čípku v české populaci*. Brněnské onkologické dny 2008, Brno

Hamanová M., Dubská L., Valík D., Lokaj J. *Přirozené protilátky proti alfa-galaktosylovému epitopu (Gala1-3Galβ1-4GlcNAc-R) v onkologii. Enzymová imunoesej (ELISA) k průkazu anti-galaktosylových protilátek isotypu IgM, IgG a IgA v lidském séru*. Brněnské onkologické dny 2008, Brno

Dubská L., Bencsiková B., Bačíková, L., Kočíčková M., Nekulová M., Valík D. *Cirkulující*

markery angiogeneze v kontextu anti-angiogenní terapie kolorektálního karcinomu. Brněnské onkologické dny 2008, Brno

Greplová K., Pilný R., Lakomý R., Petráková K., Budinská E., Dubská L., Nekulová M., Valík D. *SELDI TOF hmotnostní spektrometrie v onkologickém výzkumu: analýza souboru melanomů, germinálních nádorů a kardiotoxicity u pacientek s her2 pozitivním karcinomem prsu.* Brněnské onkologické dny 2008, Brno

Dubská L., Juránková L., Holub N., Mačatová S., Přikrylová M., Valík D. *Zvýšená hladina D-dimeru u nádorových onemocnění: vliv věku na specifitu tohoto testu při vyloučení patologických stavů.* Brněnské onkologické dny 2008, Brno

Rampulová I., Dubská L., Votavová I., Dušek L., Pilný R., Obermannová R., Petráková K., Nekulová M., Valík D. *Hypokalcemie u onkologických pacientů – existuje souvislost s nedostatkem cholekalciferolu?* Brněnské onkologické dny 2008, Brno

Nekulová M., Dubská L., Petráková K., Brančíková D., Mechl Z., Šimíčková M., Pecen L., Pilný R., Valík D. *Kostní markery v monitorování efektu terapie kostních metastáz karcinomu prsu.* Brněnské onkologické dny 2008, Brno

Dubská L., Bačíková L., Kleinová J., Valík D. *Kvantitativní hodnocení exprese CD64 na neutrofilech při detekci bakteriálních a mykotických infekcí a zánětlivých stavů u onkologických pacientů.* Brněnské onkologické dny 2008, Brno

Umlauf J., Nekulová M., Dubská L., Šimíčková M., Pecen L. *Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) a kardiotoxicita u pacientek s karcinomem prsu léčených herceptinem po předcházejícím podání antracyklinů.* Brněnské onkologické dny 2008, Brno

Nekulová M., Doležel J., Čapák I., Miklánek D., Katolická J., Dubská L., Pilný R., Valík D. *Kostní markery a chromogranin A u nemocných s karcinomem prostaty.* Brněnské onkologické dny 2008, Brno

Štěrba J., Valík D., Zitterbart K., Pavelka Z., Dubská L., Bronišová D. *Beyond maximum tolerated doses: COMBATing poor prognosis pediatric cancer.* Brněnské onkologické dny 2008, Brno

Múdry P., Bronišová D., Bajčiová V., Mazánek P., Valík D., Dubská L., Lokaj P., Kepák T.,

Blatný M., Štěřba J. *Antiangiogenní a biodiferenciační terapie COMBAT – pilotní studie u dětí s refrakterními či recidivujícími non-CNS solidními nádory*. Brněnské onkologické dny 2008, Brno

Bačíková L., Bodišová E., Dubská L. *Kvantitativní hodnocení exprese CD64 na neutrofilech u onkologických pacientů s rizikem infekce*. 44. celostátní sjezd biochemických laborantů 2008, Brno

Juránková L., Šmákalová P., Arvaiová R., Valík D., Dubská L. *Srovnání stanovení hladiny D-dimerů metodou Tina-Quant D-dimer a metodou Innovance D-dimer*. 44. celostátní sjezd biochemických laborantů 2008, Brno.

Dubská L. *Angiogeneze v procesu maligního rozvoje: technologie na principu průtokové cytometrie a jejich využití ke sledování proangiogenních procesů*. Den onkologických technologií, Brno, 2008.

Foralová R., Múdry P., Dubská L., Weiler S, Bellmann R., Valík D., Štěřba J. *Prospektivní studie s infuzí spojených nežádoucích reakcí parenterálních lékových forem amphotericinu B u dětských onkologických pacientů*. 18. konference dětských hematologů a onkologů České a Slovenské republiky, Plzeň, 2008.

Valík D, Nekulová M, Dubská L, Zima T, Springer D, Malbohan I, Topolčan O 2008. *Doporučení České společnosti klinické biochemie (ČSKB ČLS JEP) České onkologické společnosti (ČOS ČLS JEP) České společnosti nukleární medicíny (ČSNM ČLS JEP) -sekce imunoanalytických metod k využití nádorových markerů v klinické praxi*.

NS 5717 – Proteomika: hlavní řešitel Mgr. P. Bouchal, Ph.D.

Proteomické projekty v roce 2008 byly zaměřeny zejména na proteomické profilování karcinomu prsu, karcinomu ledvin a na studium vlivu cytostatika LA-12 na hladiny proteinů krevní plazmy potkanů. Byla propracována metodika identifikace potenciálních markerových proteinů v rámci studií prováděných metodou SELDI-TOF MS. Pro karcinom prsu byly zavedeny nové techniky proteinového profilování tkáňových lysátů: iTRAQ-2DLC-MS/MS a dvourozměrná gelová elektroforéza s obrazovou analýzou a s MS identifikací.

Rozdělení pacientek s karcinomem prsu do klinickopatologicko-relevantních skupin pomocí SELDI-TOF MS. Statistická analýza dat získaných metodou SELDI-TOF MS odhalila, že touto metodou je možné rozdělit pacienty do klinickopatologicko relevantních skupin, které jsou shodné se skupinami získanými dělením podle cDNA profilů. Práce byla publikována v časopise Breast Cancer Research (Brožková et al., 2008), kde si ihned získala pozornost editorů (editorial: Zeidan B.A., Townsend P.A., Breast Cancer Res. 2008, 10, 107-108).

Vyhledávání biomarkerů metastazování do lymfatických uzlin u low grade karcinomu prsu

Naformátováno

V rámci tohoto projektu jsme se zaměřili na vyhledávání biomarkerů metastazování karcinomu prsu u malých nádorů (T1) s nízkým gradem (G1). Byla provedena proteomová studie metodou SELDI-TOF MS, zahrnující 96 nádorů (nemetastazující a metastazující primární nádory, metastáze). Statistická analýza dat odhalila 2 potenciální markerové proteiny, jejichž hladiny korelovaly s metastazováním. Současné úsilí je zaměřeno na identifikaci těchto proteinů. Vybraný soubor 6 nemetastazujících a 6 metastazujících primárních nádorů byl analyzován dvourozměrnou gelovou elektroforézou s MS identifikací. Byly odhaleny zajímavé změny u cytokeratinu-19 (mohlo by se jednat o posttranslační modifikace), u proteinu transgelin (jsou popsány alelické imbalance v souvislosti s karcinomem prsu) a u proteinů hnRP typu (zřejmě v důsledku nespecifického stresu). Zavedení metodiky proteinového profilování karcinomu prsu metodikou iTRAQ-2DLC-MS/MS. Ve spolupráci se skupinou dr. S. Garbise (Athény, Řecko) jsme jako první aplikovali novou metodu iTRAQ-2DLC-MS/MS při proteinovém profilování karcinomu prsu (Bouchal et al, in press). Tato metodika, založená na značení tryptických štěpů proteinů stabilními izotopovými značkami, jejich separaci 2D kapalinovou chromatografií a identifikaci tandemovou MS.

NS 5718 – Projekt ARRAYS: hlavní řešitel Mgr. R. Hrstka, Ph.D.

V rámci tohoto projektu byly sledovány změny transkripčních expresních profilů po působení protinádorových agens, jejichž mechanismus účinku je založen na poškození DNA. Konkrétně byly analyzovány a porovnávány expresní profily p53 signálních genů na modelových buněčných liniích po působení cisplatinu, LA-12 a doxorubicinu. Hlavním výstupem této práce je skutečnost, že LA-12 indukuje unikátní expresní profily p53 signálních genů v porovnání s cisplatinou a doxorubicinem. Především je LA-12 mnohem účinnější cytotoxické agens jak v případě nádorových buněk s nefunkčním p53 tak i u nádorů manifestujících rezistenci k cisplatině.

Současně byla v tomto roce navázána spolupráce s Dr. Auboeufem a jeho skupinou (INSERM, Francie), který je expertem na genomové profilování a bioinformatiku. Cílem je analýza tzv. „splice“ variant genů, jenž hrají důležitou roli v biologii nádorové buňky.

Nejnovější studie v renomovaných časopisech ukazují, že různé izoformy a „splice“ varianty známých genů mohou významně ovlivňovat biologii nádorové buňky včetně odpovědi na terapii. Tato oblast výzkumu představuje jeden z nejnovějších trendů v oblasti genomického profilování využívajícího právě čipovou analýzu. Momentálně byla provedena pilotní analýza 5 vzorků pocházejících z karcinomů vaječníku a 5 paralelně odebraných vzorků zdravé tkáně a předběžné výsledky ukazují statisticky významné rozdíly ve výskytu „splice“ variant při komparativní analýze. Soubor byl proto rozšířen s cílem validovat tyto předběžné výsledky.

NS 05719 - Molekulární a funkční defekty v signálních proteinech STAT a jejich inhibitech SOCS: hlavní řešitel prof. RNDr. J. Kovařík, DrSc.

V dílčí části Výzkumného záměru Fundin jsou studovány molekulární a funkční defekty v signálních proteinech STAT a jejich inhibitech SOCS v nádorových buňkách a analyzována jejich souvislost s průběhem onemocnění a citlivostí na interferony. V roce 2008 byly ukončeny a publikačně zpracovány 2 dílčí studie s níže uvedenými výsledky:

1. v buňkách lidského karcinomu mléčné žlázy je 4x nižší exprese SOCS3 proteinu než v buňkách normálního mamárního epitelu. Maligní buňky s nízkou hladinou SOCS 3 proteinu a poruchou v jeho aktivaci Interferonem gamma jsou rezistentní k biologickým účinkům tohoto cytokinu. Defekty v expresi a inducibilitě aktivace SOCS 3 mohou představovat vhodné biomarkery rezistence k Interferonu gamma.

2. Souvislost aktivace onkogenního transkripčního proteinu STAT 3 po indukci interferony alfa/gamma s průběhem onemocnění byla studována u nemocných maligním melanomem. V 5-ti letém follow-up bylo prokázáno, že nemocní, u nichž došlo k aktivaci STAT 3 po interferonu alfa (nikoliv po IFN gamma), měli významně kratší interval progresu a kratší dobu přežití než nemocní, u nichž k aktivaci STAT 3 proteinu po indukci interferonem alfa nedošlo. Významný závěr: Aktivovaný STAT 3 protein, jako induktor proliferace a inhibitor apoptózy negativně ovlivňuje průběh onemocnění. Stanovení inducibility STAT3 interferonem alfa může sloužit jako prediktivní a prognostický marker u nemocných maligním melanomem.

Publikace:

Součková K., Kovařík A., Dušek L., Humpolíková-Adámková L., Lauerová L., Krejčí E., Matoušková E., Buršíková E., Fojtová M. and Kovařík J. Reduced inducibility of SOCS3 by interferon gamma associates with higher resistance of human breast cancer lines as compared to normal mammary epithelial cells. *Neoplasma*, 2008 – přijato do tisku

Adamkova L., Kovarik J., Dusek L., Lauerova L., Boudny V., Kovarik A. Interferon-alpha treatment may negatively influence disease progression in melanoma patients by hyperactivation of STAT3 protein. *European Journal of Cancer*, 2008 – v recenzním řízení

Adámková L., Dušek L., Sekaninová R., Poláková H., Lauerová L., Fait V., Kovařík A., Boudný V., Kovařík J. Aktivace STAT 3 proteinu interferonem alfa zvyšuje u některých nemocných maligním melanomem riziko progresu. XXXII. Brněnské onkologické dny, Brno 17.-19.4.2008.

Adamkova L., Kovarik A., Dusek L., Lauerova L., Boudny V., Kovarik J. Overactivation of STAT3 by interferon alpha may negatively influence disease outcome in melanoma patients. 20th Meeting of the European Association for Cancer Research, Lyon 5.-8.7.2008

Adamkova L., Boudny V., Dusek L., Lauerova L., Krejci E., Kovarik A., Kovarik J. Interferon alpha-induced STAT 3 phosphorylation correlates with disease outcome in melanoma patients. *Perspectives in Melanoma XII*, Haag 2.-4.10.2008

NS 5721 - Projekt Metylace: hlavní řešitel Mgr. R. Hrstka, Ph.D.

Vlastní projekt sestává ze čtyř dílčích studií:

1. Stanovení metylace promotoru O6-methylguanin DNA methyltransferázy. Tento projekt probíhá ve spolupráci s FN Brno. Pracovní hypotézou je možnost predikovat lepší prognózu u pacientů s „high grade“ gliomem léčených pomocí alkylačních agens (temodal). Po úspěšné optimalizaci izolace DNA z parafinových bloků a stanovení metylace bisulfitovým mapováním v ložském roce byla provedena pilotní studie na materiálu v parafinových blocích získaných z celkem 23 pacientů s diagnózou „high grade“ gliomu a se známou odpovědí na léčbu. Po stanovení stupně metylace promotoru O6-methylguanin DNA methyltransferázy byly výsledky analyzovány vzhledem k odpovědi pacientů na léčbu. Dosažené výsledky naznačují

určitý trend potvrzující původní hypotézu, ale vzhledem k nízkému počtu pacientů nejsou statisticky signifikantní. Komplementárně k analýze metylace promotoru O6-methylguanin DNA methyltransferázy je prováděna analýza exprese miRNA naznačující slibné výsledky v souvislosti s expresí rodiny mir-181.

2. Detekce metylace v promotoru *BRCA1* u tzv. „basal-like“ karcinomů prsu. Gen *BRCA1* hraje zásadní úlohu ve vývoji mléčné žlázy. Přítomnost funkčního *BRCA1* proteinu vede k diferenciaci progenitorových buněk směrem k lumenálním progenitorům a dále k buňkám ductů a alveolů, které vykazují expresi ER- α . Naproti tomu nepřítomnost *BRCA1* proteinu způsobuje diferenciaci směrem k ER-negativním myoepiteliálním buňkám tvořícím bazální laminu ductů a alveolů. V případě „basal-like“ karcinomů, u kterých nebyla zjištěna mutace *BRCA1* genu, lze proto předpokládat poruchu v mechanismech regulujících expresi *BRCA1* genu. V případě metylace wt *BRCA1* genu by se nabízela jako vhodnější léčba využívající např. alkylační agens. V dané chvíli bylo shromážděno přibližně 40 vzorků, u kterých probíhá stanovení metylace genu *BRCA1*.

3. Stanovení a význam metylace promotoru *E6* genu lidského papillomaviru 16 (HPV 16) v intraepiteliálních lézích a karcinomech děložního čípku. Cílem projektu bylo stanovit frekvenci výskytu HPV 16 nejen u pacientek s CIN a karcinomem děložního hrdla ale i u náhodně vybraného vzorku populace asymptomatických žen. Následně u HPV16 pozitivních vzorků chceme prokázat význam metylace *E6* genu HPV 16 pro vznik a progresi nádorového onemocnění a vyjádřit tak individuální riziko pro ženy infikované HPV 16. V naší práci nejprve detekujeme přítomnost HPV 16 pomocí PCR s nově navrženými, vysoce specifickými primery. Jako kontroly používáme nádorové cervikální linie SiHa (HPV 16 pozitivní) a HT3 (HPV negativní). Takto jsme celkem analyzovali 103 kartáčkových stěrů od zdravých žen, kde se pozitivita HPV 16 pohybovala okolo 20,4 %. U skupin pacientek s jednotlivými patologickými stupni CIN je incidence HPV 16 u CIN I 44,4 % (n=18) a u CIN II/III 62,2 % (n=143). U karcinomů děložního čípku byla přítomnost HPV 16 prokázána u 74,2 % případů (n=31). U HPV 16 pozitivních vzorků provádíme stanovení metylace v promotoru genu *E6* pomocí specifické endonukleázy McrBc. Methylace promotoru *E6* genu byla detekována u 81 % negativních stěrů v porovnání s 31,5 % u skupiny CIN II/III. Naopak demethylace byla pozorována u 68,5 % CIN III a 56,6 % karcinomů oproti 19 % u skupiny asymptomatických žen. Tyto výsledky představují významný rozdíl v zastoupení metylací či demethylací promotorů virových genů během vývoje CIN a neoplastické transformace spojené se vznikem nádoru a potvrzují tak hypotézu

klesajícího zastoupení metylací během progresu CIN na statistické úrovni $P < 0.001$; Pearson's chi-square test.

4. Stanovení metylace promotoru histon H2B-specifické ubiquitin ligázy RNF20/hBRE1. Projekt probíhá ve spolupráci s prof. Orenem (Weizmann Institute of Science, Izrael), v jehož laboratoři byl identifikován gen RNF20 kódující E3 ubiquitin ligázu. Vzhledem k jeho vlastnostem se tomuto proteinu přisuzuje funkce nádorového supresoru, neboť je zodpovědný za regulaci exprese nejen histonů H2A a H2B, ale i řady jiných genů včetně *TP53*. Naše výsledky naznačují, že právě metylace promotoru RNF20 hraje významnou roli v regulaci exprese tohoto genu.

Publikace:

HRSTKA, R., POWELL, D.J., KVARDOVA, V., ROUBALOVA, E., BOUROUGAA, K., CANDEIAS, M.M., SOVA, P., ZAK, F., FAHRAEUS, R., VOJTESEK, B. The novel platinum(IV) complex LA-12 induces p53 and p53/47 responses that differ from the related drug, cisplatin. *Anticancer drugs*, 2008, vol. 19, no. 4, p. 369-379. ISSN: 0959-4973. IF: 2,36

HUBLAROVÁ, P., HRSTKA, R., VOJTĚŠEK, B. Význam metylace v genomu lidského papillomaviru 16 u karcinomu děložního hrdla. *Čes Gynek*, 2008, vol. 73, no. 2, p. 87-92. ISSN: 1210-7832. IF: -

AVERY-KIEJDA, K.A., ZHANG, X.D., ADAMS, L.J., SCOTT, R.J., VOJTESEK, B., LANE, D.P., HERSEY, P. Small Molecular Weight Variants of p53 Are Expressed in Human Melanoma Cells and Are Induced by the DNA-Damaging Agent Cisplatin. *Clin Cancer Res*, 2008, vol. 14, no. 6, p. 1659-1668. ISSN 1078-0432. IF: 6,25

SHEMA, E., TIROSH, I., AYLON, Y., HUANG, J., YE, CH., MOSKOVITS, N., RAVER-SHAPIRA, N., MINSKY, N., PIRNGRUBER, J., TARCIC, G., HUBLAROVA, P., MOYAL, L., GANA-WEISZ, M., SHILOH, Y., YARDEN, Y., JOHNSEN, S.A., VOJTESEK, B., BERGER, S.H., OREN, M. The histone H2B-specific ubiquitin ligase RNF20/hBRE1 acts as a putative tumor suppressor through selective regulation of gene expression. *Genes Dev*, 2008, vol. 22, no. 19, p. 2664-2676. ISSN: 0890-9369. IF: 14,80

SLABÝ O, KREKÁČ D, HRSTKA R, SVOBODA M, VYZULA R. Zapojení mikroRNA do patogeneze nádorových onemocnění a možnosti jejich využití v diagnostické a prediktivní onkologii. *Cas Lek Cesk*, 2008, vol. 147, no. 1, p.25-31. Czech. ISSN: 0008-7335. IF: -

HRSTKA, R., COATES, P.J., VOJTESEK, B. Polymorphisms in p53 and the p53 pathway: Roles in cancer susceptibility and response to treatment. *J Cell Mol Med*, 2008, [accepted]. ISSN: 1582-1838. IF: 6,81

SLABY, O., SOBKOVA, K., SVOBODA, M., GARAJOVA, I., FABIAN, P., HRSTKA, R., NENUTIL, R., SACHLOVA, M., KOCAKOVA, I., MICHALEK, J., SMERDOVA, T., KNOFLICKOVA, D., VYZULA, R. Significant overexpression of Hsp110 gene during colorectal cancer progression. *Oncology Reports*, 2008, [accepted]. ISSN: 1021-335X. IF: 1,579

KVARDOVÁ, V., HRSTKA, R., POWELL, D.J., ROUBALOVÁ, E., SOVA, P., VOJTEŠEK, B. Comparing the effect of the novel platinum(IV) complex LA-12 and cisplatin on the response in cancer cell lines. In *Sborník abstraktů přednášek: Seminář k vědeckovýzkumného záměru MŠM6198959216*, 22.-24.5.2008, Karlov pod Pradědem. s. 6.

HRSTKA, R., ŠMERDOVÁ, T., NENUTIL, R., VOJTĚŠEK, B. Úloha proteinu AGR2 při endokrinní terapii karcinomu prsu. In *Chem Listy*, 2008, vol. 102, no. 5: VIII. Setkání mladých chemiků, biochemiků a molekulárních biologů, 10. – 13.6.2008, Milovy, ČR. Česká společnost chemická, 2008, str. 377. ISSN: 0009-2770. IF: 0,683

BROŽKOVÁ, K., KRÁL, Z., HRSTKA, R., HÁJEK, R., MAYER, J., VORLÍČEK, J., VOJTĚŠEK, B. Slibný účinek Bortezomibu v léčbě Hodgkinových lymfomů. In *Edukační sborník: XXXII. Brněnské onkologické dny s XXII. Konferencí pro sestry a laboranty*, 17.-19.4.2008, Brno, 2008, s. 334. ISBN 978-9780-86793-11-5.

KVARDOVÁ, V., HRSTKA, R., ŠMERDOVÁ, T., KNOFLÍČKOVÁ, D., NENUTIL, R., VOJTĚŠEK, B. Analýza exprese proteinu AGR3 u karcinomu prsu. In *Edukační sborník: XXXII. Brněnské onkologické dny s XXII. Konferencí pro sestry a laboranty*, 17.-19.4.2008, Brno. Brno: Masarykův onkologický ústav v Brně, 2008, s. 27. ISBN 978-9780-86793-11-5.

SLABY O, HRSTKA R, SOBKOVA K, DUBSKA L, SVOBODA M, OVESNA J, VYZULA R. Knockdown of oncogenic microRNA-21 displays cytotoxicity in p53 wild-type colon cancer

cells. In: Eur J Cancer Supplements, 2008, vol.6, no. 9, p.78. 20th Meeting of the European Association for Cancer Research, 5.-8. July 2008, Lyon, France. ISSN: 0014-2964

SLABY O, HRSTKA R, DUBSKA L, SVOBODA M, RUCKOVA E, OVESNA J, VYZULA R. Significance of microRNA-21 in colorectal cancer pathogenesis. In: FEBS J, 2008, vol. 275, Suppl. 1, p. 465. 33rd FEBS Congress and 11th IUBMB Conference - Biochemistry of Cell Regulation, 28.6.-3.7.2008, Athens Greece. ISSN: 1742-464X. IF: 3,396

NS 5723 - Využití mikroRNA: hlavní řešitel RNDr. O. Slabý, Ph.D.

MikroRNA ve výzkumu kolorektálního karcinomu

MikroRNA (miRNA) tvoří velkou skupinu krátkých nekódujících RNA post-transkripčně regulujících genovou expresi. Na základě schopnosti miRNA regulovat translaci onkogenů a nádorových supresorů lze předpokládat jejich funkční zapojení do procesů kancerogeneze. Ve výzkumu nádorů tlustého střeva a konečnicku již byly zveřejněny práce definující profily exprese miRNA odlišující nádorovou tkáň od zdravé střevní sliznice či schopnost vybraných miRNA vykazovat funkci nádorového supresoru nebo onkogenu. V naší studii jsme metodou Real-Time PCR sledovali vztah vybraných miRNA ke klinicko-patologickým charakteristikám kolorektálního karcinomu (CRC) na souboru 29 pacientů. Nejvyšší hladiny v nádorové tkáni oproti normálnímu střevnímu epitelu vykazovala miR-21 ($p=0,0001$), kterou jsme pozitivně asociovali také s postižením lymfatických uzlin ($p=0,027$) a rozvojem vzdálených metastáz ($p=0,009$). K objasnění funkce miR-21 v patogenezi CRC jsme provedli *in vitro* studii na buňkách kolorektálního karcinomu DLD1 a SW837. Za tímto účelem jsme do buněk transientně transfekovali 2-O-methylované oligonukleotidy, anti-miRNA-21, což vedlo k reprodukovatelnému poklesu hladin miR-21 na 12%-15% oproti expresi v kontrolních buňkách, do kterých byl transfekován 2-OMe-EGFP. Pro normalizaci dat byla použita malá jaderná U6B RNA (RNU6B), jejíž exprese nebyla transfekcí ani v jednom případě ovlivněna. Transfekce anti-miRNA-21 vedla k přibližně 30% poklesu proliferace obou testovaných linií při měření MTT testem. V současné době testujeme vliv anti-miRNA-21 na senzitivitu buněk k panelu cytostatik (5-fluorouracil, irinotekan, oxaliplatin), její vliv na buněčný cyklus průtokovou cytometrií a invazivní vlastnosti pomocí matrigelového testu invazivity. Zdvojnásobili jsme zkoumaný soubor pacientů a doplnili ho o další klinicko-patologické údaje včetně parametrů přežití. Věříme, že naše práce je dalším příspěvkem ke studiu funkcí miRNA v regulaci apoptózy, buněčné proliferace a diferenciaci během patogeneze kolorektálního karcinomu.

Publikace:

Slabý O., Hrstka R., Sobková K., Dubská L., Svoboda M., Vyzula R. Knockdown of oncogenic microRNA-21 displays cytotoxicity in p53 wild-type colon cancer cells. In European Journal of Cancer Supplements. Volume 6, 2008. Oxford, UK : Elsevier Ltd., 2008. od s. 78-78, 1 s. ISSN 1359-6349.

Slabý O., Hrstka R., Sobková K., Dubská L., Svoboda M., Vyzula R. Significance of microRNA-21 in colorectal cancer pathogenesis. In FEBS Journal. 2008, 275, Suppl. 1. Oxford, UK : FEBS, 2008. od s. 465-465, 1 s. ISSN 1742-464X.

Slabý O., Hrstka R., Sobková K., Dubská L., Svoboda M., Vyzula R. Identifikace a studium funkce mikroRNA s prediktivním a prognostickým významem u pacientů s kolorektálním karcinomem. In Edukační sborník. XXXII. Brněnské onkologické dny s XXII. Konferencí pro sestry a laboranty. (ISBN: 978-9780-86793-11-5). Brno : Masarykův onkologický ústav, 2008.

Prediktivní význam vybraných mikroRNA u pacientů s multifornním glioblastomem.

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 post-transkripční 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) na Masarykově onkologickém ústavu v Brně, kde zůstali nadále dispenzarizováni. Potvrdili jsme dřívější pozorování ve smyslu změn v hladinách studovaných mikroRNA v nádorové tkáni oproti nenádorové (mozkové arterio-venózní malformace). Tkáň GBM vykazuje signifikantně zvýšené hladiny miR-21 ($p=0,001$), snížené hladiny miR-128a ($p=0,0063$) a na hranici statistické významnosti pokles v hladinách rodiny miR-181a-c. Rodina miR-181a-c navíc statisticky významně souvisí s odpovědí na konkomitantní chemoradioterapii s temozolomidem GBM, přičemž nízké hladiny jsou pozitivním prediktivním faktorem. Nízké hladiny těchto mikroRNA jsou asociovány také s lepším celkovým přežitím pacientů s GBM ($p=0,049$). Soubor v současné době rozšiřujeme a připravujeme *in vitro* studii na funkční validaci identifikovaných změn v expresi mikroRNA na modelu stabilních glioblastomových buněčných linií. Pilotní data připravujeme k publikaci.

Publikace:

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 multiformním glioblastomem. In Sborník abstrakt IV. DNY DIAGNOSTICKÉ, PREDIKTIVNÍ A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE (supplementum časopisu Onkologie, 2008), ISSN 1803-5922, str. 19.

Využití DNA čipů za účelem identifikace nových prognostických markerů CRC

Kolorektální karcinom (CRC) patří v České republice k nejčtenějším nádorovým onemocněním. Léčebný plán je pacientům indikován na základě stratifikace do klinických stádií vycházející z TNM klasifikace. Zatímco u I. a IV. klinického stádia je prognostický význam klasifikace jednoznačný, u skupiny pacientů ve II. (bez postižení regionálních lymfatických uzlin RLU) a III. klinickém stádiu (s diseminací do RLU) tomu tak není. Příčinou je časté podhodnocení N stádia lymfatických uzlin z důvodu nedostatečného počtu odebraných a/nebo vyšetřených uzlin. Předpokládáme, že molekulární charakterizace nádorů metastazujících do RLU pomocí profilů genové exprese umožní detekci postižení RLU tam, kde selhávají konvenční diagnostické metody. Do studie bylo zahrnuto 20 pacientů s histologicky potvrzeným sporadickým CRC (10 pacientů ve stádiu II, 10 ve stádiu III). V tumorech jsme stanovili relativní expresi 440 genů s významem v nádorové biologii pomocí nízkohustotních oligonukleotidových čipů SuperArray. Validace výsledků byly provedeny na nezávislé skupině 29 pacientů s CRC (I.stádium-7, II.stádium-13, III.stádium-4 a IV.stádium 5 pacientů) pomocí kvantitativní Real-Time PCR. VÝSLEDKY: Pomocí t-testu ($\alpha = 0,05$) a metody SAM byly identifikovány 3 geny (HSP110 - Heat shock protein 110, HYOU1 - Hypoxia up-regulated 1, TCTP - Translationally controlled tumor protein) s více než dvojnásobnou expresí u pacientů s diseminací do uzlin. Gen pro Hsp110 jsme podrobili

důkladnějšímu ověření. Poprvé jsme identifikovali statisticky významné zvýšení hladin Hsp110 na úrovni mRNA v CRC oproti párovým kontrolním sliznicím ($p < 0,0001$). Podařilo se rovněž potvrdit trend ve změnách exprese genu pro Hsp110 mezi skupinami pacientů s lokalizovaným a diseminovaným onemocněním pozorovaný při čipových analýzách ($p = 0,03$). Up-regulace genu Hsp110 byla dle Kaplan-Meierovy analýzy spojena také s kratším celkovým přežitím pacientů s CRC. Veškerá tato pozorování byla u CRC učiněna poprvé. V současné době provádíme bioinformatické analýzy za účelem identifikace mikroRNA schopných regulovat hladiny proteinových produktů identifikovaných genů.

Publikace:

Slabý O., Sobková K., Svoboda M., Garajová I., Fabian P., Hrstka R., Nenutil R., Šachlová M., Kocáková I., et al. Significant overexpression of Hsp110 gene during colorectal cancer progression. *Oncology Reports*, Athens, Greece : Spandidos Publications Ltd., 2008, 7 s. ISSN 1021-335X. In press (IF=1,6)

Slabý O., Sobková K., Svoboda M., Garajová I., Fabian P., Nenutil R., Šachlová M., Kocáková I., et al. Altered expression of heat shock protein 110 (HSP 110), hypoxia up-regulated 1 (HYOU 1) and translationally controlled tumor protein (TCTP) during colorectal cancer progression. In *EJC Supplements*. Volume 6, 2008. Oxford, UK : Elsevier Ltd., 2008. ISSN 1359-6349.

Sobková K., Slabý O., Svoboda M., Garajová I., Fabian P., Nenutil R., Šachlová M., Kocáková I., et al. Zvýšená genová exprese heat shock proteinu 110 (HSP110), hypoxií up-regulovaného proteinu 1 (HYOU1) a translačně kontrolovaného nádorového proteinu (TCTP) během progresu kolorektálního karcinomu. In *Edukační sborník. XXXII. Brněnské onkologické dny s XXII. Konferencí pro sestry a laboranty*. (ISBN: 978-9780-86793-11-5). Brno, 2008. od s. 31-31, 1 s.

Souvislost somatostatinových receptorů SSTR1-SSTR5 a odpovědi pacientů s karcinoidy na léčbu somatostatinovými analogy.

Somatostatin je polypeptidový hormon účinkující jako inhibitor hypofyzární, pankreatické a gastrointestinální sekrece. Somatostatinových 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 somatostin 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 obsazení 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 ke 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. Pomocí metodiky Real-Time PCR jsme u pacientů stanovili expresi 5 podtypů somatostatinových receptorů (SSTR1-SSTR5). Veškerá měření byla provedena v trojném opakování. Nepozorovali jsme očekávaný význam exprese receptorů SSTR2, SSTR3 a SSTR5 pro predikci objektivní odpovědi na léčbu SA. Poprvé jsme identifikovali silný prediktivní potenciál (TTP, radiologická odpověď) hladin mRNA pro SSTR4, přičemž nízká nebo nulová exprese SSTR4 byla spojena s lepší objektivní odpovědí po 6 měsících léčby ($p=0,05$) a významně delším časem do progresu onemocnění ($p=0,0015$). Rozšiřujeme soubor a plánujeme validaci našich pozorování na proteinové úrovni pomocí IHC. Pomocí bioinformatických analýz se snažíme identifikovat skupinu mikroRNA s nejsilnějším potenciálem regulovat SSTR1-SSTR5, jako další potenciální prediktivní markery v léčbě SA. Pilotní data připravujeme k publikaci. 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. In Sborník abstrakt IV. DNY DIAGNOSTICKÉ, PREDIKTIVNÍ A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE (supplementum časopisu Onkologie, 2008) ISSN 1803-5922, str. 20

NS 5725 – Funkční adaptovaná radioterapi: hlavní řešitel prof. MUDr. P.Šlampa, CSc.

Konformní 3D brachyterapie u karcinomu čípku s využitím funkční diagnostiky:

Řešitel: MUDr. Jana Garčicová (Růžičková)

Spoluřešitelé: prof. MUDr. Pavel Šlampa, CSc., MUDr. Denis Princ, MUDr. Petr Opletal, ing. Hana Tichá, RNDr. Radka Bartlová, ing. Anna Odložilíková PhD., Jarmila Fuchsová

Cíl projektu:

přechod od 2D k 3D brachyterapii karcinomu děložního hrdla

identifikace aplikátoru v CT a MR obraze

stanovení optimálního počtu a časování MR a CT vyšetření v průběhu BRT

implementace 3D BRT do nového RT protokolu

Stav řešení projektu (prosinec 2008):

- únor 2008: nákup CT/MR kompatibilního Fletcherova aplikátoru
- v průběhu roku 2008 byla zavedena metodika 3D plánování a následně ověřena její proveditelnost - provedeno CT a MR vyšetření s aplikátorem in situ u 15 pacientek spolu s analýzou DVH pro cílové objemy a kritické orgány

1. etapa: únor - březen 2008

CT a MR vyšetření aplikátoru ve fantomu

ověření CT a MR kompatibility

stanovení optimálních sekvencí pro plánování BRT

2. etapa: březen - prosinec 2008

15 pacientek s diagnózou C53 indikovaných ke kurativní kombinované radioterapii

CT řezy s 3 mm intervaly a MR pánve ve třech T2 sekvencích – transverzálních, sagitálních a frontálních řezech - vztažených k ose uterinní sondy. Další T2 transverzální sekvence je kolmá k ose pacienta a desce stolu a slouží k přesnějšímu fúzování s CT.

V souladu s doporučením pracovní skupiny GEC-ESTRO pro gynekologické malignity zaznamenáváme doporučené parametry DVH pro GTV, HR CTV, IR CTV a pro kritické orgány.

Publikace:

Princ D., Garčicová-Růžičková J., Tichá H., Opletal P., Fuchsová J. První zkušenosti s plánováním brachyterapie gynekologických malignit na podkladě CT a MR

Sborník přednášek 5. ročník symposia v radiační onkologii, 3.-4.10.2008, Nový Jičín

Plán na rok 2009:

- pokračovat v náboru pacientek
 - předpokladem předléčebné MR pánve - k určení IR CTV

- vyhodnocování DVH - zaznamenávání parametrů D90, D100, V100, V150, V200 pro GTV, HR CTV, IR CTV, dávky pro rektum, močový měchýř, sigmoideum v 0,1 cm3, 1 cm3, 2 cm3 objemu, korelace s akutní a pozdní toxicitou
- snaha o identifikaci aplikátoru v MR obraze
 - kontrastní zobrazení - Gadolinium
- publikace

Algoritmus výpočtu dávkové distribuce konformní radioterapie v objemu s nehomogenní strukturou

Plánované období: XII/2007 - XII/2010

Řešitel: Ing. Jan Garčic (ORF)

Spoluřešitelé (ORF a KRO): RNDr. Jiří Šimíček, ing. Martin Steiner, MUDr. Petr Čoupek, MUDr. Tomáš Novotný, MUDr. Irena Čoupková, Dana Tůmová

Cíle projektu

Hlavní cíl projektu:

- Zavedení nového výpočetního algoritmu AAA (Analytical Anisotropic Algorithm) do klinické praxe a nahrazení staršího algoritmu PBC (Pencil Beam Convolution) se záměrem přesnějšího výpočtu dávkové distribuce konformní radioterapie v oblasti nehomogenit.

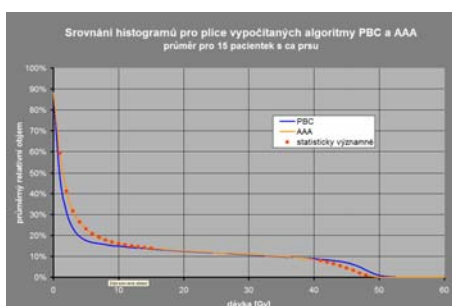
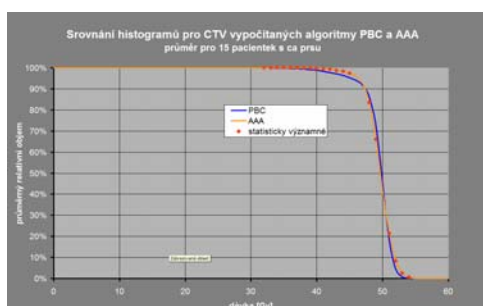
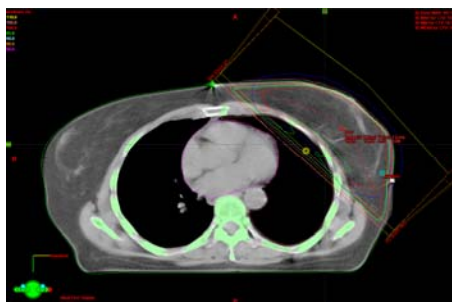
Vedlejší cíle projektu:

- Srovnání algoritmu AAA se starým algoritmem PBC a zjištění přínosů nového algoritmu a zjištění jejich klinického dopadu
- Ověření přínosů přesnějšího výpočtu AAA nejen pro oblast nehomogenit, ale i v oblastech, kde starší algoritmus PBC selhává: oblast build-up, oblast s nedostatečným bočním rozptylem, polostín polí
- Zjištění limitů algoritmu AAA ověřením proti měření na urychlovači, jinými výpočetními algoritmy (Monte Carlo) a proti údajům v literatuře

Současný stav řešení

- uskutečněna instalace a konfigurace algoritmu AAA do plánovacího systému Eclipse pro jeden lineární urychlovač
- provedeno srovnání výpočtu pomocí algoritmu AAA s výpočtem pomocí algoritmu PBC pro tkáněkvivalentní fantom v řadě referenčních i nereferenčních podmínek
- provedeno srovnání výpočtu pomocí algoritmu AAA s měřením ve fantomu při ozařování na lineárním urychlovači

- bylo zpracováno srovnání obou algoritmů pro některé typ klinických plánů, získány první výsledky, identifikovány základní rozdíly ve výsledcích výpočtů obou algoritmů
- prezentovány první výsledky na odborné konferenci, připravena publikace do odborného časopisu
- realizován nákup dalšího plánovaného vybavení pro výzkumný projekt a zprovoznění nově zakoupených výzkumných prostředků



Publikace:

Garčic J., Šimíček J., Steiner M.: Naše první zkušenosti s výpočetním algoritmem AAA plánovacího systému Eclipse, Sborník přednášek, 5. ročník symposia o radiační onkologii, 3.-4.10.2008, Nový Jičín

Plán

- konečné ověření algoritmu AAA pro klinické použití a zahájení jeho klinického používání
- zprovoznění měření dávkové distribuce ve fantomu pomocí gařchromických filmů a skenování na nově zakoupeném skeneru
- ověření výpočtů algoritmu AAA pro oblast build-up, srovnání s měřením na urychlovači, s publikovanými údaji

- ověření dávkové distribuce měřeními na urychlovači v homogenním fantomu a ve fantomu s nehomogenitami za použití gafchromických filmů
- publikace v odborném časopisu

NS 5726 - Program výzkumu nových PET radiofarmak na Masarykově onkologickém ústavu: hlavní řešitel: Ing. et Ing. J. Adam

Program výzkumu nových radiofarmak na MOÚ byl koncipován v návaznosti na výstavbu nového PET centra MOÚ, ve spolupráci s Ústavem jaderného výzkumu Praha-Řež.

V roce 2008 byl pracovníky ÚJV uveden do plného provozu cyklotron a v jarních měsících zahájena pravidelná produkce ^{18}F -fluorodeoxyglukosy (FDG) pro PET scany prováděné na PET centru. Byl instalován a do užívání předán syntézní modul TracerLab FX F-N, zakoupený v minulém roce z prostředků MOÚ. Tento modul bude sloužit k přípravě radiofarmak na bázi pozitronového emitoru fluoru-18. V závěru roku byla instalována dvojice modulů pro práci TracerLab FXC (v majetku ÚJV), určených pro výzkum radiofarmak založených na ^{11}C .

Vědecká koncepce:

V průběhu roku 2008 došlo k redefinování priorit v rámci jednotlivých radiofarmak, které jsou středem výzkumného zájmu. Fluormisonidazol, marker hypoxie, byl v plánu výzkumu radiofarmak na bázi fluoru odsunut na druhé místo, přednost byla prozatím dána fluoro-L-thymidinu (FLT), v jehož prospěch mluví vyšší univerzalita a možnost pružné kombinace s prováděnými FDG scany. Pro program výzkumu radiofarmak založených na uhlíku 11 byl jako prvotní předmět zájmu zvolen ^{11}C -methionin (11C-MET), marker proteosyntézy. Pro obě zvolená radiofarmaka byly zahájeny předběžné přípravy studií, částečně ve spolupráci s jinými brněnskými medicínskými zařízeními. Program značení monoklonálních protilátek pomocí pozitronových emitortů prozatím odložen. V příštím roce jsou plánovány první studie s FLT a ovládnutí metodiky přípravy 11C-MET.

Stáže a publikace:

Ing. et Ing. Jan Adam absolvoval na přelomu března a dubna čtrnáctidenní stáž na Mayo Clinic v Rochesteru (Minnesota, USA). Předmětem stáže byl pobyt v týmu PET radiochemické laboratoře pod vedením Marka S. Jacobsona. Byly identifikovány oblasti potenciální budoucí spolupráce, načerpány znalosti o chodu a organizaci výzkumu PET radiofarmak v medicínském zařízení duchem a organizací podobným MOÚ. Obecné shrnutí

vývoje programu výzkumu radiofarmak bylo provedeno formou přehledového článku, který byl zaslán k recenznímu řízení do časopisu Klinická onkologie v prosinci 2008.

Adam, J. – Andres, P. – Bolčák, K. – Čermáková, M. – Demlová, R. - Dubská, L. – Sedláčková, Š. – Valík, D. Nová radiofarmaka a aplikace pozitronové emisní tomografie na Masarykově onkologickém ústavu v Brně, Klinická onkologie, zasláno k recenzi

NS 5720 - Magnetická rezonance prsu: hlavní řešitel MUDr. M. Schneiderová

Obecné cíle:

- 1) Magnetická rezonance prsu jako screeningová metoda u žen s vysokým rizikem karcinomu prsu.
- 2) Magnetická rezonance prsu jako metoda doplňující předoperační staging karcinomu prsu.
- 3) Magnetická rezonance prsu MR jako metoda ke sledování charakteru neoangiogeneze karcinomu prsu.
- 4) Fysiologický enhancement mléčné žlázy v postkontrastním MR obrazu.

Specifický cíl:

Stanovit optimální využití magnetická rezonance prsu.

Stanovit optimální indikace magnetická rezonance prsu.

Základní průběžné výsledky:

Celkem 1051 provedených MR prsu (6/2005 - 11/2008)

2005 59 vyš

2006 275 vyš

2007 317 vyš

2008 400 vyš

Rok 2008: 400 MR prsu

Dle indikace:

183 Dispenzarizace žen s vysokým rizikem ca prsu („heredita“)

101 Dif dg z nálezu UZ a/nebo MG (ženy bez předchozí dg C50)

45 Předoperační staging již dg karcinomu prsu

43 Dif dg po terapii C50 (dif dg recidiva/změny po terapii)

19 Efekt neoadjuvantní chemoterapie

5 Implantáty (ruptura?)

4 Primum ignotum

1) Magnetická rezonance prsu u žen s vysokým rizikem karcinomu prsu

486 MR prsu v období 10/05 - 11/08

183 MR prsu v roce 2008

Ženy BRCA1,2 pozitivní, ženy s empirickým rizikem 20% a více. Každoroční MR+MG+UZ a UZ za 6 měsíců.

Výsledky: Celkově záchyt 9 Ca prsu (5x T1b N0 M0, 3x T1c N0 M0, 1x TIS(DCIS hg z biop))

Metoda záchytu: MR 9 Ca prsu,
MG žádný záchyt
UZ 3 Ca prsu

Rok 2008 - 2 nové záchyty: MR+, UZ+, MG 0 (T1c N0 M0 + TIS (DCIS hg))

Závěr:

Kontrastní magnetická rezonance prsu se ukazuje jako metoda s **nejvyšší sensitivitou** pro screening (dispenzarizaci) žen s vysokým rizikem karcinomu prsu. (Sensitivita mamografie u BRCA+ žen klesá až na 25-30%). Z 9 zachycených karcinomů bylo 6 detekováno pouze magnetickou rezonancí. Výsledky jsou v souladu s většími publikovanými soubory - na jejich základě ACS v květnu 2007 vydala nové guidelines s doporučením každoroční MR jako metody první volby pro screening žen s vysokým rizikem karcinomu prsu. MR screening žen s vysokým rizikem karcinomu prsu je v MOÚ plně zaveden (v roce 2008 183 vyšetření).

2) Magnetická rezonance prsu v předoperačním stagingu již diagnostikovaného invazivního karcinomu prsu a DCIS

126 MR prsu v období 10/05 -11/08

45 MR prsu v roce 2008

Výsledky: 25 x shoda MR/ hist
3 x parciální neshoda MR/ hist
1 x neshoda MR/ hist

17 x zatím není výsledek

Záměr - MR možnosti:

Invazivní karcinom - stanovit/ vyloučit multicentricitu (MR 90%, MG 40%)

- stanovit/ vyloučit kontralaterální karcinom (až 5% okultních kontralater. Ca)

- lépe stanovit velikost tumoru (shoda s finalní histol. MR 90%, MG 73%)

DCIS - lépe stanovit rozsah - tedy DCIS mimo mikrokalcifikace viditelné v MG obraze (tedy "mamograficky němý")

Cíl MR stagingu:

- snížení počtu pozitivních okrajů

- snížení počtu reoperací

- snížení stresu pacientky (vyřešení všech Ca v jedné době)

Limitace: jsou v nižší specifitě metody - postkontrastní enhancement mohou vykazovat F-C změny, inflamace, papilární léze, produktivní granulární fibróza - mohou tak být zdrojem falešně pozitivního závěru.

K možnosti ověření a eliminaci těchto falešně pozitivních výsledků vyplývá nutnost investičního pořízení MR bioptické navigační jednotky.

Závěr: průběžné výsledky ukazují pozitivní vliv zařazení magnetické rezonance prsu do předoperačního stagingu (udává se změna operačního výkonu až 26%, ve 25 případech ze 45 vyš shoda MR s finální histologií). Bohužel z této indikace bylo zatím provedeno méně vyšetření, ale proti roku 2007 je nárůst téměř 100% - 45 vyš v roce 2008, 25 vyš za rok 2007.

3) Magnetická rezonance ve sledování efektu neoadjuvantní chemoterapie karcinomu prsu: provedeno 19 MR vyšetření

Cíl: V MG a UZ obrazu lze sledovat „jen“ změnu velikosti tumoru - hodnocení může být obtížné - terén denzní žlázy, nástup jizevnatých fibrozních změn (tumor i přes regresi v podstatě stejný). MR obraz vedle hodnocení morfologie obrazu i možnost funkčního hodnocení vaskularizace (neovaskularizace) tumoru - změna enhancement i při případné stacionární velikosti

Závěr: u všech uzavřených případů (ukončená neoadjuvantní chemoterapie a provedený operační výkon) bylo možné lépe a přesněji hodnotit efekt léčby z MR obrazu, než z MG či UZ.

4) MR prsu v dif dg z nejasného MG a/nebo UZ nálezu

101 MR prsu u žen bez předchozí dg C50

43 MR prsu u žen po terapii C50

Není vhodná jako diferenciatně diagnostický instrument určité ložiskové léze jednoznačně detekovatelné v UZ či MG - zde metodou volby core biopsie (MR při nižší specifitě jednoznačně nerozliší benigní/maligní). Ukazuje se ale jako výhodná metoda k „vymezení oblasti zájmu“ pro případnou biopsii či další kontrolní vyšetření u nepřehledné difuzně denzní a nepravidelné žlázy, u vícečetných ložiskových změn (byť benigního vzhledu - které z nich histologicky ověřit), u vícečetných shluků či difuzních mikrokalcifikací (kam cílit bioptický výkon).

CELKOVÉ PRŮBĚŽNÉ ZÁVĚRY:

- Magnetická rezonance prsu je metoda s nejvyšší sensitivitou pro detekci (zobrazení) invazivního karcinomu prsu a high grade DCIS.
- Optimální využití je v indikacích, které využijí (a požadují) vysokou sensitivitu a naopak v první řadě nečekají jednoznačnou specifikaci léze.
- Méně vhodné jsou indikace, které očekávají vysokou specifitu (představa, že MR nahradí biopsii) - je-li nejasná léze v MG nebo UZ obraze, není metodou volby MR, ale core biopsie.

- Na základě vlastních zkušeností (1051 vyšetření) můžeme konstatovat, že mezi optimální indikace MR prsu patří:
 - 1.) MR screening žen s vysokým rizikem karcinomu prsu,
 - 2.) MR předop staging karcinomu prsu
 - 3.) MR sledování efektu neoadjuvantní chemoterapie.

- Ke zvýšení specifity metody a komplexnosti provádění MR diagnostiky prsu však nutně patří možnost provedení MR navigované biopsie prsu.

Publikace/prezentace 2008:

MR v dispenzarizaci žen s vysokým rizikem vzniku karcinomu prsu
Schneiderová M. *Celostátní seminář radiologických asistentů, Brno, březen 2008.*

Plevová P¹, Novotný J², Petráková K³, Palácová M³, Kalábová R³, Schneiderová M, Foretová L³ Syndrom hereditárního karcinomu prsu a karcinomu ovarií. *Připravované Suplementum Klinické onkologie.*

CT kolonografie (virtuální kolonoskopie): hlavní řešitel Dr. P. Opletal

CT kolono - cíle

- 1. Proveditelnost a hodnotitelnost vyšetření tračníku pomocí CT kolonografie (virtuální kolonoskopie), úskalí metody, falešná negativita, pozitivita
- 2. Korelace CT kolonograficky zjištěných nálezů s následnou kolonoskopií či operační revizí event. histologií; senzitivita, specificita
- 3. Možnost zobrazení orálního tračníku od místa maximálního průniku kolonoskopu u stenozujících tumorů, korelace s operační revizí

CT kolono – soubor 1

- Od 3/05 do 11/08 vyšetřeno CT kolonografií 49 pacientů (17 - 77 let)
- pouze u jedné pacientky (2%) nebyl nález hodnotitelný z důvodu nedostatečně rozeprtého tračníku při peritoneální MTS diseminaci s ascitem
- u 6 pacientů (12%) prokázán tumor malign. charakteru, který byl potvrzen jinými metodami, přičemž 1x zde byla konvenční kolonoskopie negativní (tumor caeca)
- u 5 pacientů solitární či vícečetné polypy do 10 mm, potvrzené kolonoskopicky či peroperačně

CT kolono – soubor 2

- u 3 pacientů (6%) falešně pozitivní nález :
- 2x vícečetné přisedlé polypy c. caecoascendens
- exofytický tumor v oblasti Bauhinské chlopně
- obojí následnou kolonoskopií v celkové anestezii verifikováno jako fekální zbytky
- 2 x nebylo možno rozhodnout o benign. X malign. charakteru stenózy anastomózy
- 1 x lymfadenopatie v mezokolon
- 1 x MTS jaterní
- 1 x incidentální tumor ledviny

- 10 x divertikulóza
- 21 pacientů s prakticky negativním CT kolono nálezem, tito však většinou nebyli dále verifikováni

CT kolono - předběžné závěry

- Metoda je dobře proveditelná a hodnotitelná, má nižší specifitu v pravém tračníku, výhoda v zobrazení okolních struktur
- Cíle jsou limitovány zejména nízkým počtem provedených vyšetření (cíl 2 a 3), dále počáteční nezkušeností s hodnocením, CT přístrojem jen s dvěma řadami detektorů.
- Většina negativních nálezů na CT kolono nebyla verifikována jinou metodou (pac. netolerují konvenční kolonoskopii)

Navrhované řešení - kontrolní CT kolonografie s časovým odstupem k zpřesnění vyhodnocení senzitivity a specifity primárního vyšetření

NS 5727 - Funkční hodnocení léčebné odpovědi renálního karcinomu pomocí MRI: hlavní řešitel: MUDr. M. Standara

Úvod

Systémová terapie inoperabilních karcinomu ledviny je aktuálním tématem v onkologii, do popředí zájmu se dostává biologická terapie, účinná na principu inhibice angiogenních a proliferačních buněčných signálních drah. Hodnocení léčebné odpovědi pouze na podkladě morfologických změn dle RECIST/WHO kritérií není dostatečné, změna velikosti tumoru ve srovnání s klasickou chemoterapií je často málo výrazná a může být časově opožděná. Účelem práce je prozkoumat možnosti stanovení léčebné odpovědi na podkladě funkčních změn tumoru zobrazených pomocí dynamiky kontrastu ložiska v průběhu vyšetření. Kontrastního zobrazení lze dosáhnout pomocí běžně užívané kontrastní látky na bázi gadolinia (Dynamic Contrast Enhanced Magnetic Resonance Imaging, DCE-MRI) nebo s využitím magnetického značení protonů vody v přitékající krvi, tzv. Arterial Spin Labeling (ASL) sekvence.

Metodika

V protokolu plánujeme vyšetření před zahájením terapie, a to ve dvou sezeních ke zvýšení statistické výpovědní hodnoty, dále vyšetření v krátkém intervalu po prvním podání antiangiogenního přípravku následované kontrolami cca v 6-týdenních intervalech, jak je již standardně v MOÚ zavedeno pro sledování efektu chemoterapie. V počáteční fázi studie

provedeme vyšetření dle dostupných protokolů DCE-MRI s následným postprocessingem získaných dat. Zaměříme se na změnu kinetických kvantitativních (K_{trans} , v_e , k_{ep}) i semikvantitativních (IAUC) parametrů ložisek a jejich zobrazení ve formě parametrických map. Standardní „anatomické“ MR sekvence budou vždy provedeny z důvodu posouzení změny velikosti a počtu lézí dle RECIST.

Výsledky

Zaznamenány a vyhodnoceny budou všechny dostupné změřené i vypočítané parametry maligních ložisek v závislosti na provedených sekvencích. Cílem studie je odpověď na otázku, zda je měření kinetických a jiných funkčních zobrazovacích markerů přínosem ve sledování odpovědi na biologickou terapii renálního karcinomu ve srovnání s tradičním morfologickým hodnocením. Dřívější vyhodnocení účinku podávaného přípravku může onkologovi ulehčit rozhodnutí o dalším terapeutickém postupu. Sekundárním cílem práce je pak navrhnout vhodný follow-up protokol pro sledování efektu antiangiogenní léčby onkologických pacientů.

Průběžná zpráva

V roce 2008 se podařilo sestavit schéma studie a většinu dokumentace, rozpracován je vyšetřovací protokol pro MR přístroj. Zvažované ASL sekvence nebyly od výrobce MR z ekonomických důvodů zakoupeny, soustředíme se tedy na postkontrastní sekvence, které ve spolupráci s předními českými odborníky upravujeme pro potřeby studie. Pro rok 2009 plánujeme vyšetřit cca 4-5 pacientů k odladění technických parametrů MR vyšetření a následného matematického zpracování obrazu v programu Matlab a jiných softwarových nástrojích. Předběžné výsledky budou publikovány v českém časopise.

2.2. PROGRAM INFORMAČNÍ PODPORY /PIP/

NS 5731 - Fúze obrazů NM s CT-MR-PT: hlavní řešitel: Ing. Bartl

Vyřešené úkoly:

Úprava konfigurace originální „klikací aplikace“ ke komunikaci s PACS archivem, v SW prostředí vyhodnocovací stanice Picker Prism 2000XP, pro zajištění správného postupu archivace:

- data k archivaci se odesílají na dočasný (TMP) PACS, běžícím na intranetovém severu ONM (oprava hlavičky obrazových dat ve formátu DICOM 3.0 metodou „on-fly“ a následné přeposlání obrazových dat na cílový PACS)
- data z PACS do vyhodnocovací stanice Picker se načítají ze záložního PACS archivu
- TMP PACS nepodporuje čtení a záložní PACS zápis dat.

Rychlá metoda automatické opravy kontrastu a jasu prohlížečícího okna archivovaných obrazových dat s využitím SW (X)medcon.

Řešené úkoly:

- SW úprava archivačního skriptu k automatické opravě kontrastu a jasu prohlížečícího okna archivovaných obrazových dat
- Automatická kontrola a oprava ručně vkládaných patientských dat při výpadku DMWL serveru archivačním skriptem.

Publikace/prezentace:

- Přednáška - Dicom formát a praktické problémy, J. Bartl
Elektronický sborník - IV. Mezinárodní kongres informačních technologií ve zdravotnictví
TELEmedicína BRNO2008, Brno 18-19.3. 2008
- Přednáška - Non-DICOM zobrazovací modalita v síti PACS & NIS, J. Bartl
Elektronický sborník - Seminář sekce pro fyziku, elektroniku a výpočetní techniku ČSNM
ČLS JEP, Zlín 24-25.4. 2008
- Přednáška – Nejčastější chyby ve formátu DICOM 3.0 u obrazových modalit, J. Bartl
Seminář fyziků v medicíně, Ramzová 16-17.5. 2008

Fúze PT s CT-MR pro RT

Řešené úkoly:

Použití TrueD fúzovacího SW Esoft@Leonardo, k hybridní modalitě Siemens TruePoint PET/CT s licenci k exportu ROI do formátu „DICOM RT” podporovaného plánovací konzolou Eclipse Varian. Při pokusu o import testovacího ROI však byla data odmítnuta z důvodu chybějících informací v datové hlavičce. Po konzultaci uvedené problematiky s aplikačním specialistou Siemens bylo doporučeno zjistit kompatibilitu použitého PACS pro přenos formátu „DICOM RT”.

Firma TatraMed přislíbila zapůjčit přídatnou licenci pro automatickou fúzi obrazů a jejich export do formátu „DICOM RT” k nové verzi SW TomoCon WorkStation pro zjištění příčin nekompatibility uvedeného formátu.

Měření kvality PET systému

Vyřešené úkoly:

Úprava již dříve navrženého DICOM Modality Worklistu (DMWL) pro PET systém Ecat Accel v podobě intranetové aplikace pro přenos informací o věku, výšce a váze pacienta z nově instalovaného DMWL serveru ICZ v MOÚ.

Metoda automatického vložení dalších přenášených informací DMWL serverem, nepodporovaných akviziční konzolou Ecat (Non-DICOM modalita), do hlavičky obrazových dat ve formátu DICOM 3.0 odesílaných na PACS z vyhodnocovací konzoly Esoft (DICOM modalita).

Metoda:

TMP PACS kromě již dříve implementované „on-fly” rekonstrukce „Accession Number” (k propojení NIS a PACS) z modifikovaného identifikátoru studie „Study ID” a přesunu informace z „Performing Physicians Name” do „Referring Physicians Name” u odesílaných dat z vyhodnocovací stanice Esoft na PACS dále do těchto dat automaticky vkládá informace přenášené DMWL serverem, ale nepodporované akviziční konzolou Ecat:

(0010,2000) Medical Alerts
(0010,2110) Contrast Allergies
(0010,21c0) Pregnancy Status

...

z archivovaných dotazů na DMWL server na TMP PACS (uvedenou metodou se podařilo propojit obrazová data, včetně kvantitativních výsledků, z Non-DICOM planární kamery MB9200 s NIS).

Řešené úkoly:

SW úprava archivačního skriptu k automatickému vložení informací, nepodporovaných akviziční konzolou Ecat, do hlavičky archivovaných obrazových dat.

Převody postupů pro zpracování dalších výsledků měření kvality PET systému k rychlejšímu vyhodnocení a zobrazení v intranetové aplikaci.

Publikace:

Poster – How to Easy Connect a Non-DICOM Imaging Modality in PACS & HIS Networks,
J. Bartl, K.Bolčák

- Sborník XLV. Dnů nukleární medicíny – Havlíčkův Brod 24-26.9. 2008
- Sborník EANM 2008 – Mnichov, Německo 11-15.10. 2008

SUV v PET – intranetová aplikace

Výsledky: od 16.9. 2008 byla zprovozněna synchronizace systémového času rozplňovacího poloautomatu FDG se serverem časového normálu MOÚ (bezrozměrná hodnota ukazatele SUV závisí na čase, ve kterém byla změřena aktivita aplikované FDG). Podle nejnovějších literárních údajů, pracujících již s většími soubory pacientů, se pohybuje fyziologická fluktuace SUV u maligních nádorů v rozmezí 20%. Z toho vyplývá, že na biologickou povahu ve smyslu diferenciální diagnózy lze usuzovat pouze až po překročení této hranice (při sledování dynamiky v průběhu léčby je progresse popisována jako 25 a více procentní nárůst a naopak odezva na léčbu po více cyklech chemoterapie jako 25 a více procentní pokles SUV). Pro potvrzení tohoto předpokladu jsme zvolili nejprve nádory benigní etiologie. K eliminaci faktorů nepříznivě ovlivňující hodnotu SUV (malá velikost léze (ve srovnání s rozlišovací schopností PET závislou na poloze léze v zorném poli skeneru) a malá hustota nádorových buněk), jsme zvolili benigní nádory nadledvin o dostatečné velikosti a hustotě nádorových buněk. V souboru dosud 5 případů opravdu dochází při opakovaném snímání s odstupem 30-60 min. k 20% poklesu. Výhledově bude nutné zvětšit soubor benigních případů k ověření hypotézy a pro ověření maligních případů zvolit nádory s dostatečnou hustotou nádorových buněk a proliferací (po konzultaci s patologi).

Řešené úkoly: On/Off-line import hodnot SUV z NIS/MIS k vyhodnocení Dual-Time vyšetření v intranetové aplikaci. Pro jednoduchý export hodnot SUV je vhodná parametrická dokumentace výsledků vyšetření v NIS.

NS 5732 – PACS – komplexní komunikační prostředí pro výměnu obrazové dokumentace mezi zdravotnickými zařízeními v praxi: hlavní řešitel: MUDr. P. Andres, MBA, náměstek ředitele pro LPP a IS/IT

V rámci rozvoje projektu komplexního komunikačního prostředí pro výměnu obrazové dokumentace mezi zdravotnickými zařízeními byl projekt navázán na další projekty s tematikou telemedicíny:

- na projekt LF MU – vytváření výukových anonymizovaných atlasů PACS (Andres, Krupa, Válek, Dušek, Dostál)
- na projekt AV ČR – komunikace mezi zdravotnickými zařízeními nad obrazovou dokumentací (Andres, Dostál, Šárek)
- na projekt R-Bay, Evropské komise, eTEN + UK, Finsko, Dánsko, Estonsko, Holandsko, Norsko, Litva – přeshraniční komunikace nad obrazovou dokumentací, druhá čtení v PACS v rámci EU (Andres, Kovář, Bartoňková)

V rámci projektu došlo k rozšíření komunikačního prostředí tak, aby byla možná komunikace se všemi dostupnými zdravotnickými zařízeními – jak napojení na systém REDIMED, tak napojení na systém ePACS. Současně byly specifikovány další modality, které byly připojeny na archiv PACS, prohloubila se rutinní komunikace s mimobrněnskými zdravotnickými zařízeními. Současně došlo k další validaci kvality a bezpečnosti provozu PACS s ohledem na vazbu na datové úložiště na ÚVT MU. Projekt byl opakovaně vnitroústavně diskutován.

2.3. PROGRAM APLIKOVANÝCH STUDIÍ /PAS/ REALIZOVANÝ PROSTŘEDNICTVÍM KOOPERATIVNÍCH SKUPIN „...KOS“

NS 05751 – MAKOS – hlavní řešitel: MUDr. K. Petráková, Ph.D.

V roce 2008 probíhaly pod mamární problematikou (MAKOS = mamární kooperativní skupina) 4 projekty:

1/ Chirurgický projekt - řešitel: doc. MUDr. V. Fait, CSc.

Pravděpodobnost postižení dalších axilárních uzlin po pozitivní sentinelové biopsii u karcinomu prsu.

Publikace:

Fait V., Chrenko V., Coufal O., Vrtělová P., Foltinová V., Gabrielová L.: Sentinel node biopsy in breast cancer, experience in 1200 patients. 1st Central European Congress of Surgery 2008, Prague, April 23 - 26, 2008. Abstract in: *European Surgery, ACA Acta Chirurgica Austriaca*, Vol. 40, Suppl 223/08, A31, page 12, ISSN 1682-8631

Žaloudík J., Chrenko V., Fait V., Coufal O.: Surgical oncologist facing the earlier diagnosis of breast cancer. 1st Central European Congress of Surgery 2008, Prague, April 23-26, 2008. Abstract in: *European Surgery, ACA Acta Chirurgica Austriaca*, Vol. 40, Suppl 223/08, A34, page 13, ISSN 1682-8631.

2) kardiotoxicita antracyklinů podávaných současně s herceptinem – řešitel MUDr. Umlauf, Ph.D.

Projekt ve spolupráci Oddělení laboratorní medicíny (dr. Nekulová, Dr. Šimíčková), KKOP (dr. Petráková, dr. Palácová) a interní ambulance (dr. Dobeš, dr. Umlauf).

1/ K 61 nemocným léčených herceptinem, kde bylo sledováno NTpro-BMP a EF v dřívějších letech, přibylo v r. 2008 dalších 28 nemocných, u kterých byl tento parametr opakovaně vyšetřen. Zvýšené hodnoty byly nalezeny u 4 z nich. U nemocných bylo provedeno EKG a echokardiologické vyšetření a hodnoceny ejekční frakce. NT- proBNP byl vyšetřován elektrochemiluminiscenční imunoanalýzou na přístroji Elecsys (Roche). Referenční hodnota do 12 pmol/l. U NT-proBNP byly hodnoceny parametry validity (sensitivita, specifičnost, pozitivní a negativní prediktivní hodnota, relativní riziko) při doporučené referenční hodnotě, ROC křivka, plocha pod křivkou (AUC). Bylo prováděno určování optimální referenční hodnoty, bodové odhady parametrů validity byly doprovázeny výpočtem 95% konfidenčních intervalů. EF se pohybovaly u těchto nemocných od 49% do 65%. Klinická

kardiotoxicita nebyla zaznamenána. Stanovování natriuretických peptidů nenahrazuje současné metody diagnostiky levostranné komorové dysfunkce a srdečního selhání, velmi výhodně je však může rozšiřovat především jako filtr zbytečných požadavků na ECHO vyšetření při nezvýšené hladině. Naopak zvýšená hladina by představovala dostatečný důvod k dalšímu kardiologickému vyšetření a mohla by tak přispět i k časné detekci srdeční dysfunkce během a po podání chemoterapie s antracykliny nebo jinými kardiotoxickými léky, jak dokumentuje i naše práce.

Publikace:

Nekulová M., Umlauf J., Šimíčková M., Pecen L.: Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) a kardiotoxicita u pacientek s karcinomem prsu léčených herceptinem po předcházejícím podání antracyklinů.

Labor Aktuell 01/08,14-17

Umlauf J., Nekulová M., Dubská L., Šimíčková M., Pecen L. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) a kardiotoxicita u pacientek s karcinomem prsu léčených herceptinem po předcházejícím podání antracyklinů. BOD 2008 poster a abstrakt

3) Kostní markery u nemocných s karcinomem prsu (řešitel (MUDr. Nekulová, Dr. Dubská; KKOP dr. Petráková, dr. Palácová):

ICTP- C- Telozeptid kolagenu typu I - jako kontrola efektu léčby bisfosfonáty

Publikace:

Nekulová M., Dubská L., Petráková K., Brančíková D., Šimíčková M., Pecen L., Pilný R., Valík D.: Carboxyterminal pyridinoline cross-linked telopeptide of Type I collagen (ICTP) in diagnosis and monitoring of patients with bone metastasis of breast cancer. CECHTUMA , Plzeň, 1.4.08, Abstrakt

Nekulová M., Dubská L., Petráková K., Šimíčková M., Brančíková D., Pecen L., Pilný R., Valík D.: Kostní markery v diagnóze a monitorování kostních metastáz karcinomu prsu. Brněnské onkologické dny 2008.

Nekulová M., Dubská L., Petráková K., Šimíčková M., Brančíková D., Pecen L., Pilný R., Valík D.: Kostní markery u nemocných s karcinomem prsu: C -Telozeptid kolagenu typu I

(ICTP) jako marker monitorování kostních metastáz a efektu terapie bisfosfonáty. Klin. Biochem. Metab., 16 (37), 2008, No3, p.183-188.

NS 5752 - DIKOS (digestivní kooperativní skupina) – hlavní řešitel: doc. MUDr. Šefr, Ph.D.

1. Korelace PET/CT s peroperačním a histologickým nálezem pro dg. C 18-20, C 25

Probíhá zpracování výsledků ve spolupráci s Institutem biostatistiky a analýz MU Brno.

Publikace:

Ondrák M, Šefr R, Kaplan Z. Korelace PET a CT nálezů s peroperačním a histopatologickým vyšetřením – předběžné výsledky. Brněnské onkologické dny. Brno, 17. - 19. 4. 2008. Abstrakt s. 105.

2. Chromogranin A u karcinoidu: Program je zaveden do rutinní praxe, hrazen zdravotní pojišťovnou. Vyhodnocení souboru je plánováno na rok 2009.

NS 5753 – GYKOS: hlavní řešitel: - MUDr. L. Mouková

1. Komplexní zhodnocení prognostických faktorů u karcinomu děložního hrdla na základě histopatologie, proteomiky a genomiky

spolupráce: prim. MUDr.R. Nenutil, CSc.

Cíl: komplexní zhodnocení prognostických faktorů u karcinomu děložního hrdla za účelem predikce rizika šíření onemocnění mimo primární lokalizaci a pravděpodobnosti rekurence onemocnění, stanovení radikality operativy „šité na míru“. Hodnocení histopatologických parametrů, anamnézy, operačního rozsahu, plánováno došetření proteomiky (předpoklad - zvýšená exprese p21, cdk4, p53, p16 a pokles exprese p27 předpokládá špatnou prognózu)

Soubor: 36 pacientek, prospektivní, od 2005

Předběžné výsledky:

1/ 70% spinocel. karcinom, 23% adenokarcinom, 7% neuroendokrinní karcinom děložního čípku.

2/ Tumory nad 4 cm měly pozitivní LVSI v 60% spinokarcinom, v 75% adenokarcinom, ve 100% neuroendokrinní karcinom.

3/ Pacientky s negativní lymfangioinvasí měly negativní sentinelové lymf. uzliny

4/ Ve všech případech s pozitivní LVSI ve skupině spinocelul. karcinomů byly MTS pozitivní lymfatické uzliny.

U adenokarcinomů s pozitivní LVSI byly popsány MTS pozitivní lymf. uzliny ve 33%,

u neuroendokrinních karcinomů ve 100%.

5/ Všechny ženy s uzlinovými metastázami měly pozitivní LVSI.

2. Prediktivní a prognostický význam amplifikace genu hTERT při vývoji karcinomu děložního čípku ve spolupráci s laboratoří molekulární genetiky FN Brno, doc.Dr.Kuglík, CSc., Mgr. Žežulková, Bc.Kantorková

Cíl: detekce amplifikace genu *hTERT* (3q) pomocí interfázní fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) prováděné na nátěrech buněk získaných ze stěru z děložního hrdla nebo z děložního čípku. Použity DNA sondy hybridizující k oblasti genu *hTERT* (3q26) a dále k oblasti 3q11, což je kontrolní oblast pro určení počtu kopií chromozomu 3Soubor: 10 pacientek s dysplazií děložního hrdla a 11 pacientek s karcinomem děložního hrdla, prospektivní studie od 2008.

Předběžné výsledky: výskyt amplifikace genu *hTERT* u 2 pacientek s dysplazií a u 4 pacientek s karcinomem děložního hrdla. Další data se zpracovávají.

3. Detekce chromozomových abnormalit u karcinomu děložního čípku pomocí komparativní genomové hybridizace (CGH) ve spolupráci s laboratoří molekulární genetiky FN Brno, doc. Dr. Kuglík, CSc., Mgr. Žežulková, Bc.Kantorková

Cíl: zaměření na celogenomový screening chromozomových abnormalit u karcinomu děložního čípku pomocí technik chromozomové CGH a array-CGH prováděné na oligonukleotidových DNA čípech, snaha optimalizovat metodiku vyšetření a získat informace o změnách v počtu kopií jednotlivých genů souvisejících s vývojem toho onemocnění. Např. u karcinomu děl. čípku prokázány oblasti specifických amplifikací, např. (3q) a delecí (2q33-q37) genů v DNA izolovaná z nádorové tkáně odebrané do tekutého dusíku při vyšetření či operaci.

Soubor: 5 pacientek, prospektivní studie od 2008. Výsledky budou teprve zpracovány.

Prezentace + publikace

Mouková L., Feranec R., Nenutil R., Holanová E., Bláha M.: Komplexní zhodnocení prognostických faktorů u karcinomu děložního hrdla za účelem predikce rizika recurence. XXXII Brněnské onkologické dny, 2008, IBN 978-9780-86793-11-5

Mouková L., Feranec R., Nenutil R., Krejčí E., Lžičařová E., Zichová I., Fabian P., Štefániková L., Bláha M. Lymph vascular space invasion and tumor size as predictive factors

of lymph nodal metastases in women with early-stage carcinoma of the uterine cervix. 12th Biennial Meeting International Gynecologic Cancer Society – IGCS Bangkok, Thailand, October 25 - 28, 2008.

V plánu 12.12.-13.12.2008 přednáška na 2. Konferenci sekce cervikální patologie a kolposkopie ČGPS ČLS JEP ve spolupráci se sekci ambulantní gynekologie ČGPS ČLS JEP a sdružení soukromých gynekologů ČR: Prediktivní a prognostický význam chromozomových abnormalit při vývoji karcinomu děložního hrdla.

Rozpracované review s plánovanou publikací v Klinické onkologii

4. Nové nádorové markery ovariálního karcinomu: řešitel MUDr.Nekulová

1/ ze 153 vzorků krve odeslaných k vyšetření CA 125 s novou dg C56 v roce 2008 bylo vybráno 20 sér nemocných, u kterých byla při potvrzené progresi choroby hodnota CA 125 v krvi v normě a tyto vzorky byly odeslány k vyšetření nového nádorového markeru pro dg C 56 – HE4 do FN Plzeň. Marker HE4 je doporučovaným novým markerem při negativitě CA 125. Také je možno počítat index malignity při současném vyšetření obou jmenovaných markerů. Tuto studii začínají provádět některá zahraniční pracoviště.

2/ Pokračovali jsme ve studiu CA 125 a PET u dg C56 – srovnání validity

V roce 2008 bylo vyšetřeno 30 nemocných. 11 z nich nebylo hodnotitelných (jiné malignity apod). CA 125 byl falešně pozitivní u 1/19, falešně negativní 3/19. PET byla hodnotitelná jen u 15 z nich (+ 4 nálezy suspektní). Z toho byla 3x falešná negativita (2x u jiných nemocných než u CA 125), falešná pozitivita nebyla zaznamenána.

Celkově od začátku vstoupilo do studie 200 pacientek, náběr končí a studie je vyhodnocována. Je evidentní, že obě metody se vhodně doplňují.

3/ kalikreiny: v BJC vyšla naše práce ve spolupráci s kanadským pracovištěm o kalikreinech v krvi u nemocných s dg C56

Oikonomopoulou K, Li L, Zheng Y, Simon I, Wolfert RL, Valik D, Nekulova M, Simickova M, Frgala T, Diamandis EP. Prediction of ovarian cancer prognosis and response to chemotherapy by a serum-based multiparametric biomarker panel. Br J Cancer. 2008 Oct 7;99(7):1103-13. Epub 2008 Sep 2.

NS 5754 – UKOS (uroonkologická kooperativní skupina): hlavní řešitel: MUDr. J. Doležel

1/ Kostní markery v diagnostice a monitorování terapie kostních metastáz karcinomu prostaty. spolupráce: MUDr. Nekulová

Kostní markery, zejména P1NP a b-CTX nebo C-telopeptid kolagenu typu I (ICTP) jsou doporučovány ve sledování efektu terapie kostních metastáz. Chromogranin A je negativním prognostickým parametrem nádorů prostaty upozorňující na hormonální resistenci. Bylo vyšetřeno 230 sér pacientů s dg karcinomu prostaty se stanovením t-PSA, P1NP, b-CTX, fakultativně i Chromogranin A a ICTP. V souboru pacientů s hladinou PSA 0,05-0,5 bylo vyšetření provedeno ve snaze o časné upozornění na nemocné s rizikem kostní diseminace a špatnou prognózou. Byly hodnoceny parametry validity (senzitivita, specifita, pozitivní a negativní prediktivní hodnota) při referenční hodnotě P1NP 62,6 ug/l. Ve výše zmíněné hladině PSA bylo nalezeno 33% nemocných s hodnotami Chromograninu A nad referenční hodnotu 35 U/l. 21% nemocných mělo patologickou hodnotu P1NP, 17% pacientů pak i při hladině PSA menší 0,5. Je zřejmé, že skeletární postižení nelze jednoznačně vyloučit ani při takto nízkých hodnotách PSA. Při referenční hodnotě P1NP 62,6 ug/l a specifitě 90%, 95%CI (75,7%, 100,0%) byl kostní metastatický rozsev hodnocen se senzitivitou 77,8% 95%CI, (64,2%, 91,4%). Při referenční hodnotě 5,3 ug/l pro ICTP byla zaznamenána specifita 87,5%, senzitivita 82%. ICTP u souboru nemocných s kostními metastázami proti souboru bez metastáz vykázalo p- value 0,0011 (ANOVA), 0,0001 (Wilcoxonův test), 0,0005 (mediánový test). b-CTX při doporučené referenční hodnotě 0,8 ug/l prokázal jen nízkou senzitivitu (41,67%) při specifitě 94,4% a není považován za vhodný marker pro sledování kostního rozsevu u karcinomu prostaty. Pro detekci nových kostních metastáz není senzitivita žádného kostního markeru dost vysoká, jsou doporučovány ke sledování efektu terapie. Chromogranin A se jeví jako slibný prognostický faktor ve vztahu k hormonální resistenci karcinomu prostaty.

Prezentované práce:

Nekulová M, Čapák I., Doležel J., Miklánek D., Dubská L, Pecen Ladislav, Pilný R. 1, Valík D.: Chromogranin A u nemocných léčených pro karcinom prostaty, Imunoanalytické dny, 11.-13.5.08, Špindlerův Mlýn

Nekulová M, Čapák I., Doležel J., Miklánek D., Dubská L., Pilný R., Valík D.: Chromogranin A a kostní markery u nemocných léčených pro karcinom prostaty. Krajský seminář Společnosti KB, K. Studánka 10-11.12.2008

2/ Metalické termoexpandibilní stenty v řešení obstrukčních uropatií onkologických nemocných s cílem prezervace renálních funkcí. Řešitel MUDr. D. Miklánek

Termoexpandibilní metalické stenty představují zajímavou a perspektivní cestu řešení obstrukčních uropatií se zachováním renálních funkcí zejména u onkologických nemocných s nejistou, ale relativně dostatečně dlouhou prognózou, tam, kde nezbytnost další onkologické léčby či interní interkurence znemožňují operační rekonstrukci. Výhoda metalických stentů ze slitiny titanu a niklu je spatřována v menší náchylnosti k inkrustacím, v umožnění zachování peristaltiky pod a nad strikturou, v eliminaci dyskomfortu při iritaci stěny močového měchýře, v absenci vesikoureterálního refluxu. Nevýhodou je možná migrace a ekonomická náročnost. Stent může být implantován jako ureterální, urethrální nebo prostatický. Stent ve tvaru kovové spirály lze rozvolnit při ochlazení na teplotu 10 °C.

První zkušenosti s termoexpandibilními stenty „Memokath“ fy Engineers Doctors, DK jak v MOÚ Brno tak i v ČR jsou představeny 4 pacienti, 1 nemocný žije s plně funkčním zavedeným stentem nepůsobícím obtíže 26 měsíců, 1 nemocný zemřel za 9 měsíců po zavedení na interní komplikaci, stent byl plně funkční. U 1 nemocného stent migroval a v 1 případě musel být pro inkrustace extrahován. Mimo protokol pak byly zkoušeny u 3 nemocných double J metalické (neexpandibilní) ureterální stenty fy COOK, od nichž byla očekávána zejména vyšší životnost ve srovnání s klasickými JJ stenty a výhoda byla spatřována v nižší ekonomické náročnosti ve srovnání s produkty fy „Memokath“ Pro malý počet jedinců v souboru nelze statisticky hodnotit jak výhodou komplikace použití metalických stentů. Při získání finančního krytí bude v práci pokračováno.

Prezentované práce :

Přednáška : Miklánek D., Doležel J., Čapák I., Šustr M., Macík D. : První zkušenosti s termoexpandibilními „Memokath“ stenty , výroční konference ČUS 8.-10.10.2008 Hradec Králové.

Abstrakt in Česká urologie 2/2008

Článek odeslán k tisku do Česká urologie ročník 2009

3/ Korelace klinického a patologicko anatomického stagingu karcinomu prostaty, stagingová chyba, přínos a srovnání operačních technik (radikální retropubická prostatektomie versus roboticky asistovaná laparoskopická radikální prostatektomie). Řešitel: MUDr. J. Doležel

Problém klinického podhodnocení a v menším počtu případů nadhodnocení stadia karcinomu prostaty (tzv. stagingová chyba) je všeobecně znám a vyplývá z relativně nízké senzitivity i specifity v současné době rutinně používaných diagnostických metod (CT, sonografie) v případě stanovení histopatologického grade pak v limitovaném množství vyšetřitelné prostatické tkáně odebrané při multiliplicitní biopsii prostaty. Pouze materiál získaný k vyšetření patologem v průběhu radikálního operačního výkonu dává možnost zjištění skutečného lokálního rozsahu malignity. Takto stanovená data lze zpětně porovnávat s výsledky klinických vyšetřovacích metod. Zlatým standardem léčby u pacientů s lokalizovaným a u selektované skupiny s lokálně pokročilým onemocněním je radikální retropubická prostatektomie (RRP), v devadesátých letech se objevila laparoskopická radikální prostatektomie, v r. 2000 první roboticky asistovaná laparoskopická radikální prostatektomie provedená pomocí systému Da Vinci (RoRLP). Minimálně invazivní techniky mají potenciál snížit morbiditu a počet komplikací při zachování adekvátní onkologické radikality. Od 1.5.2007 do 30.9.2008 bylo provedeno 168 RoRLP (nemocnice sv. Zdislavy, Mostiště), ve stejném období bylo v Masarykově onkologickém ústavu provedeno 78 RRP. Histopatologickým vyšetřením bylo stanoveno Gleasonovo skóre (GS) 5-6 u 34% pacientů ve srovnání 69,3% bioptického GS. GS 7 v 49,3% versus 27,1% biopt. GS, GS 8-10 12% versus 3,6% biopt GS. 78% pacientů stadia cT1c se rozplynulo v 17% pT2a, 0,7% pT2b, 37,9% pT2c, 38,3% pT3a, 9,8% pT3b, přičemž klinickým vyšetřením bylo do stadia cT2 zařazeno jen 20,4% nemocných a do stadia cT3a 1,5% nemocných. Je tedy zřejmé, že understaging a undergrading klinických vyšetření karcinomu prostaty proti patologicko anatomickému stagingu a gradingu je významný, což ve svých důsledcích do značné míry limituje například srovnání efektivity různých léčebných modalit z důvodu porovnávání neporovnatelného. Data jsou v dalším zpracování, probíhá vyhodnocení korelace stadia a zobrazovacích metod, porovnávání s pravděpodobnostními tabulkami a další rozšiřování souboru nemocných.

Prezentované práce :

Přednáška: Doležel J., Tvarůžek J., Staník M., Zachoval R., Šimoník I., Korsa M., Vagunda V.: Časné zkušenosti s roboticky asistovanou laparoskopickou radikální prostatektomií prvních 153 pacientů. Výroční konference ČUS 8.-10.10.2008 Hradec Králové.

Abstrakt in Česká urologie 2/2008

Článek v tisku pro Česká urologie 2009

4/ MTT test chemoresistence u karcinomu ledviny

Uroonkologické oddělení se svou operativou pro karcinom ledviny figuruje jako dodavatel biologického materiálu získaného cestou radikální nefrektomie či parciální resekcí ledviny.

Bližší počty provedených vyšetření a výsledky kultivací včetně testů chemoresistence viz. samostatná zpráva výše. Práce má jistě význam pro vypracování metodiky kultivace tkáňových kultur nádorových buněk, z pohledu urologické onkologie v době nových trendů biologické léčby renálního karcinomu nemá přímý přínos pro klinickou praxi a v prezentacích klinických onkologů je považována za slepou uličku.

NS 05755 - MEKOS (melanomová kooperativní skupina):–hlavní řešitel: doc. MUDr. V. Fait, CSc.

Sentinelová biopsie u maligního melanomu (SNB) (V. Fait). Jedná se o průběžnou analýzu-souboru pacientů se sentinelovou biopsií od roku 1994. Soubor nyní čítá 1455 pacientů. Do hodnocení prozatím nebyli zavzati pacienti za poslední 4 měsíce (zhruba dalších 80 pacientů)

Z 1455 procedur:

celková úspěšnost 97%

úspěšnost za posledních 5 let 99,8%

SU pozitivní v 499 případech - 34,3%

Uzlinová metastáza při negativní SNB se prozatím objevila v 29 případech - falešná negativita tedy odpovídá 5,5%. Průběžně dochází k výraznému zlepšování úspěšnosti, příčinou je jak rostoucí zkušenost, tak využívání kombinované metody vyhledávání.

Za pozitivní považujeme průběžný pokles falešné negativity (stanovené na základě sledování), příčiny jsou jak ve zlepšené technice vyhledávání a zkušenostech, tak ve změněné technice patologického zpracování. Přesnější zhodnocení si bude vyžadovat podrobnou statistickou analýzu.

Review:

Fait, V. Sentinelová biopsie a možnosti využití v současné onkochirurgii. Klinická onkologie, 21, 2008, č. 1. s. 5-19.

Podrobné zhodnocení plánováno pro BOD 2009 a současně pro publikaci

Hledání markerů špatné prognózy u pacientů s diseminovaným maligním melanomem a nalezení diferencí v expresi sérových proteinů u pacientů s chemosenzitivním a

chemoresistentním onemocněním. (R. Lakomý). Hledání laboratorních markerů špatné prognózy u pacientů s maligním melanomem. Cílem práce je jednak sledování známých prognostických faktorů, dále pokus o nalezení nových (flowcytometrie, vyšetření exprese sérových proteinů – SELDI-TOF MS)

Předmět zájmu: skupiny pacientů s pokročilým maligním melanomem

Publikace: Greplová K. et al., viz výše

NS 5756 - SAKOS (sarkomová kooperativní skupina): hlavní řešitel prof. MUDr. J. Žaloudík, CSc.

V průběhu roku 2008 dál pokračovala akvizice do největšího klinického souboru sarkomů s postresekční intersticiální brachyterapií; v roce 2008 se jako terapeutická metoda také zavedla extrakorporální hypertermická perfuse končetiny ve spolupráci s CKTCH.

3. LÉKAŘSKÉ VÝSTUPY

V hodnotící kategorii „Lékařské výstupy stručně uvádíme přehled konkrétních a dle našeho názoru významných výstupů již realizovaných v diagnostické a léčebně preventivní péči MOÚ v návaznosti na řešení VZ FUNDIN.

- Zavedení metody HRM do genetické diagnostiky
- Zavedení vyšetřování genů pro E-cadherin
- První použití protokolů Capizzi MTX u dětských pacientů s ALL na KDO LFMU a FN Brno
- Uvedení Banky biologického materiálu do praxe s ojedinělou možností designovat studie, jež by nebyly možné bez přístupu k tomuto biologickému materiálu; o spolupráci je velký zájem ze zahraničních pracovišť, (např. Mayo Clinic, Moffitt Cancer Center, Dana Farber Cancer Center)
- Zavedení a rutinní použití kvantifikace exprese CD64 na neutrofilech jako markeru sepse.
- Analýza buněčných subpulací a kvantifikace cytokinů při reakci dětských onkologických pacientů na podání amphotericinu B.
- Detekce buněk neuroblastomu v kostní dřeni, sběrech před transplantací
- Analýza DNA ploidie (neuroblastomy, karcinom ledviny)
- „Doporučení o používání nádorových markerů v klinické praxi“ vydané společně ČOS, ČSKB, ČSNM, viz: <http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--tumorove-markery>
- Klinická diagnostická proteomika, zavedení
- V průběhu roku 2008 byla zavedena metodika 3D plánování a následně ověřena její proveditelnost - provedeno CT a MR vyšetření s aplikátorem *in situ* u 15 pacientek spolu s analýzou DVH pro cílové objemy a kritické orgány
- Uveden do plného provozu cyklotron a v jarních měsících zahájena pravidelná produkce ¹⁸F-fluorodeoxyglukosy (FDG) pro PET scany prováděné na PET centru. Byl instalován a do užívání předán syntézni modul TracerLab FX F-N
- Zavedení kontrastní magnetické rezonance prsu, která se ukazuje jako metoda s nejvyšší sensitivitou pro screening (dispenzarizaci) žen s vysokým rizikem karcinomu prsu. Průběžné výsledky ukazují také pozitivní vliv zařazení magnetické rezonance prsu do předoperačního stagingu
- Zavedení CT kolonografie do klinické praxe MOÚ

- Zprovozněna synchronizace systémového času rozplňovacího poloautomatu FDG se serverem časového normálu MOÚ (bezrozměrná hodnota ukazatele SUV závisí na čase, v kterém byla změřena aktivita aplikované FDG)
- Chromogranin A u karcinoidu: Program je zaveden do rutinní praxe
- Zavedení roboticky asistované laparoskopická radikální prostatektomie provedené pomocí systému Da Vinci (RoRLP); ve srovnání s RRR je understaging a undergrading klinických vyšetření karcinomu prostaty proti patologicko-anatomickému stagingu a gradingu významný
- Zavedení extrakorporální hypertermické perfuse u sarkomů končetiny ve spolupráci s CKTCH Brno.

Příloha zprávy: publikace 2008